

INÊS MARTINS BAPTISTA

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA ENTRE ANÁLISES CITOLÓGICAS E
HISTOPATOLÓGICAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA:
ESTUDO RETROSPETIVO DE 3 ANOS**

Orientadora: Professora Doutora Maria Margarida Ferreira Alves

Coorientadora: Dra Joana Margarida do Couto Fonseca

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

INÊS MARTINS BAPTISTA

**AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA ENTRE ANÁLISES CITOLÓGICAS E
HISTOPATOLÓGICAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA:
ESTUDO RETROSPETIVO DE 3 ANOS**

Dissertação defendida para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, no Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 30 de Abril de 2019, com despacho Reitoral nº. 126/2019, com a seguinte composição do júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Nazaré Cunha

Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

Co-orientadora: Doutora Joana Fonseca

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2019

Resumo

No âmbito da Medicina Veterinária, o exame microscópico de amostras citológicas, é um meio de diagnóstico de valor inquestionável, e, aplicável a uma inúmera variedade de sistemas de órgãos. Este é um meio rápido, minimamente invasivo e pouco dispendioso, de obter um diagnóstico preliminar e, muitas vezes definitivo.

A punção por agulha fina, aspirativa ou não aspirativa, é o método de eleição para obter amostras de massas superficiais ou profundas, tanto em humanos como em animais.

No Homem, encontram-se descritas elevadas taxas de precisão na comparação entre diagnósticos citológicos e histopatológicos. No entanto, existem menos estudos no que diz respeito à comparação entre estes dois métodos, no diagnóstico de massas em cães e gatos.

Este estudo teve como objetivo, a comparação, dos resultados de análises citológicas e histopatológicas, de uma mesma lesão. Para tal, foi efetuado um estudo retrospectivo, através da consulta da base de dados do LACH, da FMV-ULHT, com foco especial no tipo de tecido e malignidade da lesão.

No presente trabalho, das 63 amostras em estudo, 42 evidenciaram concordância entre si. A maioria dos processos foram classificados como benignos (52,4%), (34,9%) como malignos e (12,4%) foram inconclusivos. O tipo celular que se destacou foi o de células epiteliais, seguido de células mesenquimatosas e, por fim, o de células redondas. O tipo de lesões que revelou maior nível de concordância foram as neoplasias perivasculares e os quistos epidermais, seguindo-se o mastocitoma de baixo grau e o ameloblastoma acantomatoso.

O estudo permitiu verificar um grau de concordância moderado, no sentido positivo, entre os dois tipos de análises e, que, a citologia apesar dos seus vastos benefícios, enquanto ferramenta diagnóstica, não pode ser considerada, por si só, decisiva na emissão de um diagnóstico final, de acordo com o tipo de lesão.

Palavras-chave: citologia; PAAF; neoplasia; histologia.

Abstract

High cytology accuracy rates were reported, when compared to histology, in the diagnosis of masses in humans and in animals. However, there are fewer studies regarding the comparison between diagnoses performed through these two methods, in the diagnosis of masses in dogs and cats.

This study aimed to compare the interpretation of the results of cytological and histopathological analyzes of the same lesion. A retrospective study was done by consulting the LACH database of the FMV-ULHT, with a special focus on the tissue type and malignancy of the lesion.

In the present study, of the 63 samples, 42 showed agreement between the two methods. Most of the processes were classified as benign (52.4%), (34.9%) as malignant and (12.4%) were inconclusive. The cell type that stood out was that of epithelial cells, followed by mesenchymal cells and, finally, of round cells. The type of lesions that revealed a higher level of agreement were perivascular neoplasias and epidermal cysts, followed by low grade mastocytoma and acanthomatous ameloblastoma.

The study allowed to verify a moderate agreement, in the positive sense, between the two types of analysis, and that cytology, despite its vast benefits as a diagnostic tool, can not be considered decisive, as a diagnostic method, without confirmation by histopathological examination.

Keywords: cytology; fine-needle aspiration; neoplasia; histology.

Lista de abreviaturas

PAAF - Punção Aspirativa Por Agulha Fina

DNA - Ácido Desoxirribonucleico, do inglês “Deoxyribonucleic Acid”

Et al. - E outros, da locução latina “*et alli*”

FeLV - Vírus da Leucemia Felina do inglês “Feline Leukemia Virus”

FIV - Vírus da Imunodeficiência Felina do inglês “Feline Immunodeficiency Virus”

FMV - Faculdade de Medicina Veterinária

LACH- Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia

N:C - Rácio/Relação Núcleo:Citoplasma

PNAAF - Punção Não Aspirativa Por Agulha Fina

TSA - Teste de Sensibilidade Antibiótica

ULHT - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Índice Geral

I - Descrição da Casuística do Estágio Curricular	12
1.1 Análises microbiológicas	12
1.2 Urianálise	13
1.3 Coprologia	13
1.4 Hematologia	14
1.5 Análises bioquímicas	14
1.6 Análises serológicas e PCR's	15
1.7 Análises citológicas	16
II. Dissertação de Mestrado “Avaliação da Concordância entre Análises Citológicas e Histopatológicas em Animais de Companhia: Estudo Retrospectivo de 3 anos”	17
1. Introdução	17
1.1 Análise Citológica em Medicina Veterinária	19
1.1.1 Técnicas de colheita	20
1.1.1.1 PAAF (punção aspirativa por agulha fina) e PNAAF (punção não aspirativa por agulha fina)	20
1.1.1.2 Citologia Ecoguiada	20
1.1.1.3 Citologia por aposição ou raspagem	21
1.1.1.4 Citologia por zaragatoa	21
1.1.2 Avaliação de amostras citológicas	22
1.1.3 Histologia	22
1.1.4 Outros exames complementares de diagnóstico	23
1.1.5 Populações celulares – Principais características	24
1.1.6 Classificação geral das alterações citológicas	24
1.1.6.1 Tecidos normais ou hiperplásicos	25
1.1.6.2 Lesões quísticas	25
1.1.6.3 Inflamação	25
1.1.6.4 Lesão tecidual	28
1.1.6.5 Neoplasias	29

1.1.7	Critérios de malignidade	30
1.1.8	Neoplasias de Células Redondas	31
1.1.8.1	Histiocitoma	31
1.1.8.2	Linfoma	33
1.1.8.3	Mastocitoma	34
1.1.8.4	Melanoma	37
1.1.8.5	Plasmocitoma	39
1.1.8.6	Tumor Venéreo Transmissível.....	41
1.1.9	Tumores de Origem Epitelial	42
1.1.9.1	Tumores neuroendócrinos e de células endócrinas	42
1.1.9.2	Neoplasias sebáceas	43
1.1.9.3	Neoplasias das glândulas perianais	44
1.1.9.4	Neoplasia dos sacos anais	45
1.1.9.5	Tumores dos folículos pilosos	46
1.1.9.6	Tricoepitelioma	47
1.1.9.7	Carcinoma das células escamosas	47
1.1.9.8	Epúlida/Ameloblastoma	48
1.1.9.9	Neoplasias testiculares	48
1.1.9.10	Timoma	50
1.1.9.11	Neoplasias da glândula mamária	51
1.1.10	Tumores de Origem Mesenquimatosa	53
1.1.10.1	Tumores da parede perivascular	53
1.1.10.2	Hemangiossarcoma.....	55
1.1.10.3	Lipoma	56
1.1.10.4	Lipossarcoma	56
1.1.10.5	Osteossarcoma	57
1.1.10.6	Condrossarcoma	57
1.1.10.7	Fibrossarcoma	58
2	- Material e Métodos.....	59
2.1	Análise Estatística.....	59
3	- Resultados	60
3.1	Distribuição das amostras citológicas de acordo com o tipo celular	60

3.3 Classificação dos diagnósticos citológicos quanto à patologia	61
3.4 Nível de concordância entre o diagnóstico citológico e histopatológico	64
3.5 Diagnósticos citológicos que revelaram concordância total.....	65
3.6 Diagnósticos citológicos que revelaram discordância total dos histopatológicos	67
3.7 Associações.....	68
3.8 Sensibilidade e Especificidade	74
4 - Discussão.....	75
5 –Conclusão.....	85
6 - Referências Bibliográficas	86

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Principais populações celulares (adaptado de Meinkoth et al, 2014)	24
Tabela 2 - Principais tipos de Neoplasias (Adaptado de Raskin, 2010).....	29
Tabela 3 - Diagnósticos citológicos benignos classificados como "outros"	62
Tabela 4 - Diagnósticos citológicos malignos agrupados como "outros"	63
Tabela 5 - Diagnósticos citológicos inconclusivos agrupados como "outros" ...	64
Tabela 6 - Diagnósticos citológicos discordantes dos histopatológicos	67
Tabela 7 - Presença de <i>Leishmania spp</i> , em dois diagnósticos citológicos.....	72

Índice de Figuras

Figura 1 - Análises Microbiológicas realizadas durante o estágio curricular.....	12
Figura 2 - Urianálises realizadas durante o estágio curricular.....	13
Figura 3 - Análises parasitológicas realizadas durante o estágio curricular.....	13
Figura 4 - Análises hematológicas realizadas durante o estágio curricular.....	14
Figura 5 - Análises Bioquímicas realizadas durante o estágio curricular.....	15
Figura 6 - Análises Serológicas realizadas durante o estágio curricular	15
Figura 7 - Análises Citológicas realizadas durante o estágio curricular.....	16
Figura 8 - Cariorréxis celular, Citologia obtida por PAAF, corada por Diff-Quik, 1000x, Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.....	26
Figura 9 - Formas amastigotas de <i>Leishmania spp</i> livres e fagocitadas por macrófagos. PAAF de granuloma cutâneo, coloração por Diff-Quik, 1000x, Gentilmente cedida pelo LACH FMV-ULHT.....	27
Figura 10 - Imagem citológica de um macrófago com eritrofagocitose. Coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.....	28
Figura 11 - Macrófago com pigmentos de hemossiderina fagocitados, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedido pelo LACH, FMV-ULHT.	28
Figura 12 - Mastocitoma de alto grau citológico (fracamente granular). Citologia obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Imagem gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.	35
Figura 13 - Graduação Citológica de Mastocitomas, adaptada de Camus <i>et al</i> , 2016...	35
Figura 14 - Imagem citológica de Melanoma, obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.....	37
Figura 15 - Imagem citológica de um plasmocitoma, citologia obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT	40
Figura 16 - Células de Mott, em punção de gânglio, obtidas por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedidas pelo LACH, FMV-ULHT	40
Figura 17 - Células epiteliais neuroendócrinas, obtidas por PAAF, coloração Diff-Quik, 400x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.....	42
Figura 18 - Núcleos livres. Imagem citológica obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.....	43

Figura 19 - Imagem citológica de um quisto epidermal/folicular. Citologia de nódulo por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT	46
Figura 20 - Células mesenquimatosas isoladas de PAAF, de neoplasia perivascular, corada por Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pela LACH, FMV-ULHT	54
Figura 21 - Citologia de Neoplasia Perivascular, obtida por PAAF, corada por Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pela LACH, FMV-ULHT	54
Figura 22 - Classificação das 63 amostras citológicas quanto ao tipo celular	60
Figura 23 - Classificação do diagnóstico citológico quanto à malignidade	61
Figura 24 - Classificação dos diagnósticos citológicos	62
Figura 25 - Nível de concordância entre o diagnóstico citológico e o histopatológico..	65
Figura 26 - Diagnósticos citológicos concordantes com os histopatológicos	66
Figura 27 - Diagnósticos citológicos discordantes dos histopatológicos	67
Figura 28 - Relação entre a patologia e a idade dos animais.....	68
Figura 29 - Relação entre idade e o tipo celular	69
Figura 31 - Relação entre a patologia e o sexo.....	70
Figura 30 - Relação entre a idade e a malignidade.....	70
Figura 32 - Relação entre o tipo celular e o sexo	71
Figura 33 - Relação entre a malignidade e o sexo	72

I - Descrição da Casuística do Estágio Curricular

O estágio curricular representa uma parte do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Este Decorreu no Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia (LACH) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT), no período compreendido entre Outubro de 2017 e Março de 2018, sob a orientação da Dra Joana Fonseca. No decorrer deste período, foram realizados exames complementares de diagnóstico, tais como, hemogramas, análise de esfregaços sanguíneos e diversas bioquímicas sanguíneas. Observação de citologias auriculares, oculares e de massas provenientes de diferentes tecidos anatómicos. Avaliação de vários tipos de exsudados, urianálises, ionogramas, testes endocrinológicos, coprologias, culturas bacteriológicas, micológicas, testes de sensibilidade antibiótica, entre outros, num total de 2295 análises. No que diz respeito à espécie, as análises efetuadas foram referentes a 959 gatos, 1193 cães e 10 animais exóticos, dos quais, um papagaio, 7 furões, uma cobra, um dragão barbudo e um conure.

1.1 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas realizadas compreenderam a cultura fúngica e a bacteriana, com Teste de Sensibilidade Antibiótica (TSA) sendo esta última, a mais solicitada (figura 1).

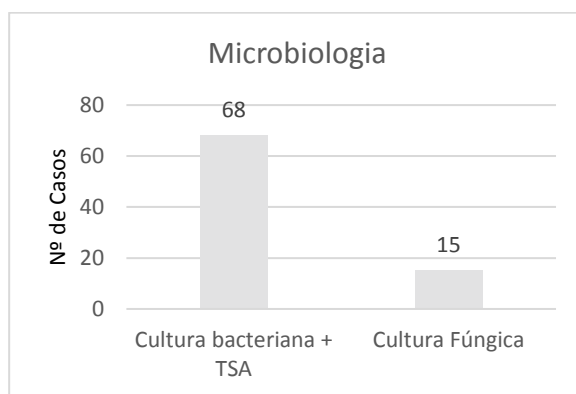


Figura 1 - Análises Microbiológicas realizadas durante o estágio curricular

1.2 Urianálise

Relativamente à urianálise, a análise de urina tipo II foi a mais realizada. Esta compreende a tira urinária, a medição da densidade urinária através do refratómetro, assim como análise microscópica do sedimento. O rácio Proteína/Creatinina permite quantificar a proteinúria (figura 2).

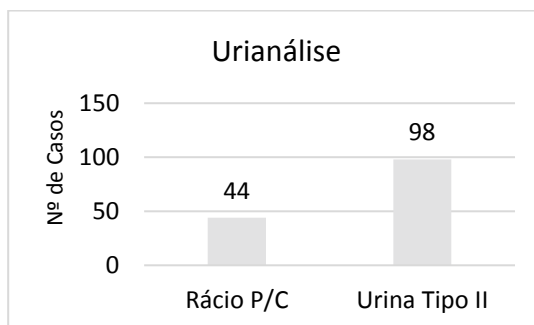


Figura 2 - Urianálises realizadas durante o estágio curricular

1.3 Coprologia

O exame coprológico por flutuação foi o mais solicitado e permite avaliar a presença de ovos, quistos e outras formas parasitárias, presentes nas fezes. Por sua vez, o teste de Baerman permite a deteção de parasitas pulmonares através da migração das formas larvares pelo aparelho de Baerman (Figura 3).

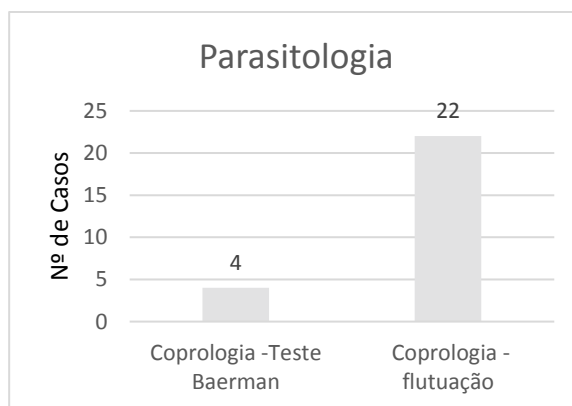


Figura 3 - Análises parasitológicas realizadas durante o estágio curricular

1.4 Hematologia

O hemograma, assim como o hemograma acompanhado do respetivo esfregaço, foi a análise sanguínea mais requisitada. Este permite avaliar o animal no que diz respeito a alterações eritrocitárias, plaquetárias ou leucocitárias (Figura 4).

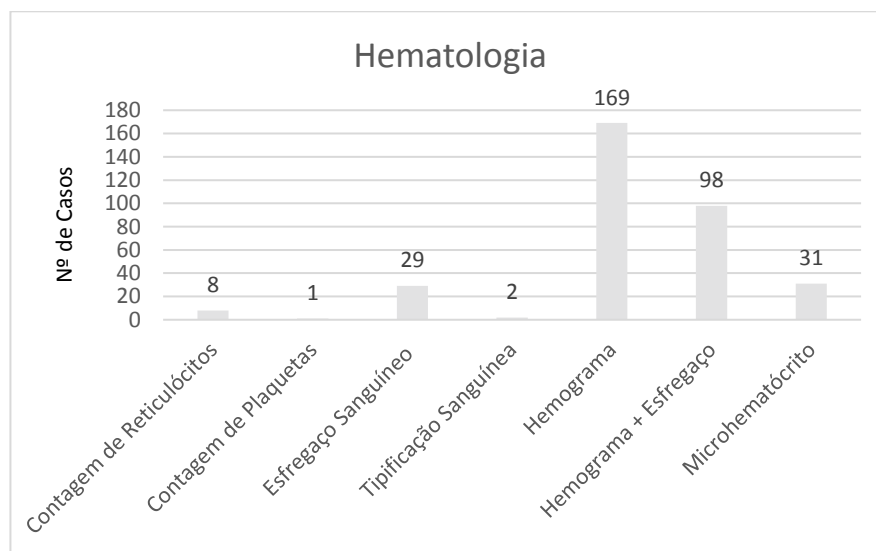


Figura 4 - Análises hematológicas realizadas durante o estágio curricular

1.5 Análises bioquímicas

A medição da albumina sérica foi a bioquímica mais realizada; através da medição deste parâmetro é possível descartar ou confirmar a presença de várias patologias desde hepáticas, renais, presença de infeções, entre outras afeções sistémicas. Ainda dentro das bioquímicas mais realizadas, destaca-se o ionograma e o painel V. O ionograma revela os valores de cloro, sódio e potássio. A análise classificada como Painel V inclui cinco bioquímicas distintas: Proteínas Totais, Ureia, Creatinina, GPT/ALT e Glucose, (Figura 5).

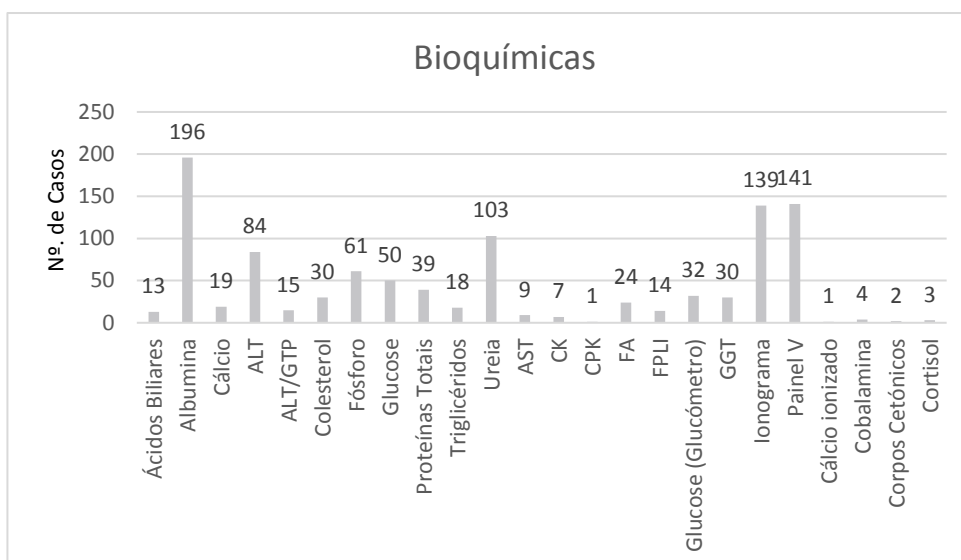


Figura 5 - Análises Bioquímicas realizadas durante o estágio curricular

1.6 Análises serológicas e PCR's

O teste serológico mais requisitado foi o de FIV/FeLV, que corresponde à pesquisa rápida de anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Felina assim como detecção de antígeno do Vírus da Leucemia Felina. Isto prende-se com o fato de que a maioria dos pacientes felinos, principalmente se errantes, ou provenientes de gatis, poderem ser portadores de um ou dos dois vírus e vir a contaminar outros gatos saudáveis, se contatarem diretamente com os mesmos. O segundo teste serológico mais realizado foi o da pesquisa de anticorpos contra a *Leishmania infantum*, sendo que nos localizamos numa zona considerada endémica, o que torna esta doença infecciosa cada vez mais frequente, (Figura 6).

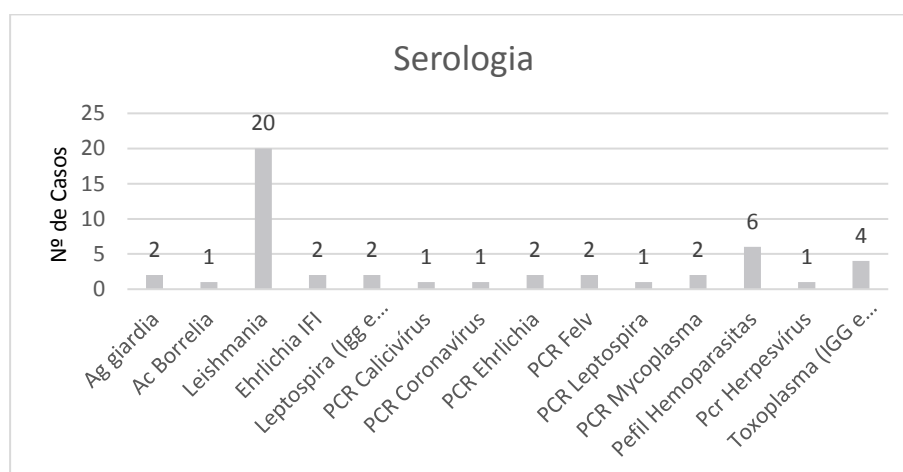


Figura 6 - Análises Serológicas realizadas durante o estágio curricular

1.7 Análises citológicas

Foram realizadas 159 análises citológicas de diversos tipos de amostras. Algumas massas surgem a nível cutâneo ou visceral, podem ser detetadas externamente, por ecografia ou intra-operatória. São passíveis de ser examinadas microscopicamente de forma rápida e segura para o paciente, podendo conduzir a um diagnóstico definitivo ou a uma orientação clínica. Para além destas, se possível recorre-se ao exame histopatológico, que é o exame que permite um diagnóstico definitivo da lesão. Durante o período de estágio foram realizadas 42 análises histopatológicas (Figura 7).

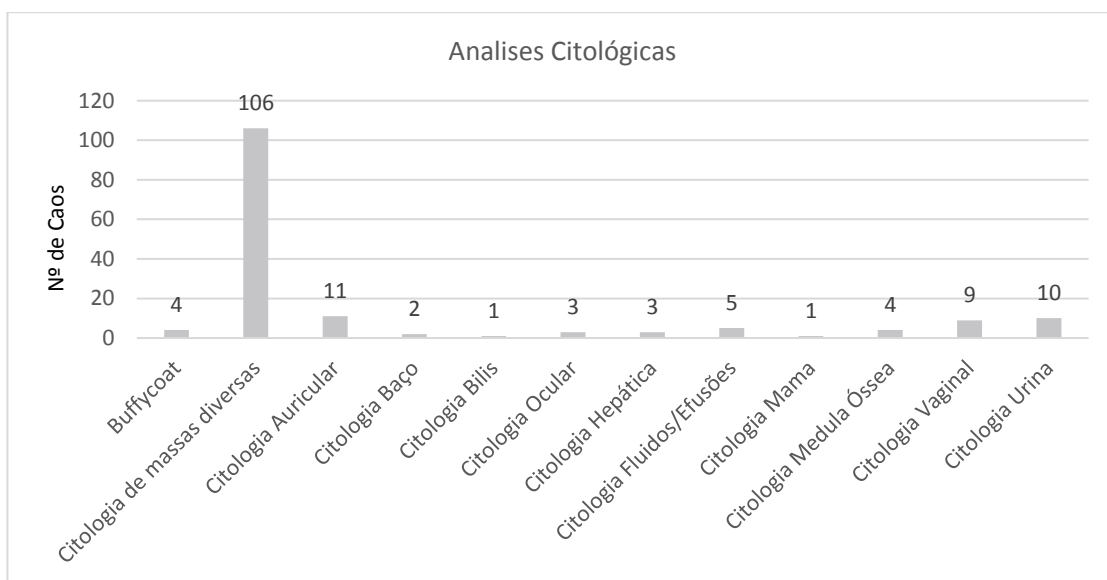


Figura 7 - Análises Citológicas realizadas durante o estágio curricular

II. Dissertação de Mestrado “Avaliação da Concordância entre Análises Citológicas e Histopatológicas em Animais de Companhia: Estudo Retrospectivo de 3 anos”

1. Introdução

Existe alguma escassez de informação publicada sobre diagnósticos efetuados através de amostras citológicas, porém, vários estudos avaliaram a precisão da citologia em comparação com a histologia, e de modo geral, existe uma boa correlação entre ambos, embora, esta varie significativamente, de acordo com a localização e a natureza da lesão em estudo (Skeldon & Dewhurst, 2009).

A citopatologia é uma modalidade diagnóstica, minimamente invasiva, rápida, de baixo custo, e com ampla utilização em espécies veterinárias, bem como em Medicina Humana. As vantagens citadas, possuem uma importância bastante relevante, em Medicina Veterinária, devido às restrições financeiras dos tutores, e à necessidade de reduzir os riscos associados à contenção, com recurso a anestesia, exigida nos procedimentos mais invasivos (Sharkey, Seelig & Overmann, 2014).

Esta técnica apresenta várias vantagens, entre elas, destaca-se a versatilidade de interpretação de diferentes tipos de tecidos, lesões e processos patológicos. A rapidez e simplicidade de execução, baixo custo monetário, baixo risco para o animal, e obtenção de informação útil, que pode auxiliar na condução do diagnóstico, são parte das vantagens da citologia. As principais limitações desta técnica, encontram-se relacionadas com resultados inconclusivos, quer devido à baixa celularidade das amostras, quer por falta de arquitetura celular, ou presença de artefactos (Sharkey, Dial & Matz, 2007).

No atual contexto socioeconómico português, existem inúmeros casos, em que o recurso a exames complementares adicionais ou face à necessidade de tratamentos dispendiosos, a citologia pode ser a única resposta para decisões médicas importantes, nomeadamente em casos de sofrimento ou redução substancial da qualidade de vida do animal em questão. Uma das utilizações de excelência da citologia em medicina veterinária é a possibilidade de distinguir processos inflamatórios, de neoplásicos. Apesar de nem sempre ser possível emitir um diagnóstico final, não restam dúvidas de que esta modalidade nos permite reduzir significativamente a lista de diagnósticos diferenciais (Meinkoth *et al.*, 2014).

A esperança média de vida dos animais de companhia tem vindo a aumentar por várias razões, estas vão desde uma melhor qualidade de vida facultada por proprietários cada vez mais informados, bem como, uma crescente e constante atualização, especialização e evolução dos médicos veterinários entre outros membros do ramo. Posto isto, será também esperado um aumento da incidência de alterações neoplásicas, que se manifestam em diversas localizações anatómicas. Nestas situações a citologia pode ser utilizada como teste inicial, a ser complementado pela histopatologia, que é considerada a técnica de referência, para a avaliação morfológica dos tecidos. A histopatologia é uma técnica que requer mais tempo de preparação, processamento e análise. Geralmente mais dispendiosa e representa maior risco para o animal em causa, contudo, não deixa de ser necessária para a emissão de um diagnóstico definitivo na maioria das lesões analisadas. Apesar dos prós e contras de cada uma destas técnicas, a citologia e a histopatologia serão sempre áreas complementares pelas suas distintas qualidades (Sharkey, Dial & Matz, 2007).

O presente estudo, foi desenvolvido a fim de comparar os diagnósticos emitidos pela citopatologia com os seus correspondentes emitidos por parte da histopatologia, de lesões que contemplam diversos tipos de tecidos, em cães e gatos, no período compreendido entre 2016 e 2018, no LACH da FMV-ULHT, para poder avaliar a concordância entre os resultados destes dois diferentes métodos, determinando assim a acuidade do diagnóstico citológico, tendo como referência o exame histopatológico, considerado a técnica de referência para a avaliação morfológica dos tecidos.

Este trabalho incluiu o estudo de 63 amostras de diferentes tipos de lesões com localizações anatómicas igualmente distintas, estas foram recolhidas para exame citológico e histopatológico respetivamente.

O objetivo principal foi determinar a percentagem de casos concordantes e discordantes entre os resultados citológicos e histopatológicos. Extrair do exame citológico, informações como, critérios de malignidade e tipo de tecido analisado. E verificar, a faixa etária, raça e género dos animais, para correlacionar também estes dados, de forma a enriquecer o estudo.

1.1 Análise Citológica em Medicina Veterinária

O objetivo de avaliar uma amostra citológica é obter informações sobre a natureza do tecido em causa, para poder tomar decisões diagnósticas e terapêuticas adequadas (Christopher *et al.*, 2008).

O exame citológico de aspirados, impressões e outras amostras é uma ferramenta diagnóstica, muito importante na prática veterinária.

A colheita de amostras é geralmente rápida, relativamente não invasiva e a análise das mesmas não requer nenhum equipamento complexo. Embora existam limitações em relação à sensibilidade e especificidade, o exame citológico é considerado a modalidade diagnóstica de eleição, para muitos tipos de lesões inflamatórias, neoplásicas e outras. (Christopher *et al.*, 2008 & Sharkey *et al.*, 2014).

Existem recomendações específicas consoante a localização da lesão a punccionar ou suspeita da patologia em curso. Na presença de linfadenopatia generalizada, devem ser recolhidas no mínimo amostras de dois gânglios distintos (Meinkoth *et al.*, 2014). Deve-se evitar áreas centrais de linfonodos demasiado hiperplásicos, devido ao risco de obter amostras não diagnósticas, pois estes centros podem conter detritos necróticos. Sempre que possível, devem ser recolhidas várias amostras, de áreas diferentes nas lesões heterogêneas (Meyer *et al.*, 2010).

Lesões quísticas com conteúdo líquido devem ser tratadas como análise de fluídos, removendo-se inicialmente todo o líquido, para posteriormente, aspirar a parte sólida da lesão, se possível. Em lesões internas, a citologia é geralmente eficaz na avaliação de organomegalias (fígado ou baço por exemplo), e menos eficaz na presença de lesões focais (Meyer *et al.*, 2010). Isto deve-se à probabilidade de ser uma lesão pouco esfoliativa e ocorrer punção do tecido perilesional, o que leva a interpretações não fidedignas. Em tecidos vascularizados ou em fluídos, pode ser utilizado EDTA estéril na agulha e na ponta da seringa, ou efetuar a colheita para um tubo de EDTA, prevenindo a formação de coágulos, preservando a morfologia celular da amostra (Rebar & Thompson, 2010 & Meinkoth *et al.*, 2014).

1.1.1 Técnicas de colheita

1.1.1.1 PAAF (punção aspirativa por agulha fina) e PNAAF (punção não aspirativa por agulha fina)

A PNAAF é uma técnica de colheita, que pode produzir amostras de qualidade igual ou superior às obtidas através da técnica aspirativa. Pode ser aplicada na maioria das massas, especialmente naquelas que são altamente vasculares (Meinkoth *et al.*, 2014). É semelhante à técnica de aspiração, mas não é aplicada nenhuma pressão negativa durante a colheita. A agulha é inserida na massa e movida para trás e para frente, com movimentos rápidos, tentando permanecer ao longo do mesmo trajeto (Meinkoth *et al.*, 2014). Se possível, é ideal realizar várias colheitas, em locais distintos dentro da mesma massa, para aumentar a possibilidade de obter material de diagnóstico, garantindo uma amostra representativa da lesão (Meinkoth *et al.*, 2014).

A PAAF é um método utilizado da mesma forma que a PNAAF, porém, neste, é aplicada pressão negativa retraindo o êmbolo cerca de três quartos do volume da seringa. A força excessiva ou aplicação prolongada de pressão pode levar à rotura dos vasos sanguíneos e a amostra será contaminada com sangue periférico, o que a torna não diagnóstica (Meinkoth *et al.*, 2014). Depois de abrangidas as áreas de interesse, a pressão negativa deve ser libertada, e a agulha é removida da massa, posteriormente, retira-se a agulha da seringa e enche-se a mesma de ar, torna-se a acoplar e expelle-se o conteúdo contido no canhão da agulha, para uma lâmina de vidro, efetuando-se de imediato o esfregaço. Quando possível, deve-se efetuar várias preparações (Meinkoth *et al.*, 2014).

1.1.1.2 Citologia Ecoguiada

A PAAF ecoguiada tem várias vantagens sobre a não ecoguiada, incluindo a visibilidade direta e constante da agulha e do órgão alvo, melhor acessibilidade a lesões profundas, maior precisão e segurança (Liffman & Courtman, 2017).

O gel de ecografia deve ser limpo pré-punção para evitar posteriores artefatos nas preparações, sendo o álcool o melhor meio de interface. As agulhas usadas para esta técnica devem, de preferência, ter um Gauge maior, o que diminui o risco de hemorragia, exceptuando-se a aspiração de fluídos com elevada viscosidade (Meyer *et al.*, 2010).

1.1.1.3 Citologia por aposição ou raspagem

Para realizar uma correta citologia por aposição, durante uma cirurgia ou necropsia, o tecido deve ser seccionado primeiro, de modo a obter uma nova superfície. De seguida, o excesso de sangue e fluidos teciduais devem ser removidos da superfície da lesão com material absorvente limpo, posteriormente esta é pressionada contra uma lâmina de vidro e levantada imediatamente. Nas áreas ulceradas deve-se fazer primeiro a citologia por aposição antes da limpeza das mesmas. A lesão deve então ser limpa com uma solução salina e reimpressa ou raspada. O tecido não deve deslizar sobre a lâmina, pois isto faz com que ocorra rotura celular. Quando é possível, devem-se preparar várias amostras (Brazzell, 2010 & Meinkoht *et al.*, 2014).

A citologia por raspagem é efetuada com recurso a uma lâmina de bisturi, para raspar a superfície da lesão. Sempre que possível, a crosta superficial e os exsudados devem ser removidos da lesão antes de se realizar a colheita da amostra, tal como acontece na citologia por aposição. O material obtido é de seguida, transferido para uma lâmina de vidro e espalhado através da técnica de *squash*.

1.1.1.4 Citologia por zaragatoa

Determinadas áreas, como a vagina, canais auditivos, tratos fistulosos entre outras, não são passíveis de ser aspiradas, sendo necessário efetuar esfregaços com recurso a uma zaragatoa. As amostras são obtidas inserindo-se uma zaragatoa estéril, que pode ser previamente umedecida com uma solução salina estéril, se a área em questão não for húmida por natureza, prevenindo assim a rotura celular. Deve-se girar suavemente a zaragatoa e não deslizar, pois isto pode arrastar o material originando lise celular, posteriormente repetir o procedimento, sobre uma lâmina de vidro. Esta técnica é bastante útil na identificação de agentes infecciosos (Brazzell, 2010 & Meinkoht *et al.*, 2014).

1.1.2 Avaliação de Amostras Citológicas

As amostras citológicas são avaliadas quanto à qualidade e uma avaliação básica é feita em relação ao principal processo ou processos patológicos presentes: inflamação, presença ou ausência de agentes infecciosos, hiperplasias e neoplasias. Muitas vezes, dependendo da qualidade da amostra e da natureza da lesão, um diagnóstico mais específico pode ser feito (ex.: identificação de um agente etiológico ou classificação de uma neoplasia específica), mas isto nem sempre é possível. Neste caso, devem ser realizados exames complementares tais como, biópsia para histopatologia, estudos moleculares ou cultura para confirmação de agentes infecciosos (Sharkey *et al.*, 2007).

Existem vários problemas que podem ocorrer durante a colheita e preparação de lâminas que se traduzem num baixo valor diagnóstico, entre os quais destacam-se os seguintes: preparar apenas uma lâmina com a amostra; a reutilização de lâminas; contaminação hemática marcada; amostra de fraca celularidade muitas vezes devido à pressão negativa inadequada durante a colheita ou movimentos de agulha lentos e ou inadequados durante a técnica não aspirativa; amostra demasiado amontoada, esfregaço com um fraco espalhamento, presença de células roturadas, que sofreram lise durante a colheita e/ou processamento da amostra; dessecação ou coagulação da amostra antes ou durante a preparação da lâmina; contaminação com gel de ecografia (Brazzell, 2010).

1.1.3 Histologia

O exame das lâminas histológicas coradas começa, com a análise das mesmas como um todo, antes de se focar mais especificamente, apenas nas lesões e células individuais. Podem ser observadas lesões grandes, pequenas, difusas ou focais, depois de uma observação mais abrangente, serão então estudadas as áreas de maior interesse, para um exame mais detalhado; sem correr o risco, de não visualizar alguma lesão e, consequentemente, extrair conclusões precipitadas (Maxie & Miller, 2016).

As informações clinicamente úteis devem ser relatadas. No caso de biópsias de tumores, os clínicos têm interesse em saber o prognóstico do mesmo. E este passa pelo grau de anaplasia, evidência de invasão tecidual, se a remoção foi completa ou se existe probabilidade de recorrência. As neoplasias malignas ou potencialmente malignas devem ser classificadas de acordo com os critérios publicados. A Hematoxilina e Eosina é a

coloração histológica utilizada por rotina, e, é a base para comparação com procedimentos histoquímicos e imunohistoquímicos (Maxie & Miller, 2016).

1.1.4 Outros exames complementares de diagnóstico

Existem outros exames complementares de diagnóstico, tais como, o imunodiagnóstico, que consiste na deteção de antigénios, através de reações químicas e imunológicas em cortes de tecidos - imunohistoquímica, ou em preparações citológicas - imunocitoquímica. Estas técnicas são vantajosas na caracterização de neoplasias pouco diferenciadas, na determinação da localização inicial de lesões metastáticas, na diferenciação de tumores primários e metastáticos, o que permite obter um prognóstico (Grant & Miller, 2016).

A Citometria de Fluxo permite analisar células individuais, à medida que estas passam por um feixe de laser em suspensões celulares. A absorvância da luz e as propriedades de dispersão facultam informação acerca de do tamanho celular, da granulação e complexidade interna, ao passo que o recurso a anticorpos específicos permite a quantificação de componentes expressas a nível intracelular e na superfície membranar. Uma vez, que, os anticorpos podem ser marcados com diversos fluorocromos, com diferentes excitações e comprimentos de onda, a expressão das várias moléculas de superfície podem ser determinadas em simultâneo (Ramos-Vara *et al.*, 2010).

O *PCR (Polimerase Chain Reaction) for Antigen Receptor Rearrangements* (PARR), é um teste de clonalidade por reação em cadeia da polimerase (PCR), para identificar rearranjos de recetores de antigénios (PARR), nos genes dos recetores dos linfócitos T ou B. Distinguindo assim, células linfóides neoplásicas de células inflamatórias e, pode ser realizado em tecidos incluídos em parafina. A eletroforese separa os produtos de PCR por tamanho. Assim, a presença de uma população predominantemente do mesmo tamanho indica presença de um grupo de linfócitos que partilham de uma região CDR3 de tamanho idêntico; e a presença de produtos de tamanhos diferentes sugere uma população de linfócitos policlonais. A presença de uma população clonal é 94% específica de malignidade. Os outros 6% representam uma população clonal de células B e T, não associada a patologia linfoproliferativa (Ramos-Vara *et al.*, 2010).

1.1.5 Populações Celulares – Principais características

Os três principais tipos celulares possuem características que os distinguem a nível citológico, como pode ser observado na seguinte tabela (tabela 1).

Tabela 1 - Principais populações celulares (adaptado de Meinkoth et al, 2014)

Tipo Celular	Características				
	Celularidade	Distribuição	Tamanho e forma	Organização celular	Outras
Epitelial	Moderada a elevada	Agregados de células coesivas	Depende do tecido: Podem ser pequenas a grandes, de morfologia colunar, cubóide, poligonal, redonda. Geralmente com limites bem definidos	Pavimentosa, em colmeia, paliçada, acinar, poligonal	O citoplasma pode ser abundante, com vacúolos de secreção ou diferenciação escamosa
Mesenquimatoso	Variável: Baixa a elevada	Agregados de células unidos por matriz ou isoladas	Fusiformes a estreladas. Podem ser arredondadas (tecido ósseo). Geralmente de limites pouco definidos.	Arranjos ondulados ou perivasculares	Presença de matriz eosinofílica extracelular. Podem apresentar vacuolização.
Redondo	Elevada	Uniforme (células isoladas)	Pequenas a médias, redondas, de limites bem definidos	Baixa preservação da organização celular	Morfologia muito característica

1.1.6 Classificação geral das alterações citológicas

1.1.6.1 Tecidos normais ou hiperplásicos

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

As células normais apresentam uniformidade do núcleo e do nucléolo, quer a nível de tamanho quer de morfologia. De uma forma geral, o volume do citoplasma é maior do que o do núcleo, excepto em linfócitos.

A Hiperplasia corresponde ao aumento tecidular não-neoplásico, pode ocorrer em resposta a uma lesão ou a distúrbios hormonais. As células hiperplásicas apresentam maior relação núcleo:citoplasma (N:C) do que as não hiperplásicas (Raskin,2010).

1.1.6.2 Lesões Quísticas

Este tipo de lesões, geralmente contém material líquido ou semilíquido. Este líquido, geralmente, apresenta um baixo teor proteico e uma reduzida quantidade de células. Estas lesões benignas podem resultar da proliferação de células de revestimento, ou de uma lesão tecidular. De entre os exemplos podemos incluir: o seroma, mucocelo salivar, quisto das glândulas sudoríparas apócrinas, quisto folicular ou epidérmico e quistos associados a uma glândula não cutânea, como por exemplo a glândula mamária (Raskin, 2010).

1.1.6.3 Inflamação

Os estados inflamatórios são classificados citologicamente pela predominância de determinado tipo celular envolvido. Se uma lesão for composta inteiramente por células inflamatórias, as percentagens relativas dos vários tipos de células, podem facultar pistas sobre a etiologia da inflamação, assim como, da presença de determinados agentes infecciosos (Meinkothet *al.*, 2014).

As lesões purulentas ou supurativas contêm mais de 85% de neutrófilos e podem ser classificadas pela presença ou ausência destas células (Raskin, 2010).

Os neutrófilos são células fagocíticas, comumente encontradas em amostras citológicas, a sua morfologia é frequentemente semelhante à observada em esfregaços de sangue periférico (Raskin, 2010).

Os núcleos dos neutrófilos normais têm uma coloração mais basofílica e um ou vários segmentos distintos, o citoplasma é tipicamente claro. Estas células podem sofrer diversas alterações morfológicas nos tecidos. O envelhecimento é um fenómeno comumente encontrado. A mudança inicial que se pode observar é a hipersegmentação do núcleo. O resultado final do envelhecimento é a picnose dos núcleos. A picnose é a condensação da cromatina nuclear, numa ou mais pequenas esferas discretas, e densamente coradas, que antecede a cariorréxis (figura 8), fenómeno que corresponde à fragmentação do núcleo.

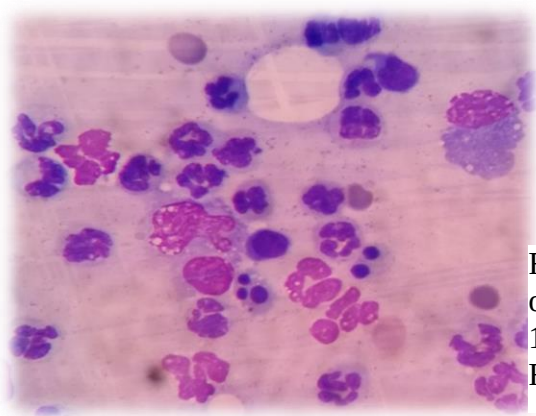


Figura 8 - Cariorréxis celular, Citologia obtida por PAAF, corada por Diff-Quik, 1000x, Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

A cariólise ocorre quando estes estão presentes num ambiente prejudicial à célula, por exemplo, quando estão presentes em lesões com bactérias produtoras de endotoxinas. A presença de muitos neutrófilos com uma alteração degenerativa acentuada deve levar a uma busca diligente por bactérias. A alteração degenerativa é uma alteração adquirida e distingue-se das alterações tóxicas observadas nos neutrófilos do sangue periférico. O núcleo da célula aumenta e parece mais espesso, revela uma cor eosinofílica mais clara e perde a lobulação. Os neutrófilos não degenerados apresentam uma morfologia normal e predominam nas lesões menos tóxicas, como por exemplo, patologias imunomediadas, neoplasias e lesões asséticas, causadas por exemplo por urina e bÍlis. Os neutrófilos degenerados, predominam nas infeções bacterianas, principalmente nas que são causadas por bactérias gram-negativas. Em condições sépticas podem-se encontrar bactérias no interior destas células (Raskin, 2010).

Em lesões histiocíticas ou macrofágicas, existe um predomínio de macrófagos, sugerindo inflamação crónica. A inflamação crónica caracteriza-se por uma mistura de macrófagos, linfócitos e neutrófilos em número variado, com ou sem constituintes do tecido examinado.

Os macrófagos presentes em lesões inflamatórias (figura 9) derivam dos monócitos do sangue periférico. Muitos tecidos têm um baixo número de macrófagos como células residentes normais. Estas células podem exibir uma morfologia extremamente variável nos tecidos, o que se pode tornar um pouco confuso. Nos granulomas, os macrófagos ativados, assemelham-se morfologicamente, às células epiteliais. Estas células podem-se agrupar, originando formas epitelióides. As lesões granulomatosas estão frequentemente associadas a reações a corpos estranhos. As lesões inflamatórias piogranulomatosas contêm uma mistura de neutrófilos e macrófagos, podendo incluir também muitos linfócitos ou plasmócitos. Este tipo de inflamação está, muitas vezes, relacionado com reações a corpos estranhos, infeções fúngicas, infeções por micobactérias, paniculite, granulomas por lambadura entre outras lesões tecidulares crónicas (Raskin, 2010).

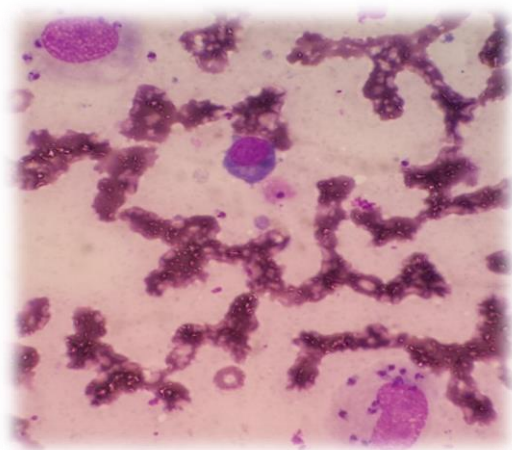


Figura 9 - Formas amastigotas de *Leishmania spp* livres e fagocitadas por macrófagos. PAAF de granuloma cutâneo, coloração por Diff-Quik, 1000x, Gentilmente cedida pelo LACH FMV-ULHT

As lesões eosinofílicas contêm mais de 10% de eosinófilos, para além de outros tipos de células inflamatórias, podendo estar presente, ou não, o envolvimento de mastócitos. Esta resposta inflamatória pode estar associada ao granuloma eosinofílico, à hipersensibilidade ou a condições alérgicas, pode também estar presente em casos de migração parasitária, infeções fúngicas e mastocitomas.

A infiltração linfocítica ou plasmocítica está, frequentemente, associada a reações alérgicas ou auto-imunes, no estadio inicial de infeções virais e na inflamação crónica. A população linfóide é bastante heterogénea, com linfócitos pequenos ou de tamanho intermédio e plasmócitos misturados com outras células inflamatórias. Uma população monomórfica de células linfóides, sem outras células inflamatórias presentes, sugere neoplasia linfóide. Por vezes, a presença de histiócitos, pode mimetizar morfologicamente uma lesão neoplásica (Raskin, 2010).

1.1.6.4 Lesão tecidual

As amostras submetidas para exame citológico, demonstram, frequentemente lesão tecidual, para além da formação de quistos, inflamação ou neoplasia. Entre estas lesões podemos incluir hemorragia, agregados proteicos, cristais de colesterol, necrose e fibrose (Raskin, 2010).

A hemorragia patológica pode ser diferenciada da contaminação sanguínea, que ocorre aquando da colheita do material para exame citológico. A contaminação com sangue, caracteriza-se pela elevada presença de eritrócitos e agregados plaquetários. A hemorragia aguda está associada à fagocitose recente de eritrócitos pelos macrófagos (figura 10), denominada de eritrofagia.

A hemorragia crónica observa-se através da presença de macrófagos ativos, que contém pigmentos sanguíneos degradados no interior do seu citoplasma, como por exemplo, grânulos de hemossiderina de cor azul-esverdeada a preta (figura 11), ou cristais de hematoidina rombóides de cor amarela.

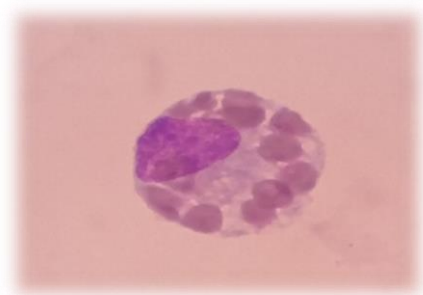
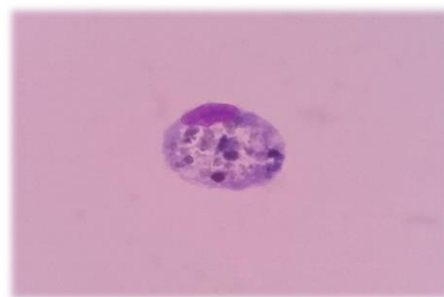


Figura 10 - Imagem citológica de um macrófago com eritrofagocitose. Coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Figura 11 - Macrófago com pigmentos de hemossiderina fagocitados, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedido pelo LACH, FMV-ULHT.



Os agregados proteicos podem ser observados no plano de fundo, onde o muco surge discretamente basofílico e amorfo. Por vezes, é possível observar restos nucleares que correspondem a filamentos lineares rosados, originados pela excessiva manipulação do tecido durante a preparação citológica. O colagénio apresenta-se como filamentos rosados, entre as células fusiformes (Raskin, 2010).

A necrose e a fibrose podem ser encontradas em simultâneo, ou separadas. A morte celular é representada pelo contorno celular indistinto e floculoso, sendo

impossível determinar o tipo de células que estão presentes. Em determinadas lesões inflamatórias, que já se encontram numa fase de reparação tecidual é frequente observar-se fibroblastos reativos, juntamente com inflamação grave. É importante ter este detalhe presente, de modo a não confundir esta reação, com uma condição neoplásica (Raskin, 2010).

1.1.6.5 Neoplasias

As neoplasias podem ser inicialmente diagnosticadas, perante uma população de células monomórficas e ausência de inflamação significativa. As neoplasias benignas, ou hiperplasias, são caracterizadas por uma população uniforme de células, semelhantes às células de tecido normal. As células benignas devem revelar uniformidade, quer do tamanho quer da forma do núcleo, da razão N:C e de outras características nucleares. As células malignas possuem, frequentemente, três ou mais critérios de ausência de diferenciação ou atipia celular, que devem ser identificados, antes de se efetuar um diagnóstico de malignidade (Raskin, 2010).

As neoplasias podem ser divididas de modo geral em três categorias (tabela 2), para auxiliar na interpretação citológica, reduzindo assim a lista de diagnósticos diferenciais (Raskin, 2010).

Tabela 2 - Principais tipos de Neoplasias (Adaptado de Raskin, 2010)

Células Epiteliais	Células Redondas	Células Mesenquimatosas
• Benignas • Malignas	• Linfoma • Mastocitoma • Histiocitoma • Plasmocitoma • Melanoma (Incluído nesta categoria no presente estudo). • TVT (Tumor Venéreo Transmissível)	• Benignas • Malignas

1.1.7 Critérios de malignidade

A transformação neoplásica de células resulta, geralmente, da perda de inibição do crescimento e diferenciação. Isto pode levar não só a um crescimento desmedido da população afetada, como também, à introdução e permanência de alterações na morfologia celular.

A presença de qualquer uma das características morfológicas que se seguem, particularmente as características nucleares, aumenta a suspeita de malignidade. A presença de uma população de células, numa localização anormal, como por exemplo, células epiteliais dos sacos anais, num aspirado de linfoma na zona sublombar; anisocitose, variação do tamanho das células; anisocarisose, variação do tamanho nuclear; variação da razão N:C, que se encontra frequentemente aumentada, nas populações de células neoplásicas; presença de um ou mais nucléolos proeminentes em vários núcleos, sendo que a presença de um ou dois nucléolos de pequenas dimensões é aceitável em células de tecidos com elevado *turnover*, como por exemplo os hepatócitos; presença de células multinucleadas, especialmente se os núcleos variam de tamanho dentro da mesma célula; anormalidades nucleares, principalmente a presença de macronúcleolos (aqueles que são maiores que os eritrócitos) e/ou múltiplos nucléolos que variam em tamanho e forma; cromatina nuclear condensada ou reticulada, característica de células que passam mais tempo em fases de proliferação; modelação nuclear, em populações normais de células, a inibição do crescimento impede que os núcleos dentro da mesma célula, ou em células adjacentes, influenciem a forma uma da outra; aumento subjetivo do número de figuras mitóticas, ou presença de figuras mitóticas anormais, em que se observa uma óbvia assimetria cromossómica; basofilia citoplasmática em células muito ativas, resulta num citoplasma de coloração azul-escuro, quando corada com Romanowsky; anormal vacuolização citoplasmática, ou presença de vacúolos em células, que normalmente não possuem vacúolos. A vacuolização perinuclear é, particularmente, preocupante. Vacúolos de grandes dimensões, que conseguem empurrar o núcleo para a periferia, são altamente sugestivos de carcinoma. Podem ser observadas diversas combinações destas características de malignidade, em diferentes tipos de neoplasias. Deve-se salientar, que, alguns tumores malignos podem, apresentar poucos critérios acima citados é disso exemplo, o carcinoma dos sacos anais (Tennant, 2014).

1.1.8 Neoplasias de Células Redondas

É a categoria composta principalmente por células do sistema hemolinfático. As células neoplásicas desta categoria assumem tipicamente uma forma arredondada com ausência de junções celulares (DeNicola, 2014).

As neoplasias das células redondas são consideradas um dos tipos mais comuns de neoplasias, na clínica de animais de companhia (Alleman & Choi, 2010).

Como estas células não se encontram aderidas a estruturas tecidulares, tendem a esfoliar facilmente através da aspiração dos tecidos (Alleman & Choi, 2010).

Dentro dos tumores das células redondas, encontram-se descritos, o tumor venéreo transmissível (TVT), mastocitoma, histiocitoma, linfoma e o melanoma (DeNicola, 2014).

A maioria das neoplasias melanocíticas apresentam uma forma citológica proeminentemente redonda, sendo por esta razão, muitas vezes incluídas na categoria de células redondas, embora a sua origem seja nos melanócitos da pele. Esta classificação pode variar de acordo com o autor. No presente estudo, incluiu-se o melanoma nesta categoria.

1.1.8.1 Histiocitoma

A maioria dos histiocitomas ocorrem em cães jovens, com menos de 5 anos de idade, representando cerca de 12% a 14% das massas cutâneas. A sua origem é a célula de Langerhans da epiderme (Raskin, 2010 & Dunn, 2014).

Os histiócitos incluem os macrófagos e as células dendríticas, que possuem o mesmo precursor medular, porém, diferenciam-se em duas linhagens de células distintas, com diferente função e distribuição tecidular. Os macrófagos são altamente fagocíticos; as células dendríticas são especializadas na apresentação de antígenos aos linfócitos T, sendo assim responsáveis por uma resposta imune antígeno específica (DeNicola, 2014).

Citologicamente, as células têm bordos citoplasmáticos distintos. Os núcleos são redondos, ovais ou com formas mais irregulares, cromatina pouco condensada e nucléolos indistintos. Estas células exibem anisocitose e anisocariose mínimas. O citoplasma varia em quantidade mas é geralmente abundante, granular, de cor levemente basofílica, sem

vacúolos ou grânulos (Alleman & Choi, 2010 & Clifford, 2013). Um número variavelmente aumentado de linfócitos pequenos e bem diferenciados, semelhantes aos linfócitos T citotóxicos, macrófagos e plasmócitos, são comuns em lesões que se encontram em regressão e por vezes podem surgir como o tipo de célula predominante (Raskin, 2010).

Os tumores histiocíticos têm uma grande variedade de apresentações clínicas e comportamentos biológicos, que dependem da linhagem de células dos quais provêm, as características morfológicas celulares, muitas vezes, podem auxiliar na previsão do comportamento biológico. As quatro principais categorias das neoplasias histiocíticas em cães são: o histiocitoma cutâneo, a histiocitose cutânea, a histiocitose sistémica e o sarcoma histiocítico. O histiocitoma cutâneo já foi mencionado anteriormente; é geralmente uma forma benigna desta neoplasia em cães, ocorre na maior parte dos casos em idades compreendidas entre um ano e meio e os três anos (Clifford, 2013).

A histiocitose cutânea é idêntica ao histiocitoma cutâneo, mas as lesões cutâneas e subcutâneas, apesar de benignas, são múltiplas e distribuídas por todo o corpo. Estas podem aumentar de tamanho e regredir espontaneamente. Assemelham-se mais um processo reativo das células dendríticas do que a um processo neoplásico (Clifford, 2013).

A histiocitose sistémica, tal como na histiocitose cutânea, faz parte do mesmo processo histiocítico reativo proliferativo. Para além de múltiplas lesões cutâneas, os linfonodos e órgãos viscerais podem ser acometidos.

A histiocitose maligna ou sarcoma histiocítico é a forma maligna desta neoplasia, caracteriza-se por ser de progressão rápida (Dunn, 2014).

Citologicamente, as células neoplásicas são distintas das que se verificam nas formas benignas, sendo característico a presença de anisocariose, variação da relação N:C, células gigantes multinucleadas, padrões de cromatina irregularmente condensados, nucléolos irregulares e proeminentes (Clifford, 2013). O citoplasma é abundante, azul claro, granular e por vezes vacuolizado. Na forma de sarcoma histiocítico hematofágico, pode ocorrer fagocitose de eritrócitos, leucócitos e de outras células neoplásicas por parte dos histiócitos neoplásicos, podendo assim ocorrer citopénias e anemias nos exames laboratoriais.

Estas neoplasias também foram relatadas em gatos, embora sejam menos comuns, salienta-se também que o histiocitoma cutâneo benigno típico do cão, não ocorre em gatos. Nestes a patologia é progressiva, apresenta-se citologicamente como uma população celular atípica, ou, de aparência benigna. Geralmente as lesões aparecem como

massas cutâneas isoladas, que progridem para múltiplas lesões cutâneas, também podem envolver os linfonodos ou órgãos viscerais (Clifford, 2013).

1.1.8.2 Linfoma

O linfoma é a neoplasia linfóide maligna mais comum em cães e gatos. A genética, imunocompetência, localização e o subtipo de tumor, contribuem para o prognóstico desta patologia (Burkhard & Bienzle, 2015).

Pode ser caracterizado anatomicamente como multicêntrico, alimentar, mediastínico ou extranodal. Em cães, o linfoma multicêntrico é responsável por 80% a 85% dos casos relatados; no entanto, outros tipos de linfomas de células B, bem como linfomas de células T, também são frequentemente diagnosticados. O prognóstico das variantes de linfoma em cães depende, não apenas do tipo de linfócito neoplásico, mas também da localização, características das células e estadió da doença (Burkhard & Bienzle, 2015).

Nos gatos, o diagnóstico é mais desafiante porque o linfoma afeta mais frequentemente locais extranodais, particularmente o trato gastrointestinal e respiratório superior. O linfoma que afeta o trato gastrointestinal é comum, mas particularmente difícil de diagnosticar, devido à relativa inacessibilidade e rápida progressão da inflamação linfocítica para neoplasia. Outros tipos de linfoma em gatos geralmente possuem uma população heterogénea de linfócitos neoplásicos, além de linfócitos reativos, plasmócitos e outras células (Burkhard & Bienzle, 2015).

Os exames que permitem diagnosticar e caracterizar o tipo de linfoma são a citologia, histopatologia, imunocitoquímica, imunohistoquímica, fenotipagem por citometria de fluxo, PCR e PARR (Burkhard & Bienzle, 2015).

O diagnóstico citológico de linfoma é mais direto, se o tumor for difuso e o linfonodo inteiro for substituído por uma população uniforme de linfócitos grandes, neoplásicos. Este é o tipo mais comum de linfoma em cães. A maioria dos linfomas difusos revela através da PAAF, uma amostra que consiste inteiramente, ou predominantemente, em células neoplásicas de grandes dimensões. No entanto, os linfomas difusos compostos de células pequenas ou intermédias podem ser difíceis de diagnosticar por citologia, porque as células são semelhantes a linfócitos normais. Em contraste com o linfoma difuso, o linfoma folicular, que é incomum em cães, pode

produzir uma população heterogénea de células benignas e malignas de tamanho e morfologia variáveis, o que se torna difícil de interpretar por citologia (Burkhard & Bienzle, 2015).

Atualmente, a avaliação citológica é uma ferramenta útil no diagnóstico de linfomas, mas muitas vezes é insuficiente para caracterizar de uma forma mais rigorosa esta patologia. A imunofenotipagem é altamente recomendada como diagnóstico adicional, diferenciando os linfócitos B e T (Comazzi & MacNeill, 2017).

1.1.8.3 Mastocitoma

Os Mastocitomas são os tumores cutâneos de células redondas, mais frequentes em cães, e o segundo mais frequente em gatos (London & Tham, 2013 & Hosseini *et al.*, 2014). Devido à prevalência dos mastocitomas em cães e ao comportamento biológico variável desta patologia, o prognóstico preciso e a compreensão detalhada dos mesmos, são fundamentais para um tratamento adequado (Hosseini *et al.* 2014).

Estas neoplasias são altamente invasivas e metastáticas, compreendendo 16-21% de todos os tumores cutâneos diagnosticados e 11% a 27% dos tumores malignos em cães (Hosseini *et al.*, 2014).

Mastocitose sistémica é um fenómeno raro, caracterizado por disseminação sistémica de mastócitos (Moirano *et al.*, 2017).

A citologia é muito útil no diagnóstico de mastocitomas devido à aparência característica dos mastócitos, através da coloração de rotina. A coloração de *Wright-Giemsa* revela grânulos intensamente corados nos mastócitos neoplásicos granulares. Vários subtipos de mastócitos foram identificados em humanos e cães, com base principalmente no conteúdo dos grânulos e na sua função biológica (Hosseini *et al.* 2014).

Os mastocitomas são das lesões, que revelam preparações citológicas altamente celulares, constituídas predominantemente por mastócitos. Estes são reconhecidos pelos grânulos redondos, intracitoplasmáticos, de cor vermelha-arroxeados. O número de grânulos pode variar, mesmo entre células do mesmo tumor, mas, a maioria revela grânulos suficientes para que seja reconhecido. Alguns destes grânulos são quimiotáticos para eosinófilos, razão pela qual o número de eosinófilos, em preparações de mastocitomas, varia de poucos a muitos, o que justifica que estes se encontrem ocasionalmente, em maior número do que os mastócitos. Este tipo de achado pode tornar

uma reação de hipersensibilidade tipo I difícil de distinguir de um processo neoplásico (Raskin, 2010).

Pode ser observado um grande número de grânulos no fundo das preparações, resultado de uma desgranulação, antes ou após, a aspiração da massa, o que pode diminuir a celularidade da amostra devido à desgranulação e consequente edema dos tecidos. As células dos mastocitomas anaplásicos apresentam um comportamento biológico agressivo, evidenciam uma grande atipia celular e poucos grânulos (figura 12), pois não sofreram uma correta diferenciação, para os poder produzir. São muito raros os mastocitomas bem diferenciados com elevada granulação, que apresentam um comportamento maligno. Todos os mastocitomas devem ser retirados, com amplas margens cirúrgicas (Raskin, 2010).

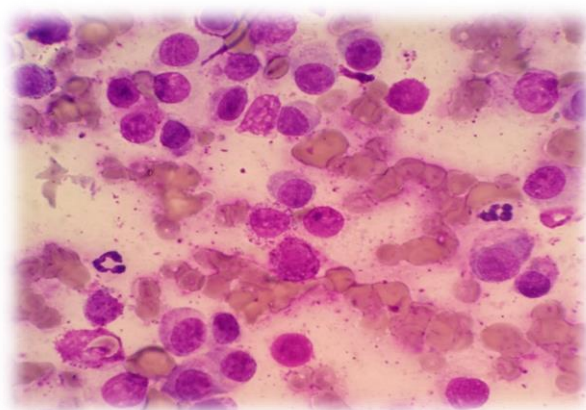


Figura 12 - Mastocitoma de alto grau citológico (fracamente granular). Citologia obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Imagem gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT.

A graduação citológica que melhor se correlaciona com a histologia, classificou os tumores de alto grau, se estes forem pouco granulares, ou, se tivessem pelo menos duas, das seguintes características: figuras mitóticas, células binucleadas ou multinucleadas, pleomorfismo nuclear ou mais de 50% de anisocariose. Este esquema de classificação (figura 13) possui 88% de sensibilidade e 94% de especificidade em relação à classificação histológica (Camus *et al.*, 2016).

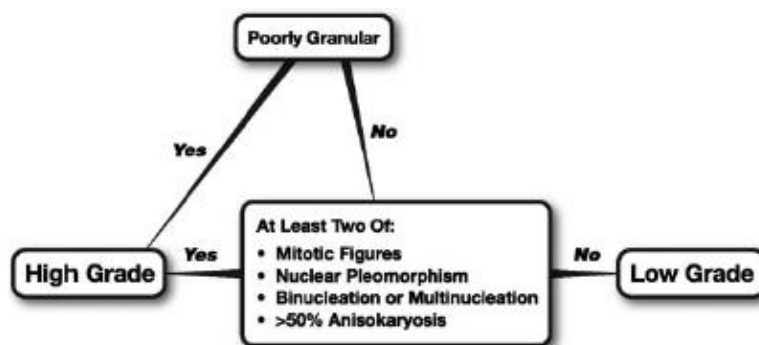


Figura 13 – Graduação citológica de mastocitomas, adaptada de Camus et al, 2016

A nível histológico o comportamento biológico dos mastocitomas é previsto/avaliado, recorrendo geralmente a dois sistemas de graduação, o de Patnaik e o de Kiupel.

O Sistema de classificação histológica segundo Kiupel, possui dois tipos de classificação, alto e baixo grau. Os critérios utilizados nesta escala são:

- Cariomegalia, duas vezes o diâmetro nuclear em 10% das células neoplásicas,
- 7 mitoses por 10 campos de grande ampliação,
- 3 ou mais células multinucleadas por 10 campos de grande ampliação,
- 3 núcleos bizarros por 10 campos de grande ampliação,

Se qualquer um destes achados estiver presente, a neoplasia é considerada de alto grau, os mastocitomas que não apresentam nenhuma destas características, são considerados de baixo grau (Camuset *al.*, 2016).

Graduação histológica, segundo Patnaik é composta por três graus;

- Grau I: Bem diferenciados, geralmente bem circunscritos, superficiais e de baixo índice mitótico;
- Grau II: Moderadamente diferenciados, mal delimitados, com alguma infiltração dos tecidos dérmicos mais profundos, moderado índice mitótico e alguma atipia citomorfológica;
- Grau III: Pobre diferenciação, bem circunscritos, profunda invasão tecidual e elevado índice mitótico com moderada atipia citomorfológica (London & Thamm, 2013).

A graduação do mastocitoma canino é baseada na avaliação histológica, onde a invasão tecidual revela ser um critério muito importante, porém, o grau de diferenciação conseguido na avaliação citológica correlaciona-se bem com o grau histológico (London & Thamm, 2013).

1.1.8.4 Melanoma

As neoplasias melanocíticas tem sido descritas no homem, e na maioria das espécies de animais domésticos, como o cão, gato, cavalo e está também descrita em animais silvestres, assim como em animais marinhos (Nishiya *et al.*, 2016).

Os melanócitos são células dendríticas que derivam da neuroectoderme e dos melanoblastos da crista neural, estes migram durante a embriogénese, para a derme e epiderme, membranas mucosas e olhos. Estas neoplasias estão incluídas a nível citológico, na categoria das neoplasias de células redondas pela maioria dos autores, devido ao aspeto morfológico de grande parte destas células, que também exibem outras formas menos comuns (Nishiya *et al.*, 2016).

A apresentação citológica pode ser confusa, uma vez que, a morfologia dos melanócitos, varia de redonda a poligonal, fusiforme a estrelada, sendo que a forma arredondada é a mais comum. Estas neoplasias esfoliam bem, os núcleos são geralmente paracentrais e tem uma forma redonda a oval. Os padrões de cromatina nuclear nas neoplasias benignas são uniformes e finos, nas malignas, são geralmente mais condensados e irregulares. Os nucléolos podem ser múltiplos, proeminentes, com uma forma irregular. Os critérios nucleares de malignidade são facilmente detetados, em muitos dos melanomas malignos, nomeadamente, um moderado a elevado número de figuras mitóticas (DeNicola, 2014).

O citoplasma é moderado a abundante, granular, e cora levemente de azul. Uma das características, que geralmente distingue esta classe de neoplasias, é a presença de numerosos e variáveis grânulos de pigmento de melanina (figura 14). Ao contrário dos grânulos normais de melanina, estes são muitas vezes arredondados, de tamanho variável e por vezes encontram-se em aglomerados. Os grânulos coram de preto ou verde-escuro, através da coloração de Romanowsky, ao contrário dos arroxeados que se observam nos mastocitomas (DeNicola, 2014).

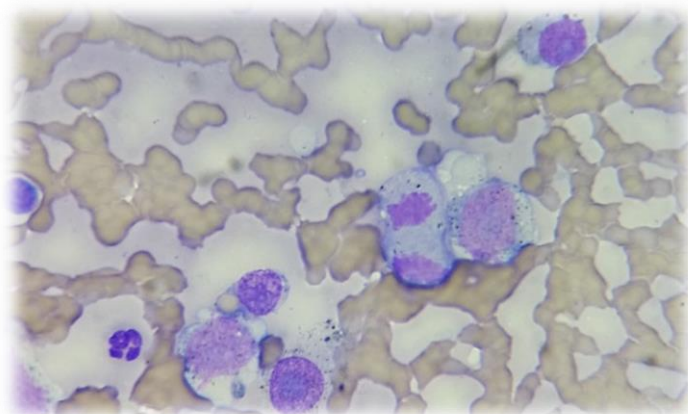


Figura 14 - Imagem citológica de Melanoma, obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Histologicamente e citologicamente, o melanoma maligno, pode ser do tipo altamente melanótico, ou, amelanótico altamente anaplásico. Os melanócitos anaplásicos podem ser grandes, com citoplasma abundante, núcleo ou núcleos ovais ou alongados e nucléolos evidentes. O diagnóstico histológico pode ser complicado, especialmente se o tumor for amelanótico. Os tumores amelanóticos malignos representam, cerca de 1/3 dos casos de melanoma em cães (Bain *et al.*, 2017).

O melanoma maligno, ou benigno, pode-se originar a partir de qualquer zona pigmentada, no entanto, zonas com pelo e a cavidade oral, são os locais mais comuns. O comportamento biológico é extremamente variável, e em muitos casos, os critérios de malignidade são indicadores úteis deste comportamento. Quanto maior for a atipia, maior é o potencial metastático, contudo, há sempre exceções. No cão, a localização anatômica ou a origem, representa um papel significativo na previsão do comportamento biológico. Neoplasias melanocíticas que tem origem nos lábios ou dígitos, melanomas da cavidade oral, assim como evidência de metástases distantes do local de origem estão associados a um mau prognóstico (Bain *et al.*, 2017).

A avaliação histológica do índice mitótico, e da atipia nuclear, podem ser úteis no prognóstico destes tumores. Histologicamente, uma classe de tumores melanocíticos é identificada como melanomas amelanóticos, devido à aparente ausência de grânulos de pigmento de melanina, com procedimentos padrão de coloração histológica (Bain *et al.*, 2017).

Os melanomas melanóticos bem diferenciados geralmente são benignos em cães e gatos, a menos que estejam perto de uma membrana mucosa ou de um leito ungueal. Os melanomas amelanóticos são muito mais difíceis de diagnosticar, devido ao pleomorfismo dos melanócitos, não há praticamente nenhum indicador morfológico do tipo de célula, a menos que os grânulos de melanina sejam visualizados (Bain *et al.*, 2017).

O diagnóstico histopatológico pode ser difícil se o tumor não possuir pigmento de melanina. O aspeto histopatológico é muito semelhante ao dos carcinomas, sarcomas, linfomas e tumores osteogénicos. Por esta razão, o diagnóstico deste tipo de melanoma maligno deve ser efetuado recorrendo à imunohistoquímica (Nishiya, 2016).

Melanomas malignos, incluindo a maioria dos melanomas amelanóticos, são tumores muito agressivos que se disseminam rapidamente, atingindo os linfonodos. As células tendem a ser grandes, pleomórficas e com vários critérios de malignidade. Podem

conter um nucléolo proeminente, grande, arredondado que se destaca e ocupa a maior parte do núcleo (Bergman *et al.*, 2013).

A aspiração de linfonodos, correspondente à área afetada, é recomendada sempre que um melanoma é diagnosticado. Nos humanos, o melanoma cutâneo pode surgir devido a mutações induzidas pela exposição repetida a intensa radiação ultravioleta (UV).

Uma pesquisa recente, sobre a etiologia do melanoma em cães, sugere múltiplas causas que são independentes da mutagénese associada à radiação UV, uma vez que, a grande maioria das raças têm pelo, que provavelmente, confere proteção da luz do sol. Sendo o melanoma associado à radiação UV, menos provável como causa primária no cão. No entanto, as células pigmentares dividem-se sempre que ocorrem lesões na pele, ou, quando expostas a trauma constante (por exemplo, áreas onde cães arranham ou lambem constantemente). Fatores de risco para o melanoma canino, não estão ainda bem estabelecidos (Bergman *et al.*, 2013).

1.1.8.5 Plasmocitoma

Este tumor representa cerca de 2% dos tumores de pele em cães, sendo raro em gatos. Apresentam-se maioritariamente como massas isoladas, e bem circunscritas, principalmente nos dígitos, pavilhão auricular e boca. A nível citológico os aspirados revelam ser moderados a marcadamente celulares (Raskin, 2010).

Os plasmocitomas (figura 15) são facilmente reconhecidos devido às características citoplasmáticas, nomeadamente o citoplasma basofílico, a zona clara perinuclear (aparelho de Golgi), o núcleo redondo, excêntrico e a cromatina condensada. Células multinucleadas são comuns, nos plasmocitomas, e nas formas pleomórficas deste tumor, o núcleo pode ser multilobulado.

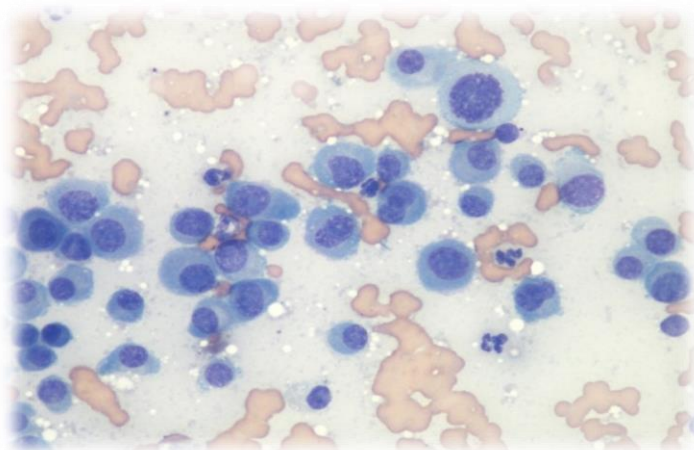


Figura 15 - Imagem citológica de um plasmocitoma, citologia obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Os plasmócitos neoplásicos podem parecer imaturos, assemelham-se a linfócitos grandes com maior razão N:C e possuem cromatina pouco densa. Estas células podem conter corpos de Russell, aglomerados de imunoglobulinas, no interior do retículo endoplasmático, denominadas células de Mott (figura 16).

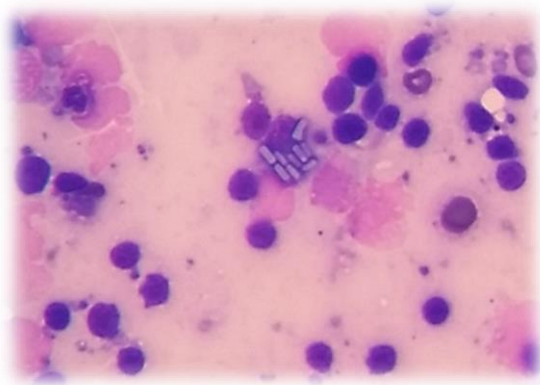


Figura 16 - Células de Mott, em punção de gânglio, obtidas por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedidas pelo LACH, FMV-ULHT

Os plasmocitomas podem ocorrer na pele, mucosa oral, medula óssea, fígado e baço (Friedrichs & Young, 2013).

A Proliferação de plasmócitos reativos representa um processo inflamatório e raramente, é confundido, com um processo neoplásico, de uma massa cutânea. Contudo, quando a plasmocitose é identificada na medula óssea, há que distinguir processos reativos de neoplásicos (Friedrichs & Young, 2013).

O tratamento envolve uma ampla excisão cirúrgica. A transição de plasmocitoma extramedular, para mieloma, foi escassamente documentada, quer no cão quer no gato. (Raskin, 2010).

O diagnóstico citológico, dos plasmocitomas pouco diferenciados, é difícil de efetuar, sendo necessário realizar o exame histopatológico com recurso à coloração imuno-histoquímica (Whitney & Berent, 2009).

1.1.8.6 Tumor Venéreo Transmissível

Foi o primeiro processo neoplásico descrito como transmissível. É maioritariamente observado, em cães jovens, sexualmente ativos. As lesões geralmente estão localizadas na genitália externa, ou na área oronasal, são mal delimitadas, ulceradas e hemorrágicas. É comum ocorrer infecção bacteriana superficial secundária. Estas lesões podem regredir espontaneamente (DeNicola, 2014).

As células presentes neste tumor são arredondadas, com citoplasma abundante, ligeiramente basofílico e um núcleo bem centralizado. A característica distintiva desta neoplasia é a presença de diversos vacúolos citoplasmáticos redondos de cor clara (Barger&MacNeill, 2017). Estes vacúolos também podem ser observados extracelularmente, aparecendo como áreas claras contra um fundo proteico de fluído tecidual. Os núcleos possuem moderada a marcada anisocariose, e tem um padrão de cromatina nuclear bastante denso. Os nucléolos podem ser proeminentes e figuras mitóticas atípicas são comuns. Além das células neoplásicas, podem estar presentes linfócitos pequenos, alguns plasmócitos bem diferenciados, e raramente, histiócitos ou macrófagos. Estas células tendem a aumentar de número, durante a regressão espontânea do processo neoplásico, secundária a uma resposta imune localizada (DeNicola, 2014).

1.1.9 Tumores de Origem Epitelial

Os tumores derivados do tecido epitelial constituem a maior categoria de neoplasias, incluem tumores epiteliais superficiais, como os da pele, das vias respiratórias, gastrointestinais e urogenitais bem como tumores glandulares e viscerais. Dado a sua origem diversa, a aparência citomorfológica destas neoplasias pode ser altamente variável, no entanto, algumas características são comuns à maioria dos tumores epiteliais (Friedrichs & Young, 2013).

As células epiteliais possuem junções intercelulares que as conectam entre si e não possuem matriz extracelular, permitindo assim que estas esfoliem bem. Podem

assumir formas redondas, cubóides, colunares ou poligonais e contém uma quantidade variável de citoplasma, resultando em amostras citológicas altamente celulares, dispostas em *clusters* (figura 17).

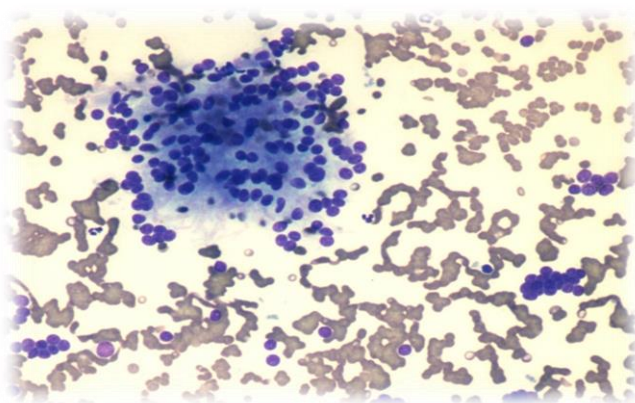


Figura 17 - Células epiteliais neuroendócrinas, obtidas por PAAF, coloração Diff-Quik, 400x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Os bordos citoplasmáticos de células individuais são geralmente bem distintos, o que pode variar em determinados tipos de tumores (Friedrichs & Young, 2013).

Os tumores epiteliais mal diferenciados têm poucas características que os identifiquem. Tendem a ter uma relação N:C moderada, a elevada e citoplasma basofílico. Em alguns casos, as células perdem as junções intercelulares e surgem como células redondas. A determinação do tecido de origem, nestes casos, é difícil e a avaliação histológica, com ou sem análise imunohistoquímica, torna-se fulcral para definir o tipo específico de tumor em causa (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.9.1 Tumores neuroendócrinos e de células endócrinas

Os tumores endócrinos e neuroendócrinos compreendem uma vasta categoria de tipos tumorais. Se a localização primária do tumor for desconhecida, o tipo específico de tumor pode ser impossível de determinar, devido à similaridade citológica, que existe entre estes tumores (Friedrichs & Young, 2013).

O sistema endócrino é constituído pela tiróide, paratiróide, córtex adrenal e células das ilhotas pancreáticas. Estas glândulas estão associadas a células parenquimatosas, secretoras que produzem hormonas. Incluem-se ainda as células paraganglionares, que são células neuroendócrinas, que sintetizam e secretam catecolaminas e outros péptidos reguladores (Alleman & Choi, 2010).

Em geral os aspirados destes tipos tumorais são bastante celulares, consistem em conjuntos de células com perda de coesão, apresentam-se como aglomerados de células

epiteliais com junções intercelulares e bordos citoplasmáticos mal definidos (Friedrichs & Young, 2013). Podem ser observados numerosos núcleos livres (figura 18), provenientes de células roturadas. Os núcleos de células intatas podem estar dispostos em roseta, que sugere formação acinar. Nas células intatas, os núcleos são redondos com localização central e cromatina reticular. Os nucléolos são frequentemente indistintos, mas, podem ser observados entre um a dois. O citoplasma pode conter alguns vacúolos claros e distintos (Friedrichs & Young, 2013).

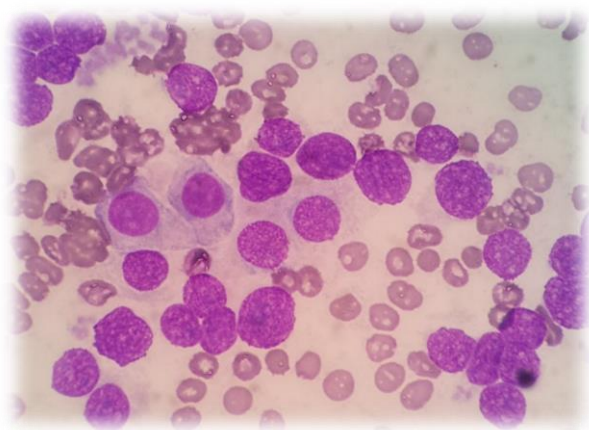


Figura 18 - Núcleos livres. Imagem citológica obtida por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Existem habitualmente poucos critérios de malignidade. A anisocitose e anisocariose são ligeiras, a moderadas. Ocasionalmente estão presentes nucléolos de grandes dimensões assim como figuras mitóticas. Alguns tumores de origem endócrina são biologicamente ativos e o tipo de tumor pode ser identificado com base na apresentação clínica, e nos achados laboratoriais (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.9.2 Neoplasias sebáceas

As lesões constituídas por células epiteliais sebáceas são, maioritariamente benignas em cães e gatos. A hiperplasia e o adenoma sebáceo, não se podem distinguir citologicamente. São compostos por aglomerados de células redondas, com abundante citoplasma basofílico, muito vacuolizado, e um pequeno núcleo redondo com cromatina condensada. As células sebáceas epiteliais tendem a estar dispostas em densos aglomerados. Os carcinomas sebáceos são raros em cães e gatos e tipicamente têm várias características de malignidade (Bain *et al.*, 2017).

Adenocarcinomas sebáceos são raros e apresentam frequentemente vários critérios de malignidade como anisocitose e anisocariose aumentadas, elevadas N:C,

células multinucleadas e nucléolos proeminentes. Podem ser observados alguns vacúolos lipídicos no citoplasma (Bain *et al.*, 2017).

1.1.9.3 Neoplasia das glândulas perianais

A área perianal dos cães contém, várias glândulas e estruturas, a partir das quais os tumores se podem desenvolver.

As glândulas perianais estão localizadas na derme, de forma circular, ao redor do ânus, encontram-se também em zonas como o prepúcio, cauda, membros pélvicos e tronco. Estas são comumente designadas glândulas hepatóides, devido à sua semelhança morfológica para com os hepatócitos. São consideradas glândulas sebáceas não secretoras no cão adulto (Liptak & Withrow., 2013).

Os adenomas das glândulas perianais representam a maioria dos tumores perianais caninos (58% a 96%), o desenvolvimentos e progressão destes tumores benignos, sugerem hormonodependência, revelam um crescimento estimulado pelos androgénios e suprimido pelos estrogénios. Cães mais velhos, e não castrados, têm maior predisposição. Nas fêmeas é quase exclusivo nas ovariectomizadas, que produzem menos estrogénios, não suprimindo assim o crescimento do tumor (Liptak & Withrow, 2013).

Os aspirados destas lesões são altamente celulares, caracterizam-se por aglomerados de células grandes, com forma ovóide a cubóide, núcleos excêntricos com forma arredondada, o citoplasma é abundante, granular e de cor rosada. Pode-se observar um pleomorfismo muito discreto, embora algumas células possam estar mais agregadas, com citoplasma mais basofílico e uma elevada razão N:C. Estas lesões podem sofrer inflamação secundária, ou possuir áreas de necrose e formação quística. Este tipo de neoplasias é tipicamente benigno, contudo, a citomorfologia não está completamente bem correlacionada com o comportamento clínico, requerendo sempre análise histopatológica para um diagnóstico definitivo (Fisher, 2014).

O adenocarcinoma perianal é pouco frequente, tende a revelar critérios de malignidade mais notáveis, embora alguns possam parecer bem diferenciados e dificilmente distinguíveis de um adenoma, apenas com base no exame citológico (Dunn, 2014).

Como os gatos não possuem glândulas análogas às glândulas sebáceas perianais do cão, o adenoma e o adenocarcinoma perianal, é pouco reconhecido nesta espécie. (Turek & Withrow, 2013).

1.1.9.4 Neoplasia dos sacos anais

Os sacos anais são divertículos cutâneos cegos, localizados na região perianal ventrolateral, no tecido conjuntivo que circunda esses divertículos, existem glândulas sudoríparas apócrinas, que libertam secreções para o lúmen destes sacos. Este tumor pode ser encontrado na área perianal, mas ocorre principalmente na região dos sacos anais, ventrolaterais ao ânus. Geralmente são adenocarcinomas. Possuem maior incidência em cães mais velhos e é muito raro em gatos (Fisher, 2014).

Os adenocarcinomas dos sacos anais surgem a partir das glândulas das paredes dos sacos anais. Ocorrem especialmente em fêmeas, de idade mais avançada. São malignos, e tendem a já estar metastizados, no momento em que são diagnosticados. Por esta razão torna-se importante que sejam diferenciados dos adenomas perianais (Dunn, 2014).

O adenocarcinoma das glândulas apócrinas dos sacos anais ocorre com pouca frequência, representando 17% das afeções perianais e 2% dos tumores epiteliais e subcutâneos (Turek & Withrow, 2013).

Embora estes geralmente não exibam um pleomorfismo proeminente; as células são geralmente encontradas em *clusters*, podem também, ser observadas células individualizadas e núcleos livres. Estas células possuem um tamanho moderado, núcleo redondo, moderada a abundante quantidade de citoplasma claro. Quando se encontram em *clusters*, os bordos citoplasmáticos podem ser irregulares, mas, quando se encontram individualmente, tendem a ter uma forma arredondada. A cromatina é geralmente pontilhada e pequenos núcleos indistintos podem estar presentes (Fisher, 2014).

1.1.9.5 Tumores dos folículos pilosos

Estes tumores benignos são mais comuns, em cães com mais idade. Estas massas podem ser únicas ou múltiplas, apresentam uma consistência firme, com relevo, ausência de pelos, são bem circunscritas e podem ulcerar (Raskin, 2010).

Os quistos epidermais ou foliculares (figura 19), também designados por quistos de inclusão epidérmica, ou quistos epidermóides, são encontrados num terço, ou em metade das lesões não neoplásicas, e não inflamatórias, removidas em cães e gatos, respetivamente. Ocorrem com maior frequência em cães de meia-idade, a mais idosos. Os quistos podem ser únicos ou múltiplos, firmes ou móveis, arredondados, bem circunscritos, e com uma consistência suave (Raskin, 2010).

Citologicamente podemos observar detritos de queratinócitos e epitélio germinativo em menor quantidade, sugerindo a presença de células basais.

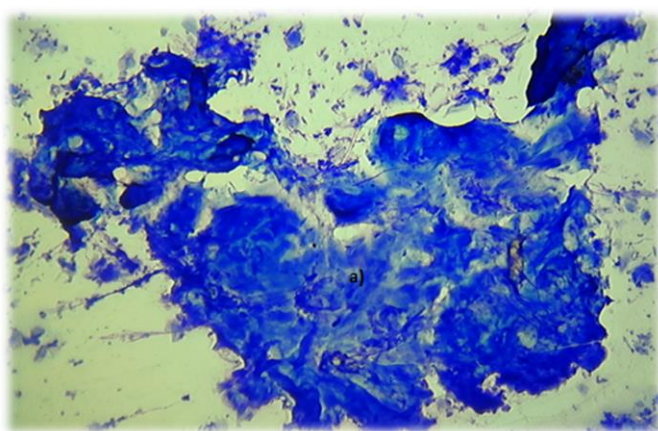


Figura 19 - Imagem citológica de um quisto epidermal/folicular. Citologia de nódulo por PAAF, coloração Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pelo LACH, FMV-ULHT

Histologicamente, a extensa queratinização do epitélio basal formando quistos em forma de cone, ajuda a distinguir estes tumores dos tumores de células basais com diferenciação folicular (Raskin, 2010).

Acredita-se que a sua origem está relacionada com trauma por fricção, levando à obstrução dos óstios foliculares que se encontram sob pontos de pressão (Raskin, 2010).

1.1.9.6 Tricoepitelioma

Tricoepiteliomas são tumores benignos, que demonstram diferenciação em todos os segmentos do folículo piloso. São pouco comuns em cães e gatos (Hauck, 2013). Num estudo retrospectivo, nos cães, os locais mais acometidos são os membros, pescoço e a zona dorsal (Abramo *et al.*, 1999).

Os tricoepiteliomas são de origem dérmica, mas, podem-se estender até ao tecido subcutâneo. A sua superfície pode ser alopecica ou ulcerada. A excisão cirúrgica é o melhor tratamento, exceto nos casos com apresentação multicêntrica (Hauck, 2013).

O tricoepitelioma maligno é diferenciado com base na invasão dos tecidos adjacentes, e envolvimento linfático. É também conhecido como carcinoma matricial. O índice mitótico é geralmente muito elevado na forma maligna, quando comparada com a benigna. A natureza localmente invasiva de alguns tricoepiteliomas também podem representar uma característica de malignidade (Hauck, 2013).

1.1.9.7 Carcinoma das células escamosas

O carcinoma das células escamosas (CCE) é a segunda neoplasia oral mais comum em cães, e a neoplasia oral mais comum em gatos (Camus, 2017).

As células epiteliais escamosas revestem a maioria da superfície da mucosa oral, incluindo as amígdalas. As células escamosas neoplásicas exibem tipicamente numerosos critérios de malignidade e uma N:C aumentada. As células escamosas amadurecem, perdem os núcleos com o processo de queratinização, e quando completamente queratinizadas coram de azul claro através da coloração de Romanowsky; a presença de um nucléolo, numa célula queratinizada, é indicativo de assincronia nuclear, de acordo com a maturação citoplasmática, que é frequentemente associada a um processo neoplásico (Camus, 2017).

As células escamosas neoplásicas contêm frequentemente, numerosos vacúolos, que podem formar agregados, que se assemelham a uma “barba” ao redor de um polo nuclear. Formas celulares bizarras, incluindo células redondas, angulares e em forma de “girino” são comumente observadas. O diagnóstico citológico de neoplasia pode ser complicado pelo fato de que a queratina intralesional frequentemente remete para uma resposta inflamatória neutrofílica marcada, que pode ser caracterizada erradamente como alteração displásica em vez de neoplásica (Camus, 2017).

1.1.9.8 Epúlides/Ameloblastoma

Termo inespecífico, utilizado para se referir a um crescimento de gengiva. As epúlides surgem do ligamento periodontal, e não são facilmente distinguidas citologicamente da hiperplasia gengival (Camus, 2017).

Existem quatro tipos de epúlides: acantomatosa, fibromatosa, de células gigantes e ossificante. Algumas destas lesões contêm células inflamatórias e/ou osteoclastos,

dificultando a interpretação das mesmas. Atualmente a classificação destes tumores foi simplificada; epúlides acantomatosas são designadas por ameoblastomas acantomatosos, enquanto todos os outros subtipos são denominados por fibromas odontogénicos periféricos (Camus, 2017).

Como as células epiteliais cobrem a gengiva mesenquimal, células de morfologia mista podem ser frequentemente observadas. O exame histológico é necessário para caracterizar e classificar estas lesões. Embora exibam um comportamento benigno, os ameloblastomas acantomatosos são muitas vezes localmente agressivos e invadem o tecido ósseo subjacente, da maxila ou da mandíbula. Não há relato de metástases à distância, pelo que o tratamento local é efetivo (Camus, 2017).

1.1.9.9 Neoplasias testiculares

O aumento testicular uni ou bilateral, é a principal indicação para efetuar PAAF e avaliação citológica, para poder diferenciar situações neoplásicas, de inflamatórias.

A PAAF de testículos atroficos, geralmente, não produz uma amostra adequada, para proceder ao exame citológico, tornando a biópsia para exame histopatológico necessária para um diagnóstico fidedigno.

Os três principais tumores testiculares em canídeos são; tumores das células de Sertoli, seminomas e tumores das células intersticiais (das células de Leydig). Estes podem ocorrer em animais castrados, ou não; em animais castrados, podem-se localizar no escroto ou no local da incisão pré-escrotal, neste caso, pensa-se que provenha de tecido testicular remanescente, ectópico, embriológico ou por trauma tecidual durante a castração (Vabornik & Nabity, 2014).

Estes tumores podem ser difíceis de diferenciar citologicamente, apesar de uma especificidade de 100% já ter sido relatada num estudo (Masserdotti *et al.*, 2005). Quando acompanhado da história clínica, geralmente torna-se possível efetuar um diagnóstico. A diferenciação de neoplasias testiculares, de inflamação, é relativamente simples. Os tumores testiculares são raros em gatos e não é incomum haver mais que um tipo de tumor testicular, num mesmo animal (Vabornik & Nabity, 2014).

Tumores das células de Sertoli ocorrem mais em cães de idade avançada ou em testículos criptorquídeos. Cerca de um terço destes tumores estão associados a um excesso de produção de estrogénios. Os sinais de feminização associados a este

processos são alopecia simétrica bilateral, hiperpigmentação, prepúcio pendular, galactorreia, atrofia peniana, metaplasia escamosa da próstata e supressão da medula óssea. Esta síndrome de feminização leva à atrofia do testículo contralateral (Solano-Gallego, 2010).

Em gatos não foram descritos tumores das células de Sertoli. Citologicamente são caracterizados por um número variável de células pleomórficas, os aspirados consistem em células com forma redonda a colunar, que estão presentes individualmente, ou em arranjos empilhadas. Estas células podem ter um tamanho e quantidade de citoplasma variável. O citoplasma é ligeiramente basofílico e contém frequentemente alguns vacúolos claros, de tamanho irregular. Os núcleos são predominantemente redondos, e exibem um padrão de cromatina pouco denso e reticulado, com um a três nucléolos redondos e proeminentes, podem-se observar figuras mitóticas (Vabornik & Nabity, 2014).

Os seminomas têm origem na transformação neoplásica, de células testiculares germinativas. Geralmente, não revelam sinais clínicos (síndrome de feminização), exceto, quando temos um tumor das células de Sertoli coexistente, que é de ocorrência moderadamente comum. O criptorquismo é um dos fatores de pré-disposição relevante. A principal característica dos seminomas é o aumento testicular, que geralmente é unilateral, podendo ocasionalmente ser bilateral (Vabornik & Nabity, 2014). Em 6% a 11% dos casos de seminomas, ocorre metastização para linfonodos inguinais, ilíacos e sublobares; os pulmões e órgãos abdominais também podem ser acometidos. A distinção entre seminomas e outros tumores testiculares pode ser difícil.

As preparações citológicas muitas vezes contém um grande número de células e núcleos que sofreram lise (England & Friedrichs, 2014). Quando estas preparações facultam, uma boa amostragem celular, verifica-se, que estas células tem uma forma redonda com uma quantidade moderada de citoplasma, ligeiramente basofílico. Os núcleos são grandes e redondos com nucléolos proeminentes, a multinucleação é comum e figuras mitóticas são frequentes. A presença de um fundo granuloso e eosinofílico, infiltrado linfocitário e mitoses atípicas, são características diagnósticas comumente observadas em seminomas (Vabornik & Nabity 2014).

Os tumores de células intersticiais, ou de Leydig, são um tipo de tumor que geralmente não manifesta sinais clínicos. As preparações citológicas possuem celularidade variável, as células variam de tamanho e a sua forma pode ser redonda a fusiforme, o citoplasma é geralmente abundante e basofílico. Os arranjos celulares

envolvem frequentemente um padrão perivascular, que é uma característica típica e auxiliar no diagnóstico deste tipo de neoplasia (Vabornik & Nabity 2014). Ao contrário dos tumores das células de Sertoli, os tumores de células intersticiais possuem células com muitos vacúolos (microvacúolos) ponteados que também estão frequentemente presentes no fundo devido à rotura das células. Podem ser observados pequenos grânulos azulados ou pretos em algumas células. A razão N:C é geralmente baixa. Os núcleos são pequenos a médios, com cromatina reticular fina e pequenos nucléolos evidentes. Pseudo-inclusões nucleares que aparecem como vacúolos podem ser identificadas, e consideradas uma característica citológica distintiva (Vabornik & Nabity 2014).

1.1.9.10 Timoma

É um dos tumores mais comuns do mediastino cranial, sendo que o linfoma é o principal. Não é muito frequente em cães e gatos. Pode ocorrer em qualquer idade, mas afeta maioritariamente animais mais velhos. A idade média ronda os 9 e os 10 anos, em cães e gatos respetivamente. Não foram descritos fatores de risco nem predisposição de raça ou de género (Souza, 2013).

Esta neoplasia acomete células epiteliais do timo. Pode ser benigno, maligno, invasivo ou não invasivo. Pode ser observado um número moderado de mastócitos bem diferenciados, que é útil para suportar o diagnóstico de timoma, se uma massa mediastínica cranial for evidente. É pouco comum que o componente neoplásico epitelial esfolie, e se este estiver presente, pode ser difícil diferencia-lo das células mesoteliais. As células epiteliais neoplásicas têm bordos geralmente mal definidos, encontram-se em agregados e em camadas, os núcleos são centrais e redondos e os nucléolos indistintos (Souza, 2013). Focos de material extracelular rosado, também podem estar presentes nos aspirados de timomas (Grimes *et al.*, 2014).

As células apresentam sempre algum pleomorfismo. É geralmente necessário colheita aspirativa, ou, biópsia tecidual para histopatologia, ou ambas, para se poder emitir um diagnóstico definitivo de timoma e descartar o diagnóstico de linfoma tímico (Souza, 2013).

A maioria dos linfócitos nos timomas são linfócitos CD4⁺ CD8⁺ bem diferenciados e pequenos, número relativamente menor de linfócitos maiores também pode estar presente. A imunofenotipagem por citometria de fluxo tem sido utilizada para

discriminar timomas, de outras lesões, em aspirados de lesões mediastínicas ricas em linfócitos (Grimes *et al.*, 2014).

A classificação desta neoplasia quanto à malignidade, de acordo com o tipo de células presentes, é mais fidedigna através da histopatologia (Grimes *et al.*, 2014).

1.1.9.11 Neoplasias da glândula mamária

O principal objetivo do exame citológico das lesões mamárias é diferenciar lesões inflamatórias primárias, de hiperplasias benignas ou neoplásicas, de tumores malignos. Em relação ao prognóstico e tratamento, o meio mais fiável que permite avaliar o grau de malignidade, são as evidências clínicas e histológicas, no que diz respeito à infiltração tumoral no tecido circundante, vasos ou presença de metástases (Mischke, 2014).

As lesões das glândulas mamárias representam um desafio devido à diversidade celular que pode estar envolvida, assim como, as populações celulares que se podem encontrar sobrepostas em lesões hiperplásicas, displásicas, benignas ou malignas. A exatidão diagnóstica da diferenciação de neoplasias mamárias malignas em cães varia entre 33% e 93%. Uma elevada taxa de falsos negativos em casos de malignidade podem estar ligados a vários fatores (Allison, 2014).

As neoplasias da glândula mamária podem ser diagnosticadas, com base em evidências histopatológicas, no que respeita ao grau de invasão tecidual, independentemente da atipia celular, não sendo portanto incomum, que, amostras citológicas dos mesmos tumores possam induzir em erro. Por outro lado, alguns tumores encapsulados, que possuem áreas de pleomorfismo celular significativo, podem ser considerados benignos na histopatologia, com base na ausência de invasão tecidual, mas as amostras citológicas destes mesmos tumores, podem sugerir um falso processo neoplásico maligno (Allison, 2014).

Deste modo, o uso da citologia, na avaliação de neoplasias mamárias, pode ser ineficiente e emitir diagnósticos definitivos nem sempre é possível. Algumas dificuldades estão relacionadas com a natureza da neoplasia mamária, devido à considerável heterogeneidade do tecido presente nestes tumores. Devem ser colhidas várias amostras, de diferentes áreas, dentro da mesma lesão. Quando acompanhado da história clínica, o exame citológico do tecido mamário pode ser útil para diferenciar neoplasias de lesões quísticas ou de mastites (Solano-Gallego, 2010).

Alguns estudos compararam a avaliação citológica de neoplasias mamárias com a respetiva análise histológica e em nenhum caso foi possível, através da citologia, reportar o comportamento biológico infiltrativo, e portanto, o potencial maligno da lesão em causa. A presença de invasão do estroma é um dos critérios mais importantes, para determinação do potencial maligno de uma neoplasia mamária. O que não é possível avaliar por exame citológico. Estes fatores contribuem para um diagnóstico falso-positivo ou falso-negativo quando se recorre apenas à citologia aspirativa (Solano-Gallego, 2010).

A citologia da glândula mamária é um bom exemplo das limitações da citologia em determinados tecidos. Num estudo prospetivo 50% das lesões mamárias, discordaram citologicamente do diagnóstico histopatológico (Sharkey *et al.*, 2007).

Por outro lado, estudos mais recentes revelam uma maior precisão, no diagnóstico de tumores mamários por citologia, quando comparados ao diagnóstico histopatológico. Serve de exemplo um estudo que obteve uma concordância de 93% na diferenciação entre tumores benignos e malignos, e 81% de concordância na determinação do tipo específico de tumor. Além disto, a sensibilidade e especificidade, relativa ao diagnóstico de malignidade, revelaram valores de 86% e 96%, respetivamente (Simon *et al.*, 2009).

Nas mulheres a avaliação citológica pré-operatória de tumores mamários é utilizada para avaliar a presença de critérios de malignidade, e é considerada uma alternativa às biópsias cirúrgicas. Em várias investigações, foram obtidos valores de sensibilidade e especificidade superiores a 95% comparativamente à histopatologia (Simon *et al.*, 2009).

1.1.10 Tumores de Origem Mesenquimatosa

Os tumores mesenquimatosos formam, de longe, o maior grupo de tumores não-hematopoéticos. Mais de 90% destes são malignos sendo os lipomas, os tumores das paredes perivasculares e os hemangiossarcomas os mais comuns (Dunn, 2014).

Os condrossarcomas, particularmente, têm mais incidência em cães jovens de porte médio/grande (Burkhard & Millward, 2010 & Dunn, 2014).

As células mesenquimatosas são responsáveis pela estrutura e suporte de todos os tecidos. Possuem uma matriz coesa, que torna mais difícil a aspiração dos tecidos, resultando em amostras citológicas tipicamente mais pobres (Barger *et al.*, 2017). As células têm um formato tipicamente oval, fusiforme ou estrelado, com bordos

citoplasmáticos mal definidos, os núcleos são redondos, ovais ou alongados, a cromatina é rendilhada, à medida que o potencial de malignidade aumenta, esta torna-se mais densa e os nucléolos mais proeminentes (Friedrichs & Young, 2013 & Dunn, 2014).

Alguns tumores mesenquimatosos não possuem outras características distintivas, sendo importante ter conhecimento da localização e de outras informações clínicas, para efetuar uma lista de diagnósticos diferenciais. O diagnóstico definitivo é baseado no exame histológico e/ou na coloração imunohistoquímica (Friedrichs & Young, 2013).

Células mesenquimatosas reativas, ou hiperplásicas, presentes em lesões inflamatórias e neoplásicas, dificultam a emissão de um diagnóstico fidedigno, devido aos critérios semelhantes de malignidade entre estas. Quando uma amostra é composta por uma população de células heterogénea, há que ter precaução ao emitir um diagnóstico citológico definitivo de um tumor mesenquimatoso; principalmente quando temos uma inflamação neutrofílica concomitante. Devem ser tomadas medidas adicionais de diagnóstico (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.10.1 Tumores da parede perivascular

Os tumores perivasculares, ou da parede perivascular, são definidos, tal como o nome indica, como neoplasias provenientes dos diferentes componentes da parede perivascular, com exceção do revestimento endotelial (Avallone *et al.*, 2007).

Os sarcomas de tecidos moles são um grupo heterogéneo de tumores que compreendem várias entidades neoplásicas, caracterizadas por baixo potencial metastático e uma taxa de recorrência variável, após excisão cirúrgica. Os tumores perivasculares são neoplasias mesenquimatosas, do grupo dos sarcomas de tecidos moles, e foram previamente incluídos sob o termo hemangiopericitoma. Um estudo de casos diagnosticados como hemangiopericitomas, com base em características histológicas específicas, demonstrou origem perivascular da maioria dos tumores, excluindo o diagnóstico de tumores da bainha dos nervos periféricos, e de outros tipos de tumores fusiformes de acordo com o fenótipo e a morfologia (Avallone *et al.*, 2014).

Os tumores das paredes perivasculares foram subclassificados em hemangiopericitomas, miopericitomas, angioleiomiomas/sarcomas, angiofibromas e tumores da adventícia (Avallone *et al.*, 2014).

Os Tumores da parede perivascular como o hemangiopericitoma, e o miopericitoma, derivam de células localizadas nas paredes dos vasos sanguíneos, adjacentes ao endotélio, os pericitos e os miopericitos, respetivamente. Estas neoplasias têm predisposição para as articulações e membros, porém, podem ser encontradas também no tórax e abdómen. São massas de consistência firme ou mole, multilobadas e geralmente bem delimitadas.

As preparações citológicas vão de moderada a altamente celulares. As células fusiformes podem surgir individualizadas ou em feixes (figura 20 e 21), por vezes estão aderentes à superfície dos capilares. Os núcleos são ovóides, com um ou mais nucléolos centrais proeminentes. Podem ocasionalmente, ser observadas, células multinucleadas. Associado às células, podemos ter um presente um estroma de colagénio amorfo, de cor rosada. O citoplasma é basofílico e possui frequentemente vários vacúolos de pequenas dimensões e ocasionais grânulos eosinofílicos (Raskin, 2010).

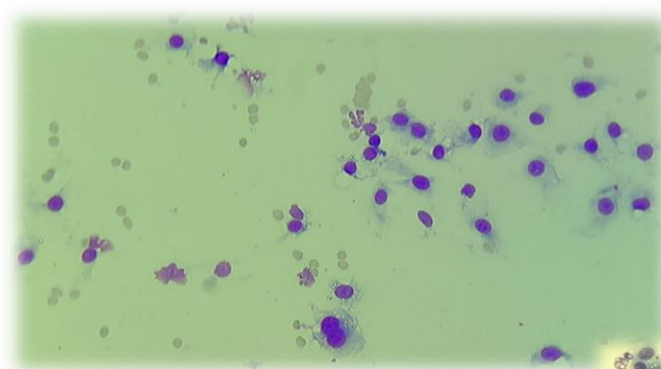


Figura 20 - Células mesenquimatosas isoladas de PAAF, de neoplasia perivascular, corada por Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pela LACH, FMV-ULHT

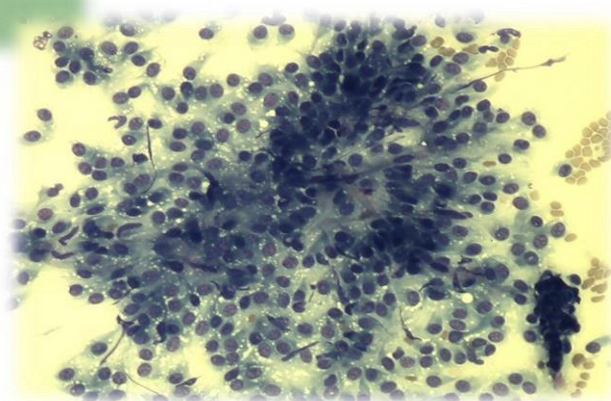


Figura 21 - Citologia de Neoplasia Perivascular, obtida por PAAF, corada por Diff-Quik, 1000x. Gentilmente cedida pela LACH, FMV-ULHT

1.1.10.2 Hemangiossarcoma

Este tipo de tumor é difícil de diagnosticar, com base apenas citológica; a aspiração geralmente apresenta muita contaminação hemática e pouca celularidade, embora algumas formas destes tumores esfoliem bem, revelando boa celularidade.

As células tumorais podem aparecer individualmente, ou em camadas, têm habitualmente uma aparência pleomórfica, quanto à forma, são usualmente irregulares a fusiformes. Tal como noutras células fusiformes, interpretá-las com base apenas no exame citológico é muito difícil. Os achados citológicos também podem incluir macrófagos com eritrofagocitose, tal como hematopoiese extramedular (Fisher, 2014).

Os hemangiossarcomas podem ser reconhecidos através da citologia por aposição e por aspiração, mas as amostras colhidas por raspagem de superfícies de tecidos, facultam frequentemente uma amostra de qualidade superior (Jong-Hyuk *et al.*, 2015).

Histologicamente, os estes são celulares, com moderadas a extensas áreas hemorrágicas e necróticas. Morfologicamente, podem ter um aspeto capilar, cavernoso, ou sólido, as células malignas podem ser altamente pleomórficas, com características semelhantes às de outros sarcomas. A principal distinção é que as células tumorais são observadas nos bordos irregulares dos espaços vasculares (capilares ou sinusóides), preenchidos de sangue (Jong-Hyuk *et al.*, 2015).

1.1.10.3 Lipoma

Representa cerca de 8% dos tumores mesenquimatosos que acometem a pele, é de crescimento benigno, afeta mais cadelas, de idade avançada e obesas e está presente em 6% dos gatos. O tumor pode ser único ou múltiplo, ocorrendo principalmente no tronco e membros proximais. Pode crescer lentamente, atingindo grandes dimensões; alguns podem mesmo infiltrar a camada muscular (Raskin, 2010).

Os lipomas são os tumores mesenquimatosos subcutâneos, mais comuns, em cães e gatos, embora menos comuns nestes últimos. Os adipócitos destas lesões são citologicamente idênticos aos adipócitos normais, presentes na gordura subcutânea, não podendo ser distinguidos dos mesmos e, portanto, nunca devemos descartar a possibilidade de contaminação com gordura de tecido subcutâneo normal, adjacente à massa em estudo (Fisher, 2014).

Um diagnóstico de lipoma é suportado quando estamos perante uma massa subcutânea, de dimensão considerável, consistência mole e móvel e uma amostra citológica, que, quando colocada na lâmina de vidro, macroscopicamente, percebe-se logo o seu aspeto gorduroso. Estas amostras são geralmente acelulares quando observadas

após a fixação em metanol, durante o processo de coloração. Quando os adipócitos provenientes da lesão permanecem na lâmina, aparecem como pequenos agregados de células com vacúolos grandes e transparentes. Os vacúolos causam uma acentuada distensão do citoplasma, que é basofílico e empurram o pequeno núcleo oval para a periferia da célula (Bain *et al.*, 2017).

1.1.10.4 Lipossarcoma

Os lipossarcomas são tumores de células do tecido adiposo, estas possuem um citoplasma marcadamente basofílico, um núcleo de grandes dimensões, ovóide e muitos vacúolos (Bain *et al.*, 2017).

É um tumor maligno e pouco comum, origina-se a partir dos lipoblastos, em cães mais velhos (Liptak & Forrest, 2013).

Aparentemente, estes não surgem da transformação maligna de lipomas. Não são conhecidas as causas específicas, mas, o lipossarcoma associado a um corpo estranho já foi relatado num cão. Não existe predisposição de raça ou de género. São habitualmente relatados no espaço subcutâneo, especialmente ao longo do ventre e extremidades, podem ocorrer também, noutros locais primários, como o osso e a cavidade abdominal (Liptak & Forrest, 2013).

Estas neoplasias distinguem-se dos lipomas, com base na aparência e nas características citológicas. Macroscopicamente são geralmente firmes e mal delimitados, localmente invasivos e têm baixo potencial metastático. Quando metastizam, é habitualmente para o pulmão, fígado, baço e osso. O prognóstico é bom, após a excisão cirúrgica adequada (Liptak & Forrest, 2013).

Histologicamente classificam-se como lipossarcomas bem diferenciados, mixóides, de células arredondadas ou pouco diferenciados, pleomórficos, ou não diferenciados.

1.1.10.5 Osteossarcoma

É um tumor mesenquimatoso maligno que acomete os osteoblastos, é o tumor ósseo primário, mais comum em cães, representa mais de 85% das patologias com origem

no esqueleto. Afeta principalmente os cães de meia-idade e idosos, de raças de grande porte. A sua etiologia é ainda desconhecida.

Esta proliferação maligna de osteoblastos está muitas vezes, associada à proliferação óssea concomitante. Muitas amostras citológicas revelam, uma mistura de osteoblastos neoplásicos e outros reativos, a distinção entre os dois, a nível citológico, não é muito clara. Além disto, a diferenciação dos osteossarcomas de outros sarcomas, baseada unicamente na citologia é tipicamente “desafiadora”.

Os osteoblastos neoplásicos podem apresentar várias formas atípicas. As células podem ter uma forma arredondada a fusiforme, e uma quantidade variável de citoplasma basofílico. Estas podem conter alguns grânulos citoplasmáticos arredondados, de tamanho variável. Espera-se, que estas células apresentem, diferentes graus de anisocitose, anisocariose e nucléolos de diferentes tamanhos. Podem estar associadas a uma quantidade de matriz extracelular variável, embora este não seja um critério de malignidade. Pode também, ser observado em tecido ósseo reativo. Os núcleos são redondos a ovais e a cromatina pode variar de fina a condensada, mesmo dentro da mesma amostra. Os nucléolos são maioritariamente proeminentes, múltiplos e podem variar consideravelmente de tamanho e forma.

1.1.10.6 Condrossarcoma

É caraterizado por uma proliferação maligna dos condroblastos e é citologicamente semelhante ao osteossarcoma. Estão associados a uma grande quantidade de matriz extracelular pontilhada e eosinofílica (condróide) que preenche o fundo da amostra (Schnelle, 2017).

A etiologia é geralmente desconhecida, embora possa surgir em cães com exostose cartilaginosa múltipla preexistente. O condrossarcoma pode ter origem na cavidade nasal, costelas, ossos longos, pélvis e outros locais distintos como a glândula mamária, válvulas cardíacas, artéria aorta, laringe, traqueia, pulmão, omento, vértebras, ossos faciais, dígitos e pénis.

Uma caraterística citológica útil nos condrossarcomas, que pode ser evidente, é a presença de condróide, que se pode observar como manchas de material cor-de-rosa brilhante, liso, ou ligeiramente granulado, no qual, as células podem aparecer incorporadas. Embora a presença deste material sugira a possibilidade de uma origem

cartilaginosa do tumor não é um achado consistente nos aspirados de condrossarcomas. Os condroblastos destas neoplasias apresentam características citológicas, semelhantes às dos osteoblastos malignos. Estes variam de redondos a fusiformes, com grandes núcleos e citoplasma azul-escuro, possuem anisocariose marcada e podem ser observadas células tumorais multinucleadas. O citoplasma geralmente contém muitos vacúolos, de pequenas dimensões, e as células podem, ocasionalmente, conter pequenos grânulos citoplasmáticos semelhantes aos dos osteossarcomas. Se o tumor estiver a causar lise óssea, podem surgir osteoclastos nas amostras citológicas (Fielder, 2014).

Histologicamente é caracterizado por células cartilaginosas anaplásicas que formam uma matriz cartilágnea. Existe um grau de diferenciação e maturação das células entre cada tumor (Ehrhart *et al.*, 2013).

1.1.10.7 Fibrossarcoma

O fibrossarcoma primário é um tumor raro em cães, representa menos de 5% dos tumores ósseos primários (Ehrhart *et al.*, 2013).

Tal como outros tumores mesenquimatosos, estes geralmente esfoliam pouco, resultando em amostras citológicas de fraca celularidade, sendo o exame histológico necessário para um diagnóstico definitivo. Quando temos uma amostra citológica provida de células, estas caracterizam-se por um citoplasma escasso, bordos celulares indistintos, anisocariose marcada e N:C variável. Os núcleos são maioritariamente ovóides com um padrão de cromatina condensado.

Histologicamente é descrito como uma massa infiltrativa, mal delimitada, de feixes entrelaçados de células fusiformes, frequentemente pleomórficas (fibroblastos) formando correntes em forma de espirais, no interior de uma matriz de colagénio. A ressecção cirúrgica completa, da lesão primária, é recomendada em cães, com fibrossarcoma clinicamente confinado ao local primário. Este tratamento pode ser efetivo, mas o potencial metastático é sempre considerável (Ehrhart *et al.*, 2013).

Foi postulado que o fibrossarcoma ósseo primário tem uma grande propensão para metastizar para locais como o coração, pericárdio, pele e ossos, o mesmo não se verifica para o pulmão (Ehrhart *et al.*, 2013).

2 - Material e Métodos

No presente estudo retrospectivo, as amostras citológicas e histológicas foram obtidas, a partir de animais, que se apresentaram a consulta, no Hospital da FMV-ULHT, entre 2016 e 2018. Neste período foram enviadas várias amostras citológicas para análise, mas apenas 63 das mesmas seguiram paralelamente para análise histopatológica.

O principal critério de inclusão foi, que, cada diagnóstico citológico deve ter o seu respetivo diagnóstico histopatológico para termo de comparação.

Os critérios de exclusão foram, não inclusão de amostras de tecido mamário e diagnósticos citológicos sem respetivo resultado histopatológico.

Os objetivos específicos deste trabalho foram, relacionar os diagnósticos obtidos por análise citológica com os alcançados por exame histológico. Estabelecer a concordância entre os diagnósticos, citológico e histológico, na distinção de lesões neoplásicas e não neoplásicas. Outro objetivo relevante foi, a identificação do tipo celular e o carácter (benigno/maligno) da neoplasia.

Também foi averiguada a espécie, idade e o sexo, dos animais em causa, para posteriores correlações.

2.1 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao software Excel (Microsoft Corporation 2013) e SPSS (PASW Statistics, versão 24). Para determinar o grau de associação entre as variáveis foi usado o teste de chi-quadrado com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As variáveis analisadas no presente no estudo foram: o diagnóstico citológico e histopatológico das amostras, o tipo celular, a classificação de malignidade, a idade e o sexo do animal. Para prever o nível de concordância entre os resultados dos exames citológico e histopatológico foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Este coeficiente varia entre -1 e 1. Se variar entre 0 e 0.50 ou entre 0 e -0.5 a correlação é considerada fraca; se variar entre 0.5 e 0.7 ou entre -0.5 e -0.7 é considerada moderada; por fim, se variar entre -0.7 e -1 ou entre 0.7 e 1 é considerada elevada.

3 - Resultados

Conforme já referido, obtiveram-se, na base de dados do LACH da FMV-ULH, entre 2016 e 2018, 63 amostras citológicas, que também foram enviadas para análise histopatológica.

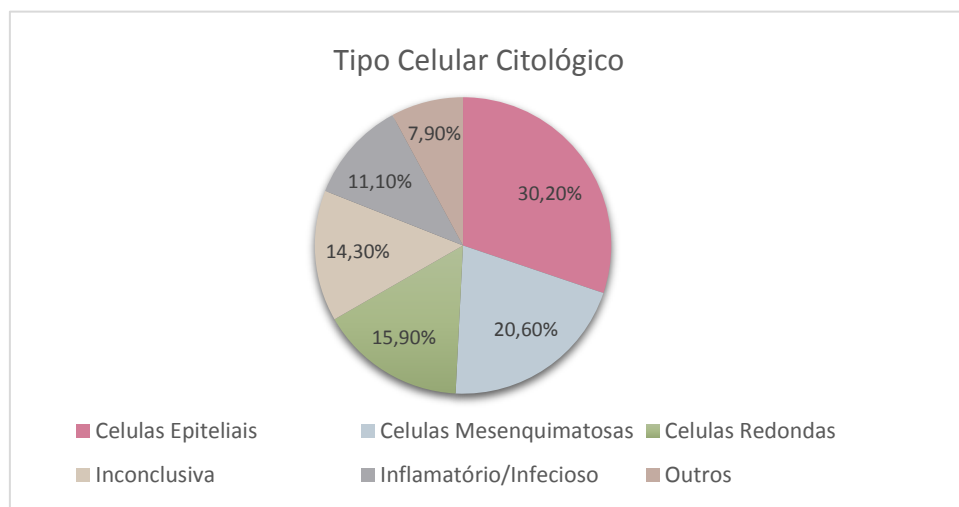
De entre esses 63 casos, 82,5% (N=52) foram obtidos de cães, 15,9% (N=10) de gatos e uma amostra pertence a um papagaio 1,6% (N=1). Dos 52 cães, 29 eram de raça definida (36%). A idade média foi de 9,46 anos, variando de 1 a 17 anos.

Dos 10 gatos, apenas um era de raça definida (1,6%) e a idade média foi de 8,10 anos, variando entre 1 e 16 anos.

Tendo em conta as duas espécies em estudo a média das idades foi de 9 anos (M=9,38;DP=4,101).

3.1 Distribuição das amostras citológicas de acordo com o tipo celular

A distribuição das amostras citológicas, de acordo com o tipo celular, estão evidenciadas na figura 22. Onde se verificou que, 30,2% eram de células epiteliais (N=19); 20,6% de células mesenquimatosas (N=13); 15,9% de células redondas (N=10); 14,3% foram inconclusivos (N=9); 11,1% eram processos inflamatórios ou infecciosos



(N=7), e finalmente 7,9% foram classificados como “outros” (N=5). Estes últimos são

Figura 22 - Classificação das 63 amostras citológicas quanto ao tipo celular

por exemplo lesões hemorrágicas, quísticas, hiperplásicas ou amostras sem alterações dignas de registo.

3.2 Classificação do diagnóstico citológico quanto à malignidade

Na amostra em estudo, composta por 63 casos, 52,4% (N=42) das lesões foram benignas, 34,9% (N=12) malignas e 12,4% (N=9) foram inconclusivas como consta na figura 23.

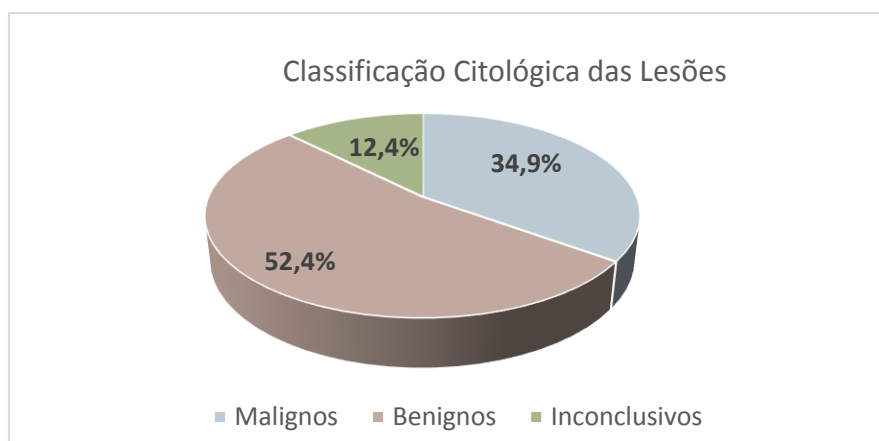


Figura 23 - Classificação do diagnóstico citológico quanto à malignidade

3.3 Classificação dos diagnósticos citológicos quanto à patologia

Os resultados obtidos permitiram diagnosticar 7 processos inflamatórios como lesões benignas, 5 lesões sem alterações, 4 tumores perivasculares e 4 mastocitomas de baixo grau de natureza maligna, 5 quistos epidermais como benignos, 3 ameloblastomas como benignos e 2 lesões hemorrágicas benignas. As restantes lesões por apresentarem

apenas 1 ou 2 casos, foram incluídas num só grupo “Outros”, destas, 11 são benignas, 13 são malignas e 9 são inconclusivas.

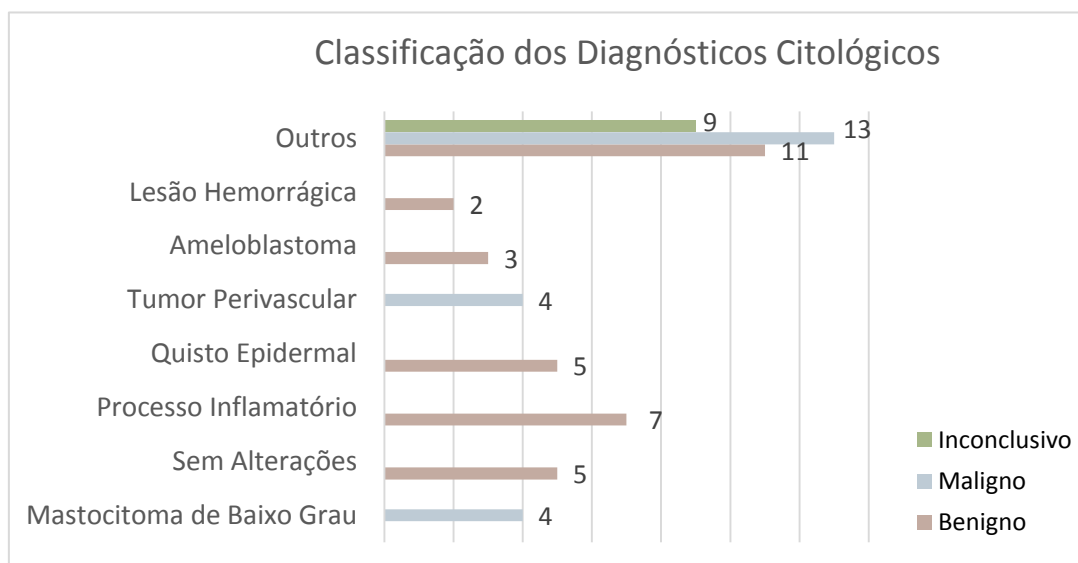


Figura 24 - Classificação dos diagnósticos citológicos

3.3.1 Diagnósticos citológicos agrupados como “outros”

3.3.1.1 Diagnósticos citológicos benignos classificados como “outros”

Diagnósticos citológicos benignos classificados como “outros”, agrupados na tabela 3.

Tabela 3 - Diagnósticos citológicos benignos classificados como "outros"

Benigno	Melanoma sem critérios de malignidade
Benigno	Conteúdo hemático, reação inflamatória associada à presença de <i>Leishmania spp.</i> ,
Benigno	Hiperplasia nodular ou adenoma
Benigno	Neoplasia epitelial-papiloma escamoso
Benigno	Quisto prostático com possibilidade de hiperplasia prostática
Benigno	Lipoma
Benigno	Hiperplasia sebácea inflamada
Benigno	Hiperplasia plasmática associada a <i>Leishmania spp.</i> ,
Benigno	Neoplasia epitelial de atipia ligeira
Benigno	Hiperplasia do tecido linfóide
Benigno	Melanoma sem critérios de malignidade

	Concordante da histopatologia		Discordante da histopatologia		Não conclusivo
--	-------------------------------	--	-------------------------------	--	----------------

3.3.1.2 Diagnósticos citológicos malignos, classificados como “outros”

Diagnósticos citológicos malignos classificados como “outros”, agrupados na tabela 4.

Tabela 4 - Diagnósticos citológicos malignos agrupados como "outros"

Maligno	Neoplasia mesenquimatosa maligna, diagnóstico diferencial: Hemangiossarcomas/ outros sarcomas
Maligno	Linfoma
Maligno	Neoplasia mesenquimatosa maligna (fibrossarcoma)
Maligno	Carcinoma das células escamosas
Maligno	Neoplasia células redondas (plasmocitoma extramedular)
Maligno	Seminoma
Maligno	Tumor das células de Leydig/intersticial
Maligno	Neoplasia mesenquimatosa maligna (fibrossarcoma)
Maligno	Melanoma
Maligno	Neoplasia epitelial maligna
Maligno	Carcinoma das células escamosas
Maligno	Melanoma
Maligno	Timoma

	Concordante da histopatologia		Discordante da histopatologia		Não conclusivo
--	-------------------------------	--	-------------------------------	--	----------------

3.3.1.3 Diagnósticos citológicos inconclusivos, classificados como “outros”

Diagnósticos citológicos inconclusivos, classificados como “outros”, encontram-se agrupados na tabela 5.

Tabela 5 - Diagnósticos citológicos inconclusivos agrupados como "outros"

Não conclusivo	Fraca celularidade, diagnóstico diferencial – CCE
Não conclusivo	Fraca celularidade
Não conclusivo	Fraca celularidade, tecido de granulação associado a inflamação
Não conclusivo	Fraca celularidade, tecido de granulação associado a inflamação
Não conclusivo	Fraca celularidade, tecido fibroso ou neoplasia mesenquimatosa
Não conclusivo	Fraca celularidade conteúdo hemático
Não conclusivo	Fraca celularidade, células mesenquimatosas, fibroma, inflamação mista/crónica
Não conclusivo	Fraca celularidade, apenas inflamação
Não conclusivo	Imagem não conclusiva, ddx. Neoplasia mesenquimatosa benigna (fibroma) ou tecido de granulação

	Concordante da histopatologia		Discordante da histopatologia		Não conclusivo
--	-------------------------------	--	-------------------------------	--	----------------

3.4 Nível de concordância entre o diagnóstico citológico e histopatológico

Os resultados referentes ao nível de concordância entre o diagnóstico citológico e histopatológico, permitem verificar que dos 63 casos diagnosticados, a maioria 67% (N=42), concorda totalmente entre si seguindo-se 15,9% (N=10) que discordam totalmente, 11,1% (N=7) diagnósticos inconclusivos e não úteis para condução de diagnóstico (não revelaram critérios que permitissem aferir o tipo de tecido nem a presença de critérios de malignidade da amostra citológica) e 6,4% (N=4) diagnósticos inconclusivos mas úteis, pois revelaram alguma informação, acerca da amostra analisada. Este último grupo foi subdividido da seguinte forma: quanto à deteção de critérios de malignidade 3,2% (N=2); diagnóstico inconclusivo mas útil quanto ao tipo celular e diagnóstico concordante quanto à malignidade e discordante quanto à origem, apenas se verificou um caso em ambos (N=1) 1,6%; concordante quanto à origem e discordante quanto à malignidade não foi verificado nenhum caso no presente estudo (N=0) 0% (figura 25). Se retirarmos os casos inconclusivos obtemos uma concordância de 82.5%.

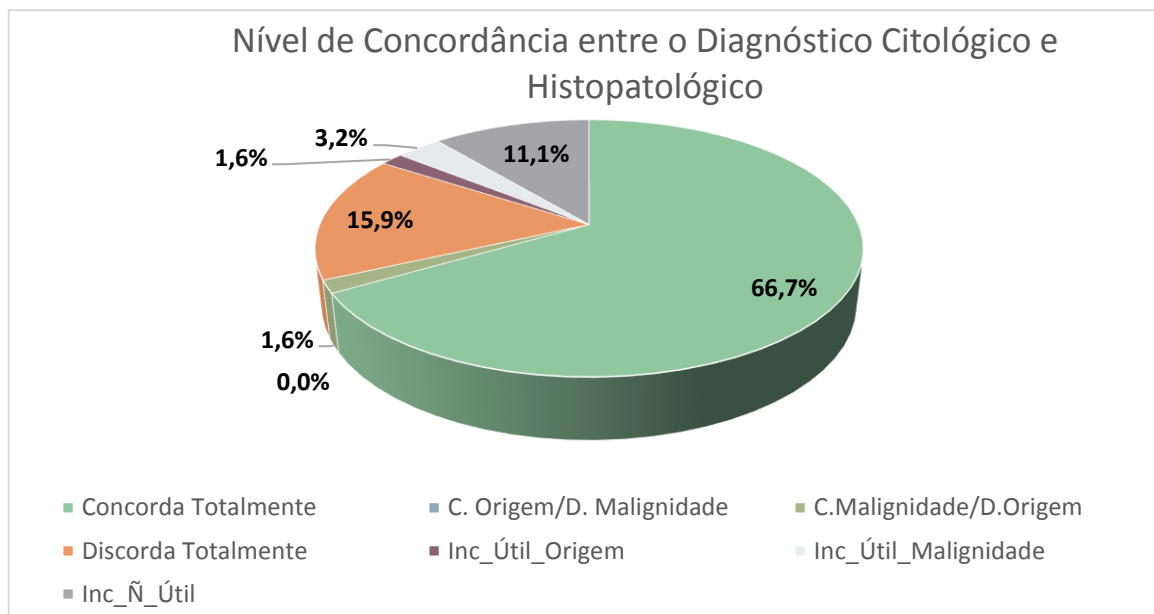


Figura 25 - Nível de concordância entre o diagnóstico citológico e o histopatológico

3.5 Diagnósticos citológicos que revelaram concordância total

Dos casos diagnosticados citologicamente, em que os resultados concordam totalmente com o diagnóstico histopatológico, (N=42), (figura 26), destacam-se os tumores perivasculares com 7,9% (N=5), os quistos epidermais com 7,9% (N=5), mastocitomas de baixo grau com 6,3% (N=4) e os processos inflamatórios com 6,3% (N=4). Os restantes diagnósticos, apenas possuem um ou dois casos, 1,6% e 3,2%, respetivamente.

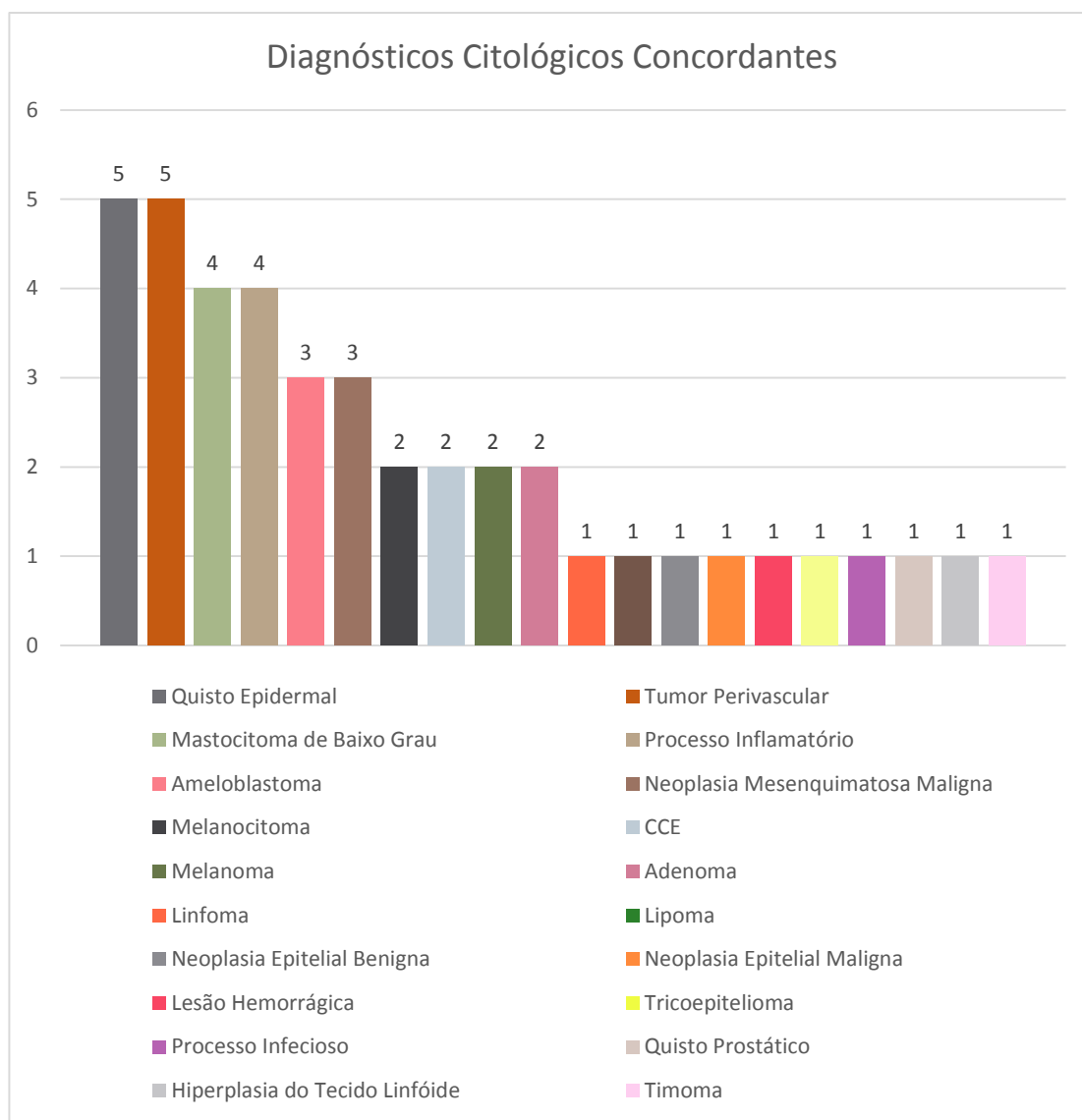


Figura 26 - Diagnósticos citológicos concordantes com os histopatológicos

Utilizando o teste de correlação de Pearson foi possível constatar que existe uma relação moderada de sentido positivo, estatisticamente significativa para aferir o nível de concordância do diagnóstico citológico e histopatológico. ($r = ,520$; $p < .001$).

Recorrendo ao teste do Chi-Quadrado, podemos constatar que existe uma associação entre o nível de concordância do diagnóstico Citológico e Histopatológico ($\chi^2 = 1426,93$; $p < .001$).

3.6 Diagnósticos citológicos que revelaram discordância total dos histopatológicos

Os casos diagnosticados citologicamente em que os resultados discordaram na íntegra, com o diagnóstico histopatológico representam 15,9% (N=10), dos quais 7,9% (N=5), não revelaram alterações ao exame citológico; os restantes diagnósticos citológicos que discordaram totalmente do respetivo exame histopatológico estão representados na figura 27, todos na proporção de 1,6% (N=1).

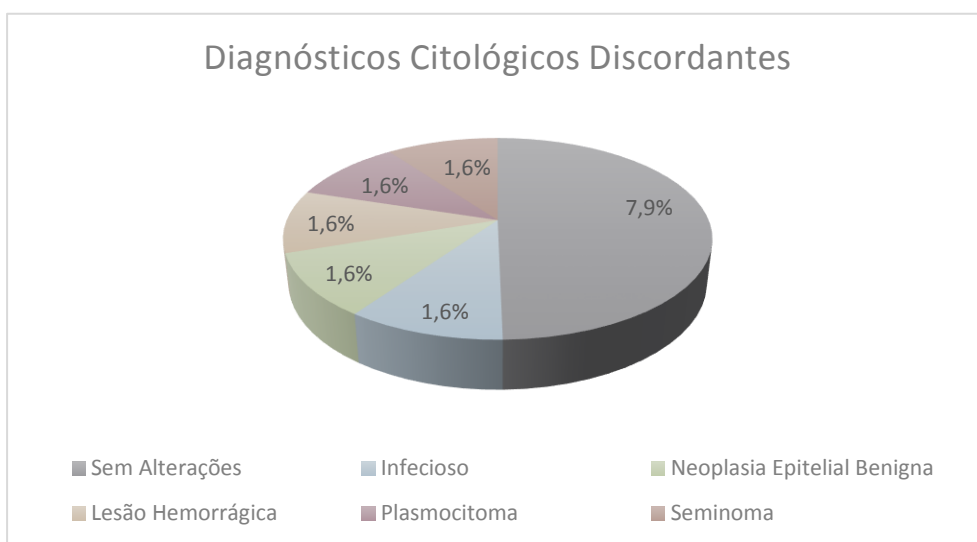


Figura 27 - Diagnósticos citológicos discordantes dos histopatológicos

A descrição dos diagnósticos, citológicos e histopatológicos, que discordaram totalmente entre si, é apresentada na tabela 6.

Tabela 6 - Diagnósticos citológicos discordantes dos histopatológicos

Diagnóstico Citológico	Diagnóstico Histológico
Seminoma	Quisto benigno. Sem evidência de neoplasia testicular
Plasmocitoma	Ameloblastoma acantomatoso (epúlida acantomatosa)
Lesão hemorrágica	Cistoadenoma glândulas apócrinas com congestão e trombos venosos
Neoplasia epitelial benigna	Processo inflamatório crónico inespecífico rico em linfócitos e plasmócitos
Infecioso (Plasmócitos e <i>Leishmania spp.</i>)	Hematoma esplénico, com área de enfarte e hemossiderina
Sem alterações	Conjuntivite linfoplasmocítica

Sem alterações	Hiperplasias nodulares esplénicas/ hematoma esplénico nódulos sideróticos
Sem alterações	Periostite fibrosa (estes fragmentos podem não ser representativos da lesão)
Sem alterações	Gastrite folicular
Sem alterações	Enterite linfoplasmocitária moderada a grave

3.7 Associações

As associações entre as variáveis utilizadas no presente trabalho foram calculadas recorrendo ao teste do Chi-Quadrado de Associação (χ^2).

3.7.1 Relação entre o diagnóstico citológico e a faixa etária

Após o cálculo do valor da mediana ($M=9$) foram criados dois escalões etários “animais com mais idade” e “animais mais jovens”. Recorrendo ao teste do Chi-quadrado (χ^2) verificou-se uma ausência de associação entre a faixa etária e o diagnóstico citológico ($\chi^2 = 31,94$; $p > .05$). Foi, ainda, possível verificar que os quatro casos de mastocitomas de baixo grau se encontram exclusivamente nos animais com mais idade, bem como o quisto epidermal e o tumor perivascular. Neste último, dos quatro casos, três pertencem a animais com mais idade. Por outro lado, os processos inflamatórios ($N=5$) encontram-se, exclusivamente nos animais mais jovens bem como as neoplasias epiteliais benignas ($N=2$) e o CCE ($N=2$). As restantes patologias não estão incluídas na seguinte figura pela sua pouca representatividade (figura 28).

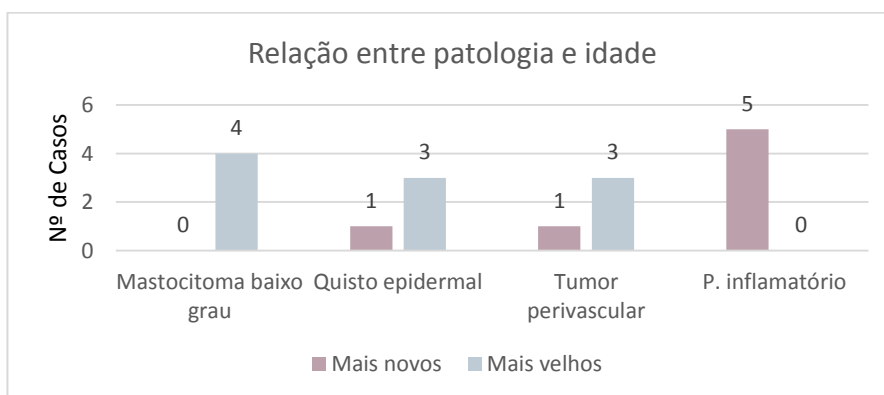


Figura 28 - Relação entre a patologia e a idade dos animais

3.7.2 Relação entre a idade e o tipo celular

Quanto ao tipo celular, não se verificou um grau de associação com a Idade ($\chi^2 = 8,304$; $p > .05$). As amostras de células epiteliais predominaram na faixa etária mais jovem 19%, e 11,1% nos animais com mais idade. As amostras citológicas de células mesenquimatosas representaram 13 casos, dos quais 15,9% pertenciam a animais de idade mais avançada e 4,8% aos animais mais novos. As neoplasias de células redondas estavam muito equiparadas em ambas as faixas etárias, sendo que 6,3% pertenciam aos animais mais novos e 9,5% aos de idade mais avançada (figura 29).

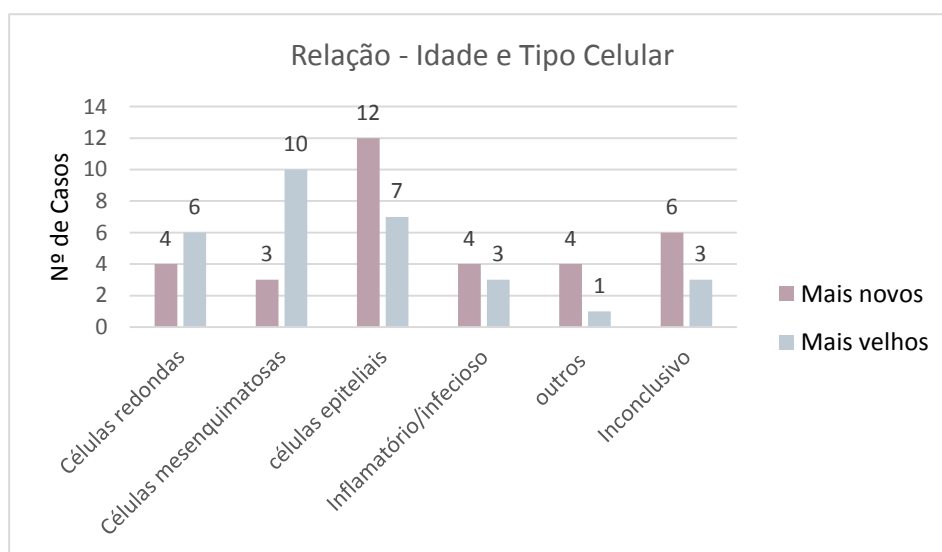


Figura 29 - Relação entre idade e o tipo celular

3.7.3 Relação entre a idade e a malignidade das amostras citológicas

A relação entre a idade e a classificação das amostras citológicas quanto à malignidade, tal como se apresenta na figura 30, permite verificar que as amostras citológicas benignas predominaram nos animais da faixa etária jovem 30,2%, em comparação com os animais de idade mais avançada 22,2%. As amostras citológicas de carácter maligno encontraram-se muito próximas, quer na faixa etária mais jovem, quer na

de idade mais avançada, com 19% dos casos nos animais mais velhos e 15,9% nos mais novos.

3.7.4 Relação entre os diagnósticos citológicos e o sexo

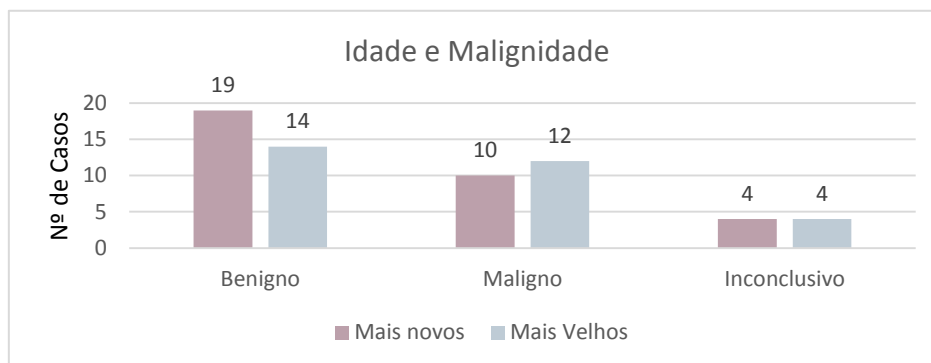


Figura 30 - Relação entre a idade e a malignidade

Quanto ao diagnóstico citológico e o sexo dos animais em estudo, verificou-se uma ausência de associação ($\chi^2 = 30,347$; $p > .05$), onde se verificou que, dos quatro processos inflamatórios e dos quatro mastocitomas de baixo grau, ambos os casos se apresentam predominantemente em fêmeas 4,8% e apenas 1,6% nos machos. O quisto epidermal, assim como o tumor perivascular, apresentaram uma distribuição equitativa em ambos os sexos, com 3,2% nas fêmeas bem como nos machos (figura 31). As outras patologias, por revelarem resultados pouco significativos não estão aqui descritas.

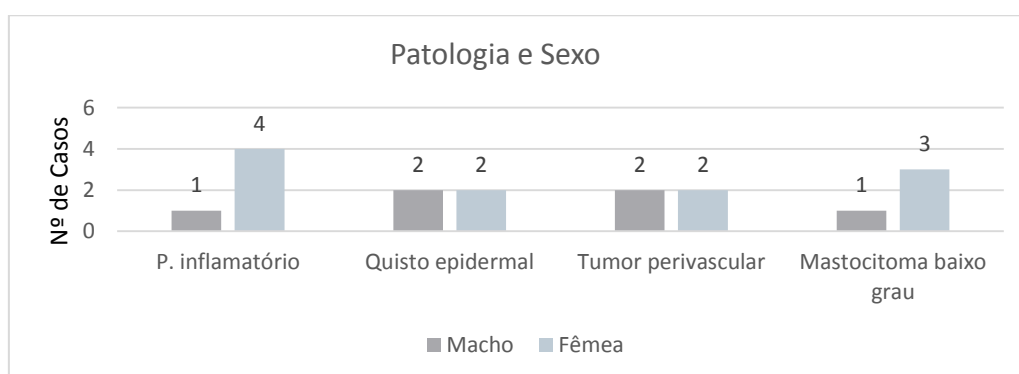


Figura 31 - Relação entre a patologia e o sexo

3.7.5 Relação entre tipo celular e o sexo

De acordo com os dados obtidos, as células de origem epitelial encontram-se de igual modo entre machos (15,9%) e fêmeas (14,3 %); as células mesenquimatosas encontraram-se predominantemente em fêmeas (12,7%) e em machos (7,9%). Relativamente às células redondas 9,5% eram de amostras pertencentes a fêmeas, e 6,3% a machos. Os processos inflamatórios/infeciosos estavam distribuídos quase de igual forma entre fêmeas e machos com 6,3% e 4,8% respetivamente. As amostras que se revelaram inconclusivas estavam distribuídas de forma muito idêntica entre fêmeas (7,9%) e machos (6,3%). O mesmo se observou nas amostras com valores de 4,8% e 3,2%, respetivamente em fêmeas e machos, classificadas como “Outros”. Não se verificou um nível de associação entre o tipo celular e o sexo dos animais ($\chi^2 = 1,210$; $p > .05$), (figura 32).

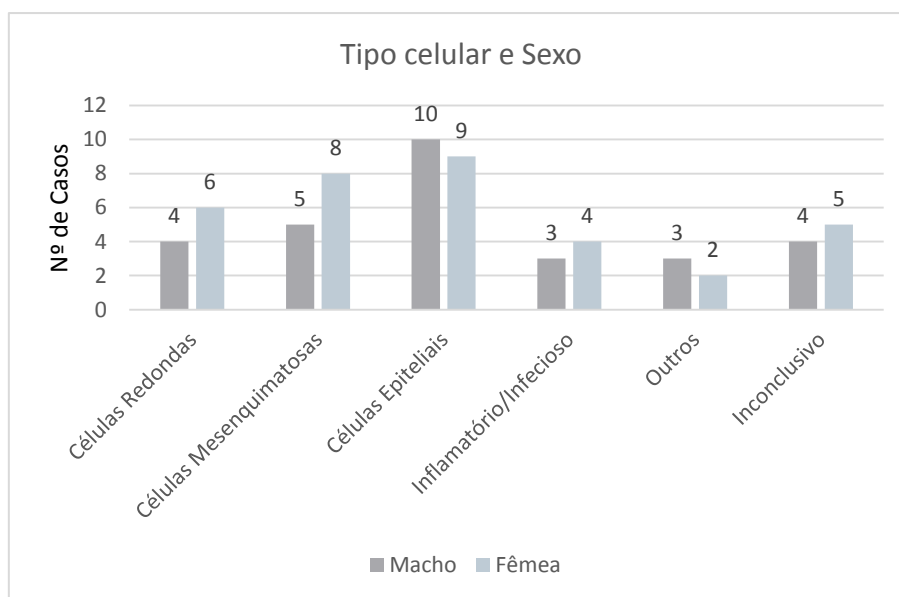


Figura 32 - Relação entre o tipo celular e o sexo

3.7.6 Relação entre malignidade e o sexo

Relativamente à malignidade das amostras, pudemos verificar segundo a figura 33, que os machos possuíam mais processos benignos comparativamente às fêmeas com 30,2% (N=19) e 22,2% (N=14), respetivamente. Quanto aos processos malignos, as fêmeas apresentam quase o dobro relativamente aos machos com 22,2% (n=14), para

apenas 12,7% (N=8), respetivamente. Os processos os inconclusivos também se destacaram no sexo feminino, com valores de 9,5% (N=6) relativamente a 3,2% (N=2), no sexo masculino. Também aqui não se verificou associação entre o sexo e a malignidade das amostras ($\chi^2 = 1,210$; $p > .05$), (figura 33).

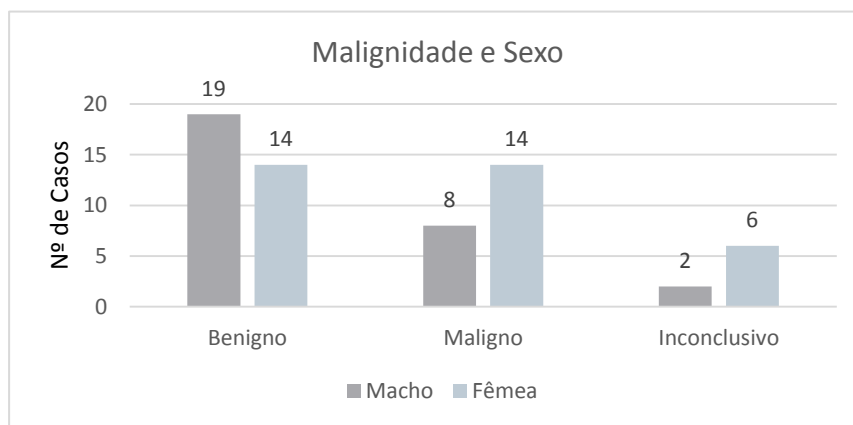


Figura 33 - Relação entre a malignidade e o sexo

3.7.7 Amostras citológicas com presença de *Leishmania spp.*,

Foi possível detetar a presença de formas amastigotas do protozoário *Leishmaniaspp.*, em duas amostras distintas de tecido esplénico. Estes achados não foram verificados no exame histopatológico correspondente, tal como se pode observar na tabela 7.

Tabela 7 - Presença de *Leishmania spp.*, em dois diagnósticos citológicos

Amostra	Diagnóstico Citológico	Diagnóstico Histopatológico	Concordância
Baço	Conteúdo hemático, reação inflamatória associada à presença de <i>Leishmaniaspp.</i> ,	Hematoma esplénico	Concordante, apenas, quanto à malignidade
Nódulo de Baço	Hiperplasia plasmática, (presença de plasmócitos) e <i>Leishmania spp.</i> ,	Hematoma esplénico, com área de enfarte e hemossiderina	Discordante quanto à origem e concordante quanto à malignidade

3.8 Sensibilidade e Especificidade

Tabela 8 - Sensibilidade e Especificidade

	Histologia		
		Malignos	Benignos
Citologia	Malignos	19 – VP	3 – FP
	Benignos	1 – FN	31 - VN

VP- Verdadeiros Positivos VN- Verdadeiros Negativos

FP- Falsos Positivos FN- Falsos Negativos

A sensibilidade é capacidade que o teste possui para detetar os doentes - Verdadeiros Malignos

É calculada através da seguinte fórmula

$$\text{Sensibilidade} = \text{VP} / (\text{VP} + \text{FN}) = 95\%$$

$$19/(19+1) = 19/20 = 0,95$$

A especificidade é a capacidade que o teste possui para detetar os não-doentes - Verdadeiros Benignos

É calculada através da seguinte fórmula

$$\text{Especificidade} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP}) = 91\%$$

$$31/(31+3) = 31/34 = 0,91$$

Valor Preditivo Positivo é a probabilidade de o doente ter mesmo a doença se o teste der positivo = 86%

É calculada através da seguinte fórmula

$$VPP = VP / (VP + FP)$$

$$19 / (19 + 3) = 19 / 22 = 0,86$$

Valor Preditivo Negativo (VPN) é a probabilidade de o doente não ter a doença se o teste der negativo = 97%

É calculada através da seguinte fórmula

$$VPN = VN / (VN + FN)$$

$$31 / (31 + 1) = 31 / 32 = 0,97$$

Para a aplicação destes cálculos foram excluídos os casos inconclusivos da população em estudo.

4 - Discussão

O exame citológico em clínica de animais de companhia, é um exame complementar versátil com vastas áreas de aplicabilidade, que tem um custo monetário reduzido, é de fácil execução, apresenta riscos reduzidos para o animal e pode facultar informações importantes para efetuar um prognóstico. Esta técnica torna, assim possível estabelecer um tratamento inicial, para determinado caso, seja este neoplásico ou não, num curto espaço de tempo.

O presente estudo teve como objetivo analisar a utilidade do exame citológico, com recurso à base de dados do Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia, do Hospital Veterinário da FMV-ULHT. As amostras incluídas neste estudo datam do período compreendido entre 28/04/2016 e 20/07/2018.

O presente trabalho compreendeu 63 amostras submetidas, simultaneamente, a análise citológica e histopatológica. O número reduzido da amostra deve-se ao principal critério de inclusão, em que cada diagnóstico citológico deve ter o seu respetivo diagnóstico histopatológico para termo de comparação.

O número de citologias efetuadas no referido intervalo de tempo, foi muito superior, mas não seguiu para exame histológico, quer por ausência de viabilidade económica por parte do tutor, quer por ter sido possível obter um diagnóstico com recurso, apenas, ao exame citológico, não excluindo a importância do exame histopatológico.

Dentro das amostras citológicas em estudo as que revelaram maior predominância foram as células epiteliais, representando 30,2% das amostras (figura 22). As células epiteliais possuem junções intercelulares entre si, mas não possuem matriz extracelular, permitindo assim que estas esfoliem bem (Friedrichs & Young, 2013). Esta característica permite obter amostras com uma boa celularidade, o que torna o exame citológico mais representativo. Para além disto, este tipo de lesões compõem o grupo de amostras citológicas mais colhidas em animais de companhia. Este fato deve-se, principalmente, à sua localização, que as torna claramente visíveis ou palpáveis, permitindo que os tutores ou os clínicos detetem facilmente estas lesões (Bain *et al*, 2017). As células mesenquimatosas foram as segundas mais predominantes, com 20,6% (figura 22). Estas células são responsáveis pela estrutura e suporte de todos os tecidos, possuem uma matriz coesa, que torna mais difícil a aspiração dos tecidos, resultando em amostras citológicas

tipicamente mais pobres (Barger *et al.*, 2017). Por fim, as células redondas representaram 15,9% (figura 22), sendo o tipo celular menos representativo neste estudo. Este resultado não vai completamente ao encontro da bibliografia que afirma que as neoplasias de células redondas são um dos tipos mais comuns de neoplasias na Clínica de Animais de Companhia. Estas células não se encontram aderidas a estruturas tecidulares e, por esta razão, tendem a esfoliar facilmente através da aspiração dos tecidos (Alleman & Choi, 2010). A divergência entre os resultados obtidos e a literatura pode, apenas, resultar do fato de não terem surgido casos que seguissem para os dois tipos de exame, e, por esta razão, o número de casos compostos por células redondas ter sido o mais reduzido da amostra em estudo.

Foi incluído neste estudo um grupo denominado de “lesões inflamatórias ou infecciosas”, que representaram 11,1% (figura 22) percentagem relativamente significativa que se deve, em parte, à facilidade de deteção de processos infecciosos, nomeadamente a visualização de protozoários, como é o caso da *Leishmania spp.*, através da citologia e da coloração de rotina utilizada neste processo.

Considerando o exame histológico a técnica de referência, quando se trata da comparação entre os dois métodos de análise, o corrente estudo obteve uma concordância total de 66,7% (figura 25), o que significa que, dos 63 casos em estudo, 42 concordaram totalmente entre si e 10 casos discordaram totalmente. Os restantes casos foram inconclusivos; porém, nestes foi ainda avaliada a sua concordância quanto ao tipo celular e quanto à malignidade da lesão, considerados dados importantes no auxílio da condução de diagnóstico. Mesmo que este não seja alcançado apenas por via citológica.

Os casos inconclusivos, considerados úteis, são constituídos por dois diagnósticos que revelaram critérios de malignidade, embora nestes, não tenha sido possível identificar o tipo celular. Um diagnóstico que concordou quanto ao tipo celular e, um, que revelou concordância quanto à malignidade, mas não quanto ao tipo celular. Nenhum caso concordou quanto à origem discordando quanto à malignidade (figura 25).

As características citadas, identificadas através da citologia, podem permitir que um clínico, adote medidas iniciais, no que respeita à terapêutica. Enquanto o resultado da histopatologia não se encontra disponível, uma vez, que esta análise, leva mais tempo a ser executada. Após a obtenção dos resultados da histopatologia, é possível, caso se justifique, alterar o protocolo terapêutico primariamente instituído.

Dos casos inconclusivos e não úteis na condução de diagnóstico, por não revelarem critérios de malignidade nem o tipo de tecido em causa, foram apurados 7, representando 11,1% (figura 25).

Se excluirmos os casos inconclusivos do estudo, obteve-se uma concordância parcial de 82,5%.

Cohen e colegas (2003), citado por Sharkey *et al.*, (2007), realizaram um estudo retrospectivo composto por 269 casos cujos diagnósticos citológicos foram comparados aos respetivos histopatológicos. Agrupando amostras de todos os tecidos, a concordância completa e parcial entre o diagnóstico citológico e histopatológico foi de 56,1%, incluindo as amostras citológicas inconclusivas e 63,2% excluindo as mesmas. A exatidão da citologia deste estudo foi algo inferior ao estudo efetuado por Eich e colegas (2000), citado por Sharkey *et al.*, (2007), constituído por 100 massas provenientes de vários órgãos diferentes. Das 100 amostras citológicas, 42% revelaram um diagnóstico correto de acordo com a histopatologia, 41% alcançaram uma correta identificação do processo patológico, 1% foi inconclusivo e 16% foram discordantes do diagnóstico histopatológico. Contudo, juntando as amostras diagnósticas e que revelaram o processo patológico em curso, obteve-se um resultado de 83% de concordância comparado com os 63% obtidos no estudo realizado por Cohen e colegas (2003) citado por Sharkey *et al.*, (2007).

O presente trabalho revelou resultados estatísticos de concordância muito idênticos aos do estudo de Cohen e colegas (2003), citado por Sharkey *et al.*, (2007) que obteve 63% de concordância, relativamente a 66,7% obtidos no presente trabalho. Quanto à concordância parcial, o presente estudo obteve 82,5%, valor que se revelou muito próximo dos resultados obtidos por Eich e colegas (2000) etambém, por Cohen e colegas (2003), que obtiveram, 85% e 83% respetivamente (Sharkey *et al.*, 2007).

Exames citológicos de amostras provenientes de aspirados com uma boa celularidade, de lesões cutâneas e subcutâneas, tiveram elevadas percentagens de concordância. A exatidão do exame citológico, de aspirados de lesões internas, é mais afetada, quer pela localização das lesões, quer pelo método de colheita (Sharkey *et al.*, 2007). Através de um estudo, foi estimada a sensibilidade e especificidade do exame citológico em 269 animais, dos quais 216 eram cães, concluiu-se que a sensibilidade variou entre 33,3% e 66,1%, de acordo com a localização da lesão, registando uma precisão superior no diagnóstico de lesões cutâneas e subcutâneas (Cohen *et al.*, 2003) ao

passo que no presente trabalho estas alcançaram valores na ordem dos 95% e 91% respetivamente.

As neoplasias de origem epitelial pouco diferenciadas têm poucas ou nenhuma características que as identifiquem. Em alguns casos, as células perdem as junções intercelulares e surgem como células redondas. A determinação do tecido de origem, nestes casos torna-se difícil e a avaliação histológica, com ou sem análise imunohistoquímica, é fulcral para definir o tipo específico de tumor em causa (Friedrichs & Young, 2013).

A concordância das lesões de células epiteliais foi de 17 casos, num total de 19 amostras, tendo em conta apenas este grupo celular, o que dá uma concordância de 89,5%. O que se aproxima do que foi averiguado por Ghisleni e colegas (2006), que levaram a cabo um estudo retrospectivo da correlação entre diagnósticos citológicos e respetivos diagnósticos histopatológicos, num total de 292 amostras de massas de tecido cutâneo e subcutâneo, com exceção de tecido mamário, tal como no presente trabalho, provenientes de cães e gatos. As amostras foram recolhidas por PAAF, com recurso a agulhas de 21 a 22 Gauge, neste houve um diagnóstico de neoplasia falso-positivo (Sharkey *et al.*, 2007), tal como aconteceu no presente estudo (Tabela 8), relativamente à amostra diagnosticada por citologia como sendo um seminoma e a histopatologia revelou *a posteriori* que se tratava de um quisto testicular benigno.

As células mesenquimatosas são responsáveis pela estrutura e suporte de todos os tecidos. Possuem uma matriz coesa, que torna mais difícil a aspiração dos tecidos, resultando em amostras citológicas tipicamente mais pobres (Barger *et al.*, 2017); esta razão pode estar na base da explicação de que o grupo de lesões de origem mesenquimatosa representa o menor nível de concordância deste estudo com 69% (9/13) de concordância. Alguns tumores mesenquimatosos não possuem características distintivas, sendo importante ter conhecimento da localização e de outras informações clínicas, para efetuar uma lista de diagnósticos diferenciais. O diagnóstico definitivo é baseado no exame histológico e/ou na coloração imunohistoquímica (Friedrichs & Young, 2013).

Através da avaliação citológica isolada, é difícil diferenciar tumores mesenquimatosos de outras neoplasias e de lesões não neoplásicas. Esta dificuldade deve-se, em parte, ao fato de que estes tumores partilham características morfológicas com outros tipos de neoplasias (Johnson *et al.*, 2016).

As lesões compostas por células redondas obtiveram 90% de concordância, formando assim, o grupo que revelou um nível de concordância superior aos restantes. É uma categoria composta, principalmente, por células do sistema hemolinfático. As neoplasias das células redondas são consideradas um dos tipos mais comuns de neoplasias na Clínica de Animais de Companhia (Alleman & Choi, 2010). A característica morfológica altamente distintiva das neoplasias de células redondas é a ausência de junções celulares (NeNicola, 2014). Como estas células não se encontram aderidas a estruturas tecidulares tendem a esfoliar facilmente através da aspiração dos tecidos (Alleman & Choi, 2010).

Num estudo, acerca do valor diagnóstico da citologia e da histologia, em lesões neoplásicas cutâneas, foi verificada uma concordância em 60 dos 64 diagnósticos das neoplasias de células redondas. Neste os 37 mastocitomas foram todos concordantes, assim como os 11 melanomas, os dois histiocitomas e um linfoma cutâneo (Tvedten, 2012). Os resultados obtidos no presente trabalho, demonstraram que as lesões de células redondas foram as que obtiveram o maior grau de concordância, das dez citologias de células redondas, apenas uma foi discordante, sendo de realçar que, os mastocitomas concordaram na totalidade, bem como as neoplasias melanocíticas e o linfoma, perante o exame padrão, a histopatologia, tal como aconteceu no estudo supracitado.

Outro estudo retrospectivo que decorreu entre 2000 e 2010, na Áustria, conduzido por Leidinger *et al.*, (2014), revela que o mastocitoma de baixo grau, cujo exame de referência diagnóstico é a histopatologia, verificou uma elevada sensibilidade e especificidade através do exame citológico, exceto no que respeita à avaliação de margens, pois este tipo de critério arquitetural, não é possível determinar através citologia, este estudo não incluiu igualmente os tumores derivados de tecido mamário (Leidinger *et al.*, 2014). Este dados, mais uma vez, sustentam o que se verifica no presente estudo, todos os mastocitomas diagnosticados por citologia, obtiveram uma concordância total.

Foram efetuadas algumas associações/correlações com os dados obtidos neste estudo, nomeadamente entre a malignidade e o sexo, e entre a malignidade e a faixa etária, das amostras consideradas mais representativas, por englobarem um maior número de casos. Foi verificado que os quatro casos de mastocitomas de baixo grau foram diagnosticados exclusivamente nos animais pertencentes à faixa etária mais avançada, destes quatro casos, três pertencem a fêmeas e apenas um pertence a um macho. O que vai ao encontro do que está descrito na bibliografia que, referiu um estudo retrospectivo constituído por 476 cães, no período de dez anos, revela que ocorreu um pico de

incidência entre os 6 e os 8 anos e não houve pré-disposição significativa de sexo (Leidinger *et al.*, 2014). Geralmente surge em cães entre os 8 e os 9 anos, aparentemente não há predisposição de sexo (London & Thamm, 2013). Não se verificou no presente trabalho, a ausência de pré-disposição de sexo, tendo as fêmeas sido maioritariamente acometidas, sendo que maioria dos estudos concorda que a pré-disposição é igual para ambos os sexos (Leidinger *et al.*, 2014). Tal como aconteceu no quisto epidermal e no tumor perivascular, em que este último engloba quatro casos, dos quais, três pertenciam a animais de mais idade, e apenas um pertenceu a um animal mais jovem.

Relativamente aos tumores perivasculares, um estudo de 20 casos em cães, que decorreu entre 2002 e 2004, revelou que a incidência desta neoplasia ocorreu em idades compreendidas entre os 6 e os 13 anos, (média de 9,5 anos). A incidência de sexo foi superior em machos, sendo que de 20 casos 12 eram machos e 8 eram fêmeas (Avalone *et al.*, 2007). No presente estudo, dos quatro tumores perivasculares, dois pertenciam a machos e dois a fêmeas, não se constatou, assim, uma pré-disposição de sexo. No que respeita à idade dos animais acometidos, verificou-se que três casos pertenciam a animais mais velhos e apenas um se incluía na faixa etária mais jovem, o que corrobora com a bibliografia supracitada.

Quanto ao quisto epidermal/folicular é de salientar que, este tipo de lesões faz parte do grupo mais comum de amostras colhidas em animais de companhia, este fato deve-se, principalmente, à sua localização, que as torna claramente visíveis ou palpáveis. Isto permite que os tutores possam detetar facilmente as lesões, tal como os clínicos durante o exame físico (Bain *et al.*, 2017). Estes tumores benignos geralmente são mais comuns em cães de meia-idade a idosos (Raskin, 2010). Este dado comprova o que se verificou no presente estudo, em relação à pré-disposição de sexo, pode-se dizer que acometeu de forma exatamente igual machos e fêmeas.

Os processos inflamatórios e/ou infecciosos, neste estudo, de acordo com os resultados, podemos afirmar que afetaram exclusivamente os animais que se situam na faixa etária mais jovem, sendo que as amostras eram provenientes de quatro fêmeas e de um macho. Uma das utilizações de excelência da citologia em Medicina Veterinária é a possibilidade de distinguir processos inflamatórios de neoplásicos, o que permite reduzir significativamente a lista de diagnósticos diferenciais (Meinkoht *et al.*, 2014). Esta afirmação confirma-se pelo fato de que neste trabalho, se obteve uma boa concordância entre os diagnósticos deste processo patológico. Amostras que contêm apenas células inflamatórias são as mais fáceis de interpretar através do exame citológico. A abordagem

que se deve efetuar é a identificação do principal tipo de células inflamatórias presentes na amostra (Tennant, 2014).

Em duas amostras citológicas, foi possível verificar um processo infeccioso, nomeadamente por *Leishmania spp.*, em que, no respetivo exame histopatológico, apenas verificou a presença de um hematoma esplénico. As formas amastigotas da *Leishmania spp.*, são geralmente encontradas a nível intracelular, em macrófagos, células endoteliais, fibroblastos ou no espaço extracelular em alguns dos casos. Estes organismos estão frequentemente presentes em vacúolos intracelulares redondos de cor clara, muitos deles contém mais de uma dúzia de amastigotas no seu interior. As amastigotas tem uma forma redonda a oval, com um núcleo basofílico arredondado e um cinetoplasto com forma de um pequeno bastão. Os organismos de *Leishmania spp.*, podem ser observados através da coloração de rotina de Hematoxilina-Eosina, contudo, melhor visualizadas através da coloração Giemsa, utilizada no exame citológico (Mauldin & Peters-Kennedy, 2016). Esta é uma razão plausível para o fato de se ter observado em duas das amostras citológicas a presença deste protozoário, sem que o mesmo tenha acontecido no respetivo exame histopatológico.

Os casos que discordaram totalmente entre si foram 10, em 63. Cinco revelaram ausência de alterações dignas de registo, ao exame citológico, e no exame histológico revelaram determinada patologia. Estes casos são um bom exemplo de uma desvantagem da análise citológica, a não representatividade das amostras citológicas. Posto isto, foram consideradas cinco análises com resultado falso-negativo.

Existem diversas razões possíveis para que uma lesão submetida a exame citológico não permita chegar a um diagnóstico. A falta de representatividade é disso exemplo e, acontece quando durante a colheita da amostra, a agulha falha a lesão ou a colheita não é representativa da mesma, como no caso de punção de uma área de inflamação ou necrose, dentro de uma neoplasia. Para além do referido, alguns tecidos não são muito esfoliativos, resultando em amostras acelulares (Meinkoth *et al.*, 2014).

Mesmo que sejam colhidas as células da lesão alvo, estas podem ainda, ficar retidas no canhão da agulha, não chegando a ser depositadas na lâmina. Um esfregaço mal efetuado pode tornar a amostra pouco celular se ocorrer lise de todas as células durante a sua preparação do mesmo.

É muito comum, na avaliação várias lâminas provenientes da mesma amostra, que apenas uma delas seja diagnóstica, devendo por isso ser sempre efetuado um mínimo de

quatro a cinco esfregaços, de várias áreas distintas dentro da mesma lesão (Meinkoth *et al.*, 2014).

No presente trabalho, foi diagnosticada uma neoplasia benigna, de um tecido epitelial, proveniente de um fragmento gengival, este diagnóstico foi classificado, pela histopatologia, como processo inflamatório crónico rico em linfócitos e plasmócitos. A inflamação tem capacidade de causar alterações, principalmente em células epiteliais e mesenquimatosas, que as torna semelhantes a células neoplásicas. O contrário também pode ser observado, uma vez que determinados tumores desenvolvem uma reacção inflamatória concomitante (Fisher, 2014). A amostra em causa é composta por células de tecido epitelial que, tal como foi referido, é das mais vulneráveis no que respeita a sofrer alterações causadas pela inflamação. Se uma massa é aspirada e apenas células inflamatórias estiverem presentes, a causa subjacente pode ou não, ser infecciosa, tendo em conta que determinados tumores podem desencadear uma resposta inflamatória. A presença de vários tipos de células inflamatórias ou teciduais diferentes podem ser muito difíceis de interpretar com base na citologia, deve ser considerada uma biópsia tecidual, para uma avaliação mais adequada (Fisher, 2014).

A lesão hemorrágica diagnosticada por citologia, cuja histopatologia emitiu um diagnóstico de cistoadenoma das glândulas apócrinas, com congestão e trombos venosos, é um caso discordante que se pode justificar com base na contaminação hemática. A contaminação hemática é uma causa muito comum, que faz com que as amostras se tornem não diagnósticas. As duas maiores causas de contaminação hemática são o uso de agulhas com um calibre inferior a 22 Gauge e aspiração demasiado prolongada (Mainkoth *et al.*, 2014). Algumas lesões são altamente vasculares o que torna difícil evitar a contaminação hemática, o procedimento mais prudente, nestes casos, é recorrer à técnica de punção não aspirativa, que resulta em menor contaminação sanguínea e mais tecido passível de ser avaliado (Mainkoth *et al.*, 2014). Salientado-se, uma vez mais, que a presença de congestão e trombos venosos nesta amostra, poderá estar na base da explicação deste diagnóstico citológico de lesão hemorrágica. A não visualização da lesão quística, descrita pela histopatologia, pode justificar-se pelo fato de os aspirados de lesões quísticas, neoplásicas ou não, possuírem abundantes detritos de queratina e/ou, abundante conteúdo líquido ou semi-líquido, o que as torna muito pouco celulares, este fator contribuiu igualmente para dificultar o diagnóstico por citologia. A histopatologia torna-se, assim, necessária para uma identificação mais específica deste tipo de lesões (Fisher, 2014).

Dentro do grupo das neoplasias de células redondas, a diagnosticada como plasmocitoma, foi a única que não obteve concordância histopatológica, pois foi diagnosticada como um ameloblastoma acantomatoso, por parte da histologia. O fato de, através do exame citológico, ter sido identificada como um plasmocitoma, pode-se dever a uma possível inflamação com presença de plasmócitos displásicos, nos tecidos que circundam a neoplasia benigna em causa. Algumas epúlides/ameloblastomas contêm células inflamatórias e/ou, osteoclastos, dificultando a sua interpretação, por via citológica (Camus, 2017). As epúlides surgem do ligamento periodontal e citologicamente, não são facilmente distinguidas da hiperplasia gengival o que faz sentido, perante o diagnóstico não concordante em causa (Camus, 2017). Como já foi referido, algumas neoplasias desenvolvem uma reacção inflamatória concomitante, sendo de salientar que a inflamação pode induzir alterações morfológicas nos tecidos e células. Assim, quando estamos perante um processo inflamatório proeminente é muito difícil extrair um diagnóstico apenas baseado na citomorfologia. Nestes casos, deve ser considerada uma biópsia tecidual, para uma avaliação mais fidedigna (Fisher, 2014).

O seminoma, que se verificou tratar-se de um quisto benigno, sem evidência de neoplasia testicular, foi o quinto e último caso que discordou na íntegra da histopatologia. Os seminomas têm origem na transformação neoplásica de células testiculares germinativas (Vabornik & Nabity, 2014). A distinção entre seminomas e outros tumores testiculares pode ser difícil e as preparações citológicas, muitas vezes, contêm um grande número de células e núcleos que sofreram lise (England & Friedrichs, 2014).

Um quisto pode estar associado uma área de inflamação, levando à observação de hiperplasia ou displasia tecidual e celular. O epitélio germinativo, que compõe esta amostra citológica, pode ter sofrido as referidas alterações, adquirindo, deste modo, características neoplásicas. Presencia-se neste caso, uma vez mais, a dificuldade de observação de lesões quísticas através da citologia, assim como a não representatividade da amostra citológica.

Com a análise estatística, utilizando o teste de correlação de Pearson, foi possível constatar, que existe uma relação moderada de sentido positivo, estatisticamente significativa, para aferir o nível de concordância do diagnóstico citológico e histopatológico, ($r = 0,520$; $p < 0,001$). Recorrendo ao teste do Chi-Quadrado, verificou-se que existe uma associação entre o nível de concordância do diagnóstico Citológico e Histopatológico ($\chi^2 = 1426,93$; $p < 0,001$).

As restantes associações, efetuadas, aplicando o teste do Chi-Quadrado, nomeadamente, entre a faixa etária e o diagnóstico citológico, a faixa etária e o tipo celular acometido, a faixa etária e a malignidade das amostras citológicas, a patologia e o sexo, o tipo celular e o sexo e, por fim, entre a malignidade da amostra e o género, não se evidenciou nenhum grau de associação positivo. Este fenómeno pode ser justificado pela limitação do reduzido número de amostras em estudadas.

Por esta razão as informações, relativamente aos parâmetros supracitados não são credíveis, nem passíveis de ser extrapoladas para uma população, quer seja esta referente a uma zona geográfica, a um estado, um país ou cidade.

Apesar das limitações do estudo em causa, foi possível verificar um nível concordância significativa entre as duas técnicas de diagnóstico, nomeadamente (42/67) diagnósticos foram concordantes entre si. E que retirando os casos inconclusivos do estudo, a concordância parcial entre os dois meios de diagnóstico terá sido de 82,5%. Através do exame citológico nem sempre foi possível chegar a um diagnóstico definitivo, contudo, no trabalho levado a cabo, foram inclusive extraídas informações das amostras citológicas inconclusivas. Tais como, o tipo de tecido ou a presença, ou não, de critérios de malignidade. A importância destas informações reside, na possibilidade de orientar um diagnóstico, antes do resultado histopatológico estar disponível.

Por fim, foi possível obter resultados relativos à sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo bastante satisfatórios. A sensibilidade é capacidade que o teste possui para detetar os verdadeiros malignos, que no presente estudo foi de 95%. Já a especificidade é a capacidade que o teste possui para identificar os verdadeiros benignos, esta alcançou 91%.

O valor preditivo positivo é a probabilidade de o doente ter mesmo a doença se o teste revelar ser positivo, no presente trabalho alcançou-se o valor de 86%. O valor preditivo negativo, por outro lado, é a probabilidade de o doente não ter a doença se o teste der negativo, e o resultado obtido foi de 97%.

5 -Conclusão

O principal interesse deste estudo, foi avaliar a concordância entre as análises citológicas e histopatológicas. Para tal, foram delineados vários objetivos, como, averiguar a concordância entre as duas técnicas de diagnóstico em causa, e explorar, as ferramentas que a citologia pode oferecer na identificação de características das amostras. Quer no que respeitou ao tipo de tecido, quer aos critérios de malignidade.

Os resultados obtidos no presente estudo, mostraram existir, um grau de concordância moderado, no sentido positivo, entre os diagnósticos citológico e histopatológico, uma vez que, dos 63 casos observados, 42 exibiram total concordância entre si e quatro permitiram extrair informações diagnósticas relevantes. Revelou um Valor preditivo positivo de 95% e um valor preditivo negativo de 91%. Bem como uma sensibilidade e especificidade de 86% e 97% respetivamente.

Um dos aspetos que se deve ter em conta, para melhorar este estudo é a limitada dimensão da amostra e a sua proveniência ser, apenas, de um hospital veterinário. O que fez com que o estudo elaborado não possa ser considerado representativo de um país ou região.

Por se tratar de um estudo retrospectivo, também não foi possível padronizar os dados de acordo com o que se pretendia, mas sim, aproveitar o que os registos facultaram, e de alguma forma, correlacioná-los, de modo a obter pontos passíveis de comparação com a bibliografia existente.

Seria importante padronizar alguns critérios, para tornar o estudo mais abrangente e representativo. Estes critérios passariam pela especificação do tipo de colheita efetuado (aspirativa, não aspirativa ou por aposição). E o modo de colheita selecionado, isto é, se esta foi realizada antes (por punção em consulta, ecoguiada ou intra-operatória) ou depois da excisão cirúrgica da amostra em estudo. A amostra deveria ser composta por um maior número de casos, bem como por uma maior variabilidade de raças e deveria ser efetuada a separação das espécies que o compõem; cães, gatos e “outros”, para se obterem resultados mais específicos e consequentemente mais fidedignos.

Apesar dos prós e contras de cada uma destas técnicas, a citologia e a histopatologia, serão sempre áreas que se complementam, devido às diferentes vantagens que estas oferecem.

6 - Referências Bibliográficas

Abramo, F., Pratesi, F., Cantile, C., Sozzi, S. & Poli, A. (1999). Survey of canine and feline follicular tumors and tumour like lesions in central Italy, *J Anim Pract*, 40(10), 479-481.

Alleman, R. A. & Choi, U. S. (2010). Endocrine System. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canin and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2ª Ed., pp. 383-395). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Allisson, W. R. (2014). Subcutaneous Glandular Tissue: Mammary, Salivary, Thyroid, and Parathyroid. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 110-117). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Avallone, G., Boracchi, P., Stefanello, D., Ferrari, R., Rebughini, A. & Roccabianca, P. (2014). Canine Perivascular Wall Tumors: High Prognostic Impact of Site, Depth, and Completeness of Margins. *Vet Pat*, 51(4), 713-721.

Avallone, G., Helmbold, P., Caniatti, M., Stefanello, D., Nayak, R. C. & Roccabianca, P. (2007). The Spectrum of Canine Cutaneous Perivascular Wall Tumors: Morphologic, Phenotypic and Clinical Characterization. *Vet Pat*, 44(5), 607-62.

Bain, J. P., Barger, M. A. & MacNeill, L. A. (2017). Cytology of Skin and Subcutaneous Tissue. In: Barger, A. M. & MacNeill *Small Animal Cytologic Diagnosis* (1ª Ed., pp.113-153). Boca Raton, FL.

Bergman, J. P., Kent, S. M. & Farese, P. J. (2013). Melanoma. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 321-334). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Burkhard, J.M. & Millward, M. L. (2010). Respiratory Tract. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canin and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2ª Ed., pp. 136-137). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Burkhard, M. J. & Bienzle, D. (2015). Making sense of Lymphoma Diagnostics in Small Animal Patients, *Clin Lab Med*, 35, 591-607.

Camus, M. S., Priest H. L., Koehler J.W., Driskell E. A., Rakich P. M., Ilha M. R. & Krimer P.M. (2016). Cytologic Criteria for Mast Cell Tumor Grading in Dogs with Evaluation of Clinical Outcome. *Vet Pathol*.53(6), 1117-1123

Camus, S. M. (2017). Oral Cavity Cytology. In: Barger, A. M. & MacNeill, *Small Animal Cytologic Diagnosis* (1ª Ed., pp. 548-552). Boca Raton, FL.

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.

Cohen, M., Bohling, M. W., Wright, J. C., Welles, E.A. & Spano, J. S (2003). Evaluation of Sensitivity and specificity of cytologic examination: 269 cases (1999-2000). *J Am Vet Med Assoc*,222(7), 964-967.

Christopher, M. M., Hotz, S. C., Shelly, M. S. & Pion, D. P. (2008). Use of cytology as a diagnostic method in veterinary practice and assessment of communication between veterinary prationers and veterinary clinical pathologists. *J Am Vet Med Assoc*, 232(5), 747-754.

Clliford, C. A., Skorupski, A. K. & Moore, F. P. (2013). Histiocytic Diseases. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 706-714). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Comazzi, S & MacNeill, L. A. (2017). Cytology of Lymphoid Tissue. In: Barger, A. M. & MacNeill, *Small Animal Cytologic Diagnosis* (1ª Ed., pp.367-421). Boca Raton, FL.

DeNicola, B.D (2014). Round Cells. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 70-79). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Dunn, J. (2014). Cytology of Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In: J. Dunn, *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat* (1ª Ed., pp. 65-73). West Sussex, UK. Wiley, Blackwell.

Ehrhart, P. N., Ryan, D. S. & Fan, M. T. (2013). Tumors of the Skeletal System. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 463). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

England, C. W. G. & Friedrichs, R. K. (2014). Cytology of the Male and Female Genital Tracts. In: J. Dunn, *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat* (1ª Ed., pp. 214-275). West Sussex, UK. Wiley, Blackwell.

E. F. Leidinger, E. F; Freeman, K; Kirtz, G; Hooijberg, E. H; Sick, K (2014). Breed related odds ratio and anatomic distribution of canine mast cell tumours in Austria. Retrospective study of cases in the years 2000–2010. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 62(6): 367-373.

Fielder, E. S. (2014). The Musculoskeletal System. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 218-221). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Fisher, J. D. (2014). Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 102-109). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Friedrichs, R. K. & Young, M. K. (2013). Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 117-127). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Garret, L., Berent, L. & Barger, M. A. (2017). Sample Acquisition and Preoaration. In: Barger, A. M. & MacNeill, *Small Animal Cytologic Diagnosis* (1ª Ed., pp. 44-45). Boca Raton, FL.

Ghisleni, G., Roccabianca, P., Ceruti, R., Stefanello, D., Bertazzolo, W., Bonfanti, U., & Caniatti, M. (2006). Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol*, 35(1): 24-30.

Grimes, N. C., Fry, M. M., LeBlanc, J. C. & Hecht, S. (2014). The Lung and Intrathoracic Structures. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 305-306). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Hauck, L. M. (2013). Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 313-328). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Hosseini *et al.* (2014). Cutaneous mast cell tumor (Mastocytoma): Cyto-histopathological and hematological investigations, *Diagn Pathol*, 20, 9-9.

Jennifer L. Brazzell. (2010). *How to get the most out of your cytologic sample: Collection and processing techniques*, Reference Point.

Johnson, C. M. & Myers, N. A. (2017). Cytology of Skin Neoplasms. *Vet Clin Small Anim*, 47, 85-110.

Jong-Hyuk Kim, J. H., Graef, J. A., Dickerson, B. E. & Modiano, F. J. (2015). Pathobiology of Hemangiosarcoma in Dogs: Research Advances and Future Perspectives. *Vet Sci*, 2(4), 388-405.

Kim, J. H., Graef, J. A., Dickerson, B. E. & Modiano, F. J. (2015). Pathobiology of Hemangiosarcoma in Dogs: Research Advances and Future Perspectives. *Vet Sci*, 6;2(4), 288-405.

Leidinger, E. F; Freeman, K. G; Hooijberg, E. H & Sick, K. (2014). Breed related odds ratio and anatomic distribution of canine mast cell tumours in Austria. Retrospective study of cases in the years 2000–2010. *Tierärztliche Praxis Kleintiere*, 42(6), 367-373.

Liffman, R. & Courtman, N. (2017). Fine needle aspiration of abdominal organs: review of current recommendations for achieving a diagnostic sample. *J Small Anim Pract*, 58(11), 599-609.

Liptak, M. J. & Forrest, J. L. (2013). Soft Tissue Sarcomas. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5^a Ed., pp. 359). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Liptak, M. J. & Withrow, J. S. (2013). Cancer of the Gastrointestinal Tract. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5^a Ed., pp. 381-431). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

London, C. A. & Thamm, H. D. (2013). Mast Cell Tumors. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5^a Ed., pp. 335-355). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Masserdotti, C., Bonfanti, U., De Lorenzi, D., Traquillo, M. & Zanetti, O. (2005). Cytologic features of testicular tumours in dog, *J Vet Med*, 52(7), 339-346.

Mauldin, A. E & Peters-Kennedy, J. (2016). Integumentary System In: F. V. K. Jubb, C. P. Kennedy & C. N. Palmer, *Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals*, Vol. 1(6^a Ed., pp.663). St. Louis, Missouri. Elsevier.

Meinkoth, H. J., Cowell, L. R & Tyler, R. D. (2014). Cell Types and Criteria of Malignancy. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4^a Ed., pp. 32-33). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Meinkoth, H.J., Cowell, L.R., Tyler, D.R & Morton, J.R. (2014). Sample collection and preparation. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's*

Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat (4^a Ed., pp. 1-19). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Meyer, J. D., Connolly, L. S. & Heng, G. H. (2010). The acquisition and Management of Cytology Specimens. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2^a Ed., pp. 1-14). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Mischke, R. (2014). Cytology of Mammary Gland Lesions. In: J. Dunn, *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat* (1^a Ed., pp. 231-246). West Sussex, UK. Wiley, Blackwell.

Moirano, S.J., Lima, S. F., Hume, K.R. & Brodsky, E.M. (2017). Association of prognostic features and treatment on survival time of dogs with systemic mastocytosis: A retrospective analysis of 40 dogs. *Vet Comp Oncol*, 16(1), 194-201.

Nishiya, A. T., Massoco, O. C., Felizzola, R. C., Perlmann, E., Batschinski, K., Tedardi, V. M., Garcia, S. J. Mendonça, P. P., Teixeira, F. T. & Dagli, Z. L. M. (2016). Comparative Aspects of Canine Melanoma, *Veterinary Sciences*, 3(1), 7.

Ramos-Vara, A. J., Avery, C. A & Avery, R. P. (2010). Advanced Diagnostic Techniques. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2^a Ed., pp. 395-434). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Raskin, R. E. (2010). General Categories of Cytologic Interpretation. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2^a Ed., pp. 15-25). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Raskin, R. E. (2010). Skin and Subcutaneous Tissues. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2^a Ed., pp. 26-76). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Rebar, A. H. & Thompson, C. A. (2010). Body Cavity Fluids. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canin and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2ª Ed., pp. 171-191). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Schnelle, N. A. (2017). Musculoskeletal Cytology. In: Barger, A. M. & MacNeill, *Small Animal Cytologic Diagnosis* (1ª Ed., pp. 384-408). Boca Raton, FL.

Sharkey, C. L., Seelig, M. D. & Overmann, J. (2014). All Lesion Great and Small, Part 1: *Diagn Cytopathol in Vet Med*, 42(6), 535-543.

Sharkey, C. L., Dial, M. S. & Matz, E. M. (2007). Maximizing the Diagnostic Value of Cytology in Small Animal Practice, *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 37(2), 351-372.

Simon, D; Schoenrock, D; Nolte, I; Baumgartner, W; Barron, R & Mischke, R. (2009). Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. *Vet Clin Pathol*, 38(4), 521–528.

Skeldon, N. & Dewhurst, E. (2009). The perceived and actual diagnostic utility of veterinary cytological samples. *J Small Anim Pract*, 50, 180-185.

Pargass, I., Bally, A & Suepal, R. (2017). Oral Plasmocytoma in a Dog. *Vet sci*, 4, 68, 1-5.

Sabattini, S., Bottero, R., Turba, E. M., Vicchi, F., Bo, S & Bettini, G. (2016). Differentiating feline inflammatory bowel disease from alimentary lymphoma in duodenal endoscopic biopsies. *J Small Anim Pract*, 57, 396-401.

Solano–Gallego, L. (2010). Reproductive System. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canin and Feline Cytology: A Color Atlas and Interpretation Guide* (2ª Ed., pp. 274-315). St. Louis, Missouri: Saunders, Elsevier.

Souza, M. H. C. (2013). Thymoma. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 688-691). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Tennant, K. (2014). General Principles of Cytological Interpretation. In: J. Dunn, *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat* (1ª Ed., pp. 17-32). West Sussex, UK. Wiley, Blackwell.

Turek, M. M. & Withrow, J. S. (2013). Cancer of the Gastrointestinal Tract – Perianal Tumors. In: S. J. Withrow., D. M. Vail & R. L. Page, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Ed., pp. 706-714). St. Louis, Missouri. Elsevier Saunders.

Tvedten, H (2012). Cytology of Inflammatory or Neoplastic Masses. In: M. D. Willard & H. Tveden, *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* (5ª Ed., pp. 337-363). Missouri. Saunders, Elsevier.

Vabornik, S. & Nabity, B. M. (2014). Male Reproductive Tract: Prostate Testes, Penis and Semen. In: R. L. Cowell & A. C. Valenciano, *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (4ª Ed., pp. 436-445). St. Louis, Missouri: Mosby, Elsevier.

Whitney, M. S. & Berent, L. M. (2009). The Cytology of Neoplasia. In: C. J Henry & M. L. Higginbotham, *Cancer Management in Small Animal Practice* (1ª Ed; pp. 47-58). Saunders Elsevier. Missouri. USA.