

FRANCISCO ANTÓNIO CRAVO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA
CONCORDÂNCIA ENTRE CITOLOGIA INTERNA
E HISTOLOGIA EM LESÕES SUSPEITAS DE
NEOPLASIA EM CÃES:
ESTUDO RETROSPETIVO DE CINCO ANOS.**

Orientadora: Professora Doutora Joana Tavares de Oliveira

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Ana Rita Serras

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2018

FRANCISCO ANTÓNIO CRAVO

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA
CONCORDÂNCIA ENTRE CITOLOGIA INTERNA E
HISTOLOGIA EM LESÕES SUSPEITAS DE
NEOPLASIA EM CÃES:
ESTUDO RETROSPECTIVO DE CINCO ANOS.**

Dissertação defendida em provas públicas para obtenção do Grau de Mestre no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, segundo o Despacho Reitoral N° 230/2018, perante a seguinte composição de Júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professor Doutor Rui Pedro Faísca

Orientadora: Professora Doutora Joana Tavares de Oliveira

Vogal: Professora Doutora Ana Maria Munhoz

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2018

The greatness of a nation and its moral progress can be judged by the way its animals are treated.

Mahatma Gandhi

Dedicatória

Ao meu avô materno, Francisco Cravo, pelos valores que pautam a minha vida, pelo carinho e apoio incondicional.

Obrigado por sempre teres acreditado em mim.

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, na pessoa da sua Diretora, Professora Doutora Laurentina Pedroso, pela possibilidade de realização desta Dissertação de Mestrado.

À Professora Doutora Joana Oliveira pela dedicação, apoio e orientação na realização desta dissertação. Os conhecimentos veiculados foram indispensáveis à realização desta tese.

À Prof.^a Dra Ana Rita Serras pelos ensinamentos transmitidos, pelas oportunidades de aprendizagem facultadas, pelo ânimo e pela imensa vontade de ajudar.

À Dra. Cristina Lemos Costa pela oportunidade e disponibilidade em orientar o meu estágio na VetSet. Por tudo o que me ensinou, pelo apoio, carinho, preocupação e valores transmitidos, e por toda a paciência, contribuindo para a minha formação pessoal e profissional.

Aos Médicos Veterinários da Vetset, Dra. Ana Lanita, Dra. Ana Maurício, Dr. Hugo David, Dra. Vanda Santos, Dra. Débora Tecelão e Dra. Marlene Jorge que, com grande dedicação, me guiaram ao longo do meu estágio, respondendo a todas as minhas dúvidas, permitindo-me aprofundar e pôr em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

Às auxiliares da VetSet, Glória Rosa, Cristina Rafael, Christelle, Rute Viegas, Margarida Soares e Rita Santos, que de sorriso aberto me receberam, sempre me incentivaram e me ajudaram quando necessitei.

Aos meus amigos e colegas, pelo vosso apoio e amizade nos bons e maus momentos, em especial ao José Catarino, ao Afonso Moura, ao Gonçalo Rosa, ao Gonçalo Lopes, ao João Souto, ao João Correia, à Ana Beatriz dos Santos e à Filipa Lúcio pela ajuda que me deram, facilitando a minha integração na Lusófona.

Ao Professor Doutor Pedro Faísca, pela forma exemplar como me acolheu na Lusófona, permitindo-me assimilar o funcionamento da faculdade e do curso.

A todos os professores pelos conhecimentos, teóricos e práticos, veiculados no decorrer do meu curso, pelos valores transmitidos, nunca descurando o respeito e a simpatia.

Aos meus pais, sem vocês nada seria possível, estiveram sempre ao meu lado, comigo nos bons momentos, tornando-os ainda melhores e inesquecíveis, e nas más épocas, amparando-me a queda. Nunca me esquecerei disso. Eternamente grato.

Aos meus avós maternos por acreditarem sempre em mim e me tratarem com respeito e carinho.

Resumo

A frequência de neoplasias em animais de companhia tem registado um aumento nas últimas décadas, assumindo a citologia e a histologia um papel fulcral no seu diagnóstico.

O presente estudo retrospectivo teve como objetivo determinar se existem diferenças significativas na obtenção do diagnóstico oncológico recorrendo ao exame citológico, realizado internamente por um médico veterinário não especializado do corpo clínico, e ao exame histológico (*gold standard*), efetuado externamente em laboratório de referência. Foram analisadas 49 lesões, das quais 42 neoplasias, existentes em cães presentes a consulta no período compreendido entre 1 de janeiro de 2012 e 31 de dezembro de 2016. Estes foram submetidos concomitantemente a citologia, realizada no hospital VetSet, e histologia, efetuada no Laboratório de Investigação Científica e Análises Moleculares (DNAtech), em Lisboa.

A concordância entre os diagnósticos citológicos e histológicos observou-se em menos de metade dos casos, 48,98%, na classificação das lesões como neoplásicas ou não neoplásicas, 28,57% na diferenciação de neoplasias benignas e malignas e apenas 47,62% quando a análise comparativa se refere ao tipo celular da lesão neoplásica (epitelial, mesenquimatosa, discreta de células redondas e melanoma).

As neoplasias em que se registou uma maior percentagem de concordância total dos dois exames foram o adenoma das glândulas hepatóides, o sarcoma de tecidos moles (indiferenciado e perivascular), os mastocitomas e o carcinoma mamário.

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

Abstract

The frequency of neoplasms in companion animals has increased in recent decades, with cytology and histology playing a key role in their diagnosis.

The present retrospective study had as objective to determine if there are significant differences in obtaining the oncological diagnosis using a cytological examination performed internally by a non-specialized veterinarian of the clinical body and histological (gold standard) exams, carried out externally in a laboratory of reference.

A total of 49 lesions were analyzed, including 42 cancers in dogs present to consultation in the period between January 1, 2012 and December 31, 2016. These were submitted to cytology at the VetSet Hospital and histology was performed at the Laboratory of Scientific Research and Molecular Analysis (DNAtech) in Lisbon.

The concordance between the cytological and histological diagnoses was observed in less than half of the cases, 48.98%, in the definition of the lesions as neoplastic or non-neoplastic, 28.57% in the differentiation of benign and malignant neoplasms and only 47.62% when the comparative analysis refers to the cellular type of the neoplastic lesion (epithelial, mesenchymal, discrete round cell and melanoma).

The neoplasms with a higher percentage of total consonance of the two exams were adenoma of the hepatocellular glands, soft tissue sarcoma (undifferentiated and perivascular), mastocytomas and mammary carcinoma.

Keywords: cytology; histology; oncology; neoplasia.

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EDTA – Ácido etilenodiaminotetracético

G – Gauge

H&E – Hematoxilina e Eosina

IHQ – Imunohistoquímica

mL – Mililitro

N:C – Razão/rácio núcleo/citoplasma

NK – Natural Killer

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PNAAF – Punção não aspirativa por agulha fina

RNA – Ácido ribonucleico

TAC – Tomografia axial computadorizada

TVT – Tumor venéreo transmissível

Índice Geral

I. DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR	16
1 Hospital Veterinário VetSet	16
2 Casuística observada durante o estágio	17
2.1 Distribuição da casuística por espécie e sexo	17
2.2 Distribuição da casuística na área de clínica médica	18
2.3 Distribuição da casuística na área de clínica cirúrgica	19
2.4 Meios complementares de diagnóstico	20
II. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO	21
1 Introdução	21
1.1 Citologia	22
1.1.1 Técnicas de colheita de amostras para análise citológica	22
1.1.1.1 Punção aspirativa por agulha fina	22
1.1.1.2 Punção não aspirativa por agulha fina	24
1.1.2 Obtenção de preparações para análise citológica – técnica de esfregaço	24
1.1.3 Envio das amostras citológicas	25
1.1.4 Exame e descrição das amostras citológicas	26
1.1.5 Interpretação de espécimes citológicos	26
1.1.6 Doenças neoplásicas e diagnóstico citológico	27
1.1.6.1 Neoplasias dos tecidos epiteliais	28
1.1.6.1.1 Neoplasias da epiderme	29
1.1.6.1.2 Neoplasias das glândulas	30
1.1.6.1.2.1 Neoplasias das glândulas salivares	30
1.1.6.1.2.2 Neoplasias das glândulas mamárias	30
1.1.6.1.2.3 Neoplasias da glândula perianal	30
1.1.6.1.2.4 Neoplasias da glândula apócrina do saco anal	31
1.1.6.1.2.5 Neoplasias da glândula prostática	31
1.1.6.1.3 Neoplasias do sistema urogenital	31
1.1.6.1.3.1 Carcinomas de células de transição	31
1.1.6.1.4 Neoplasias de órgãos	31
1.1.6.1.4.1 Neoplasias hepatocelulares	31
1.1.6.1.4.2 Neoplasias biliares	32
1.1.6.1.4.3 Neoplasias do pâncreas exócrino	32
1.1.6.1.4.4 Carcinomas renais	32
1.1.6.1.4.5 Carcinomas pulmonares ou adenocarcinomas pulmonares	33
1.1.6.1.4.6 Timoma e carcinoma tímico	33
1.1.6.1.4.7 Carcinomas nasais e adenocarcinomas	33
1.1.6.1.4.8 Neoplasias gastrointestinais	33
1.1.6.1.4.9 Neoplasias endócrinas e neuroendócrinas	33
1.1.6.1.4.10 Carcinomas da tireóide	34

1.1.6.1.4.11	Neoplasias da paratiróide	34
1.1.6.1.4.12	Quimiodectomas	34
1.1.6.1.4.13	Neoplasias adrenais corticais e medulares	34
1.1.6.1.4.14	Insulinomas	35
1.1.6.2	Neoplasias dos tecidos mesenquimais	35
1.1.6.2.1	Neoplasias de fibroblastos	35
1.1.6.2.2	Neoplasias da parede perivascular ou da bainha do nervo	36
1.1.6.2.3	Neoplasias do endotélio vascular	36
1.1.6.2.4	Neoplasias do tecido adiposo	36
1.1.6.2.5	Neoplasias mesenquimais compostas por células finas alongadas	37
1.1.6.2.5.1	Neoplasias do músculo liso e estroma	37
1.1.6.2.5.2	Neoplasias do músculo estriado	37
1.1.6.2.6	Neoplasias mesenquimais compostas por células redondas ou ovais	38
1.1.6.2.6.1	Neoplasias de origem óssea	38
1.1.6.2.6.2	Neoplasias dos condrócitos	38
1.1.6.2.6.3	Neoplasias das células sinoviais	38
1.1.6.2.6.4	Neoplasias dos melanócitos	38
1.1.6.3	Neoplasias de células redondas	39
1.1.6.3.1	Mastocitomas	40
1.1.6.3.2	Plasmocitomas	40
1.1.6.3.3	Linfomas	41
1.1.6.3.4	Neoplasias de origem histiocítica	42
1.1.6.3.4.1	Histiocitoma cutâneo	42
1.1.6.3.4.2	Sarcomas histiocíticos de linhagens dendríticas e de macrófagos	42
1.1.6.3.5	Tumor venéreo transmissível (TVT)	43
1.1.7	Avaliação citológica de linfonodos	43
1.1.8	Vantagens e desvantagens do exame citológico	43
1.2	Histologia	45
1.2.1	Métodos de biópsia	46
1.2.1.1	Biópsia por agulha	46
1.2.1.2	Biópsia incisional	47
1.2.1.3	Biópsia excisional	48
1.2.2	Recolha de tecidos, marcação de margens e fixação	48
1.2.3	Doenças neoplásicas e diagnóstico histológico	49
1.2.3.1	Neoplasias dos tecidos epiteliais	49
1.2.3.1.1	Neoplasias das células basais	49
1.2.3.1.2	Neoplasias da epiderme	49
1.2.3.1.3	Neoplasias das glândulas	50
1.2.3.1.3.1	Neoplasias das glândulas salivares	50
1.2.3.1.3.2	Neoplasias da glândula perianal	50
1.2.3.1.3.3	Neoplasias da glândula apócrina do saco anal	50
1.2.3.1.4	Neoplasias de órgãos	51
1.2.3.1.4.1	Neoplasias hepatocelulares	51
1.2.3.1.4.2	Neoplasias biliares	51
1.2.3.1.4.3	Neoplasias do pâncreas exócrino	51
1.2.3.1.4.4	Carcinomas renais	52

1.2.3.1.4.5	Carcinomas pulmonares ou adenocarcinomas pulmonares	52
1.2.3.1.4.6	Carcinoma tímico	52
1.2.3.1.4.7	Carcinomas nasais e adenocarcinomas	52
1.2.3.1.4.8	Neoplasias gastrointestinais	53
1.2.3.1.4.9	Carcinomas da tiróide	53
1.2.3.1.4.10	Neoplasias da paratiróide	53
1.2.3.1.4.11	Neoplasias adrenais corticais e medulares	53
1.2.3.1.4.12	Insulinomas	54
1.2.3.2	Neoplasias dos tecidos mesenquimais	54
1.2.3.2.1	Neoplasias de fibroblastos	54
1.2.3.2.2	Neoplasias da parede perivascular ou da bainha do nervo	54
1.2.3.2.3	Neoplasias do endotélio vascular	55
1.2.3.2.4	Neoplasias do tecido adiposo	55
1.2.3.2.5	Neoplasias mesenquimais compostas por células finas alongadas	55
1.2.3.2.5.1	Neoplasias do músculo liso e estroma	55
1.2.3.2.5.2	Neoplasias do músculo estriado	56
1.2.3.2.6	Neoplasias mesenquimais compostas por células redondas ou ovais	56
1.2.3.2.6.1	Neoplasias de origem óssea	56
1.2.3.2.6.2	Neoplasias dos condrócitos	56
1.2.3.2.6.3	Neoplasias das células sinoviais	57
1.2.3.2.6.4	Neoplasias dos melanócitos	57
1.2.3.3	Neoplasias de células redondas	57
1.2.3.3.1	Mastocitomas	57
1.2.3.3.2	Plasmocitomas	58
1.2.3.3.3	Linfomas	58
1.2.3.3.4	Neoplasias de origem histiocítica	58
1.2.3.3.4.1	Histiocitoma cutâneo	58
1.2.3.3.4.2	Sarcomas histiocíticos de linhagens dendríticas e de macrófagos	59
1.2.3.3.5	Tumor venéreo transmissível (TVT)	59
1.2.4	Vantagens e desvantagens do exame histológico	59
2	Objetivos	61
3	Materiais e métodos	62
3.1	Material	62
3.2	Métodos	62
3.2.1	Critérios de seleção	62
3.2.2	Consulta dos relatórios citológicos, histológicos e das fichas clínicas	62
3.2.3	Análise estatística	64
4	Resultados	66
4.1	Caracterização da amostra estudada	66
4.1.1	Raça	67
4.1.2	Sexo (machos/fêmeas; castrados/inteiros)	67
4.1.3	Idade	67

4.2	Caracterização geral das lesões	68
4.2.1	Localização	68
4.2.2	Dimensões	69
4.2.3	Ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação	69
4.3	Exame citológico	70
4.3.1	Método de recolha	70
4.3.2	Preservação, coloração e celularidade da amostra	71
4.3.3	Crítérios celulares, citoplasmáticos e nucleares de malignidade	71
4.3.4	Diagnóstico citológico	72
4.4	Exame histológico	73
4.4.1	Método de recolha	74
4.4.2	Inflamação, necrose, encapsulamento e hemorragia	74
4.4.3	Características histológicas	74
4.4.4	Número de mitoses por dez campos de observação	75
4.4.5	Diagnóstico histológico	75
4.5	Análise comparativa entre os exames citológico e histológico	76
4.5.1	Tipo de lesão – neoplásica/não neoplásica	77
4.5.2	Tipo celular	77
4.5.3	Carácter da neoplasia – benigna/maligna	78
4.5.4	Tipo celular e carácter das lesões	78
5	Discussão	81
6	Conclusão	90

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Distribuição relativa da casuística por espécie e sexo.	17
Tabela 2 – Distribuição relativa dos animais exóticos acompanhados.	17
Tabela 3 – Distribuição relativa da casuística na área da clínica médica.....	18
Tabela 4 – Distribuição relativa na área da medicina preventiva e clínica geral em função do procedimento e da espécie.	18
Tabela 5 – Distribuição relativa dos tratamentos e reavaliações.	19
Tabela 6 – Distribuição relativa das intervenções cirúrgicas assistidas/praticadas.	19
Tabela 7 – Distribuição relativa dos meios complementares de diagnóstico.....	20
Tabela 8 – Fatores a considerar na planificação de uma biópsia. Fonte: adaptado de Morris & Dobson (2001).....	46
Tabela 9 – Critérios celulares, citoplasmáticos e nucleares de malignidade observados.	71
Tabela 10 – Análise comparativa – tipo celular e carácter da neoplasia.	79
Tabela 11 – Análise comparativa das neoplasias.	80

Índice de Figuras

Figura 1 – Classificação das neoplasias com base no exame citológico. Fonte: adaptado de Dobson & Lascelles (2003). 28

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição relativa das neoplasias observadas quanto à raça.	66
Gráfico 2 – Distribuição relativa das neoplasias observadas quanto ao sexo.	66
Gráfico 3 – Distribuição absoluta da localização anatómica das lesões.	68
Gráfico 4 – Distribuição absoluta da presença de ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação.	68
Gráfico 5 – Tipo de lesão.	70
Gráfico 6 – Frequência relativa do tipo de neoplasia.	70
Gráfico 7 – Número de mitoses por 10 campos de observação.....	73
Gráfico 8 – Frequência relativa do tipo de lesão.....	73
Gráfico 9 – Frequência relativa do tipo de neoplasia.	74
Gráfico 10 – Análise comparativa – tipo de lesão.	76
Gráfico 11 – Análise comparativa – tipo celular da neoplasia.	76
Gráfico 12 – Análise comparativa – carácter da neoplasia.	76
Gráfico 13 – Análise comparativa – tipo celular e carácter da neoplasia.	77

I. DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias de Lisboa foi realizado no Hospital Veterinário VetSet, hospital de animais de companhia e exóticos, em Palmela.

Sob a orientação da Dra. Cristina Lemos Costa, iniciou-se no dia 12 de setembro de 2016 e finalizou a 30 de abril de 2017.

Os objetivos inerentes ao mesmo foram a aplicação prática dos conhecimentos adquiridos ao longo do curso e a aquisição/aprofundamento de novos conhecimentos e competências indispensáveis ao exercício da atividade profissional, através do acompanhamento da rotina médico-veterinária em ambiente hospitalar.

No decurso do estágio, sob a supervisão de médicos veterinários, participei ativamente em consultas de rotina, especialidade e de urgência, intervenções cirúrgicas e no acompanhamento de animais internados.

Relativamente às consultas, assisti e colaborei na realização da anamnese e do exame físico, bem como em procedimentos e exames complementares de diagnóstico.

A nível da medicina cirúrgica, estive presente em consultas pré-cirúrgicas, nos atos cirúrgicos (anestesista, ajudante e cirurgia) e nas avaliações pós-cirúrgicas.

No internamento, auxiliei na monitorização dos animais e na realização dos procedimentos médico-veterinários.

1 Hospital Veterinário VetSet

A clínica VetSet, em Palmela, foi inaugurada em 1996 pela Doutora Cristina Lemos Costa. Posteriormente, foi fundado o Hospital Veterinário VetSet, no mesmo concelho e sob a mesma gestão, apresentando atualmente um corpo clínico composto por cinco médicos veterinários e quatro auxiliares.

Providencia serviços em diferentes áreas, nomeadamente: profilaxia (vacinação, desparasitação interna e externa, aconselhamento dietético e manejo, entre outros); consultas de animais de companhia e exóticos (clínica geral e várias especialidades), em meio hospitalar e ao domicílio; cirurgia geral e ortopédica; imagiologia (radiografia digital simples e com técnicas de contraste, ecografia e ecocardiografia); dentisteria; medicina de reabilitação;

internamento; tratamentos. Possui, ainda um serviço de banho e tosquias e serviço fúnebre. As urgências encontram-se disponíveis 24 horas por dia e 365 dias por ano.

2 Casuística observada durante o estágio

A casuística apresentada reporta-se aos casos clínicos observados no decurso do estágio. Como o mesmo animal pode ter sido abordado em mais do que uma especialidade clínica, sido submetido a exames complementares de diagnóstico, cirurgia e/ou internamento, o total de casos por especialidade será superior ao número de animais examinados.

2.1 Distribuição da casuística por espécie e sexo

No que concerne à distribuição casuística por espécie e sexo (Tabela 1), verifica-se o predomínio dos canídeos (68,8%), seguidos dos felídeos (28,8%), tendo sido observados mais machos do que fêmeas em ambas as espécies.

Tabela 1 – Distribuição relativa da casuística por espécie e sexo.

Animais	Percentagem	Sexo	Percentagem
Canídeos	68,8%	Machos	50,4%
		Fêmeas	49,6%
Felídeos	28,8%	Machos	55,4%
		Fêmeas	44,6%
Exóticos	2,5%		

Relativamente aos animais exóticos (Tabela 2), que representam apenas 2,5% dos pacientes acompanhados, foram assistidos animais pertencentes aos lagomorfos, aves, roedores, répteis e suínos.

Tabela 2 – Distribuição relativa dos animais exóticos acompanhados.

Exóticos	Percentagem
Lagomorfos	35,5%
Aves	25,8%
Roedores	12,9%
Répteis	12,9%
Suínos	12,9%

2.2 Distribuição da casuística na área de clínica médica

Na área de clínica médica (Tabela 3), a medicina preventiva e clínica geral assume o maior valor (52,7%), seguida das reavaliações/tratamentos (46,9%). As consultas de especialidade correspondem apenas a 0,5% do total dos atos presenciados (ortopedia – 80%; cardiologia – 20%).

Tabela 3 – Distribuição relativa da casuística na área da clínica médica.

Clínica Médica	Percentagem
Medicina Preventiva e Clínica Geral	52,7%
Reavaliações/Tratamentos	46,9%
Consultas de Especialidade	0,5%

Na medicina preventiva e clínica geral (Tabela 4), as consultas e a vacinação constituem os procedimentos mais comuns. No que respeita à identificação eletrónica, esta foi unicamente efetuada em cães (2,2%), o que pode ser justificado pela obrigatoriedade da aplicação do Decreto-Lei n.º 313/2003, de 17 de dezembro.

Tabela 4 – Distribuição relativa na área da medicina preventiva e clínica geral em função do procedimento e da espécie.

Medicina Preventiva e Clínica Geral	Canídeos	Felídeos	Exóticos
Consulta	54,7%	54,0%	60,0%
Vacinação	40,2%	42,9%	33,3%
Desparasitação	2,9%	3,1%	6,7%
Identificação eletrónica	2,2%	0,0%	0,0%

No que se refere aos tratamentos e reavaliações (Tabela 5), onde estão inseridos os procedimentos efetuados após as cirurgias e as intervenções que não tendo ocorrido no espaço da consulta propriamente dita advieram da mesma, destacam-se as reavaliações (72,9%), a remoção de grafos ou suturas (7,5%) e a realização de pensos (6,5%).

Tabela 5 – Distribuição relativa dos tratamentos e reavaliações.

Procedimento	Percentagem
Reavaliação	72,9%
Remoção de pontos/agrafos	7,5%
Pensos	6,5%
Fluidoterapia	3,5%
Ocisão	2,5%
Algaliação	0,2%
Outros	6,9%

2.3 Distribuição da casuística na área de clínica cirúrgica

A análise da tabela 6, alusiva à casuística da área de clínica cirúrgica, permite constatar que as intervenções mais frequentes foram as cirurgias de tecidos moles, sendo a ovariectomia (48,9%) e a orquiectomia (15,2%) os procedimentos mais representativos.

As pequenas cirurgias e as cirurgias ortopédicas constituem 18,5% e 6,5%, respetivamente, de todos os atos cirúrgicos efetuados.

Tabela 6 – Distribuição relativa das intervenções cirúrgicas assistidas/praticadas.

Intervenções Cirúrgicas	Percentagem	Intervenções Cirúrgicas	Percentagem
Cirurgias Ortopédicas	6,5%	Cirurgias Ortopédicas	6,5%
Cirurgias dos Tecidos Moles	75,0%	Ovariectomias	48,9%
		Orquiectomias	15,2%
		Hérnias	3,3%
		Oftalmologia	1,1%
		Aparelho Gastrointestinal	1,1%
		Aparelho Urinário	1,1%
		Mastectomias	1,1%
		Outras	3,3%
		Higiene Oral	6,5%
Pequenas Cirurgias	18,5%	Pele	5,4%
		Biópsias	5,4%
		Outras	1,1%

2.4 Meios complementares de diagnóstico

Em relação aos meios complementares de diagnóstico (Tabela 7), as análises sanguíneas representam os exames mais realizados (47,3%), assumindo um lugar de destaque em relação aos restantes, seguidas dos exames radiográficos (19,4%) e ecográficos (16,5%).

Tabela 7 – Distribuição relativa dos meios complementares de diagnóstico.

Exames/Procedimentos	Percentagem
Análises sanguíneas	47,3%
Radiografias	19,4%
Ecografias	16,5%
Testes rápidos	3,9%
Citologias	3,6%
Análises de urina	2,9%
Eletrocardiogramas	2,5%
Ecocardiogramas	1,8%
Zaragatoas	0,7%
Pressão arterial	0,4%
Endoscopia	0,4%
Outros	0,7%

II. DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

1 Introdução

As neoplasias estão bem patentes na prática clínica do médico veterinário. A sua incidência nos animais de companhia tem registado um aumento, devido, em parte, ao acréscimo na esperança média de vida, consequência dos progressos verificados nos cuidados oferecidos pelos donos e no tratamento médico propiciado (Withrow *et al.*, 2013; Biller *et al.*, 2016).

A obtenção precoce de um diagnóstico definitivo preciso é de extrema importância no planeamento da terapêutica a adotar, tendo como objetivos um aumento do tempo de sobrevivência do paciente e a melhoria da sua qualidade de vida (North & Banks, 2009).

A definição prévia do tipo e grau da neoplasia, a avaliação das suas dimensões e extensão anatómica, o seu estadiamento, a deteção de possíveis complicações relacionadas com a lesão e a investigação de qualquer transtorno concomitante podem influenciar o plano de tratamento e o prognóstico (Morris & Dobson, 2001).

Os exames citológico e histológico, complementares e não exclusivos, assumem um papel importante na definição do diagnóstico, pelo que a compreensão das suas vantagens e desvantagens se revela preponderante para a formulação de um plano de tratamento adequado, fornecendo informações sobre o comportamento biológico da lesão e prognóstico do animal (Shearer, 2003; Meinkoth *et al.*, 2008).

1.1 Citologia

Exame microscópico das células, dispostas individualmente ou em pequenos grupos, extraídas de tecidos, órgãos ou efusões (Argyle & Milne, 2008). Assume papel importante em oncologia veterinária, contribuindo para a classificação das lesões, realização de um diagnóstico preliminar ou definitivo, determinação do prognóstico e da terapêutica a adotar e detecção da recorrência e da resposta ao tratamento (Friedrichs & Young, 2013; Raskin, 2016).

As amostras citológicas podem ser classificadas em cinco categorias: tecido normal ou hiperplásico; resposta a lesões tecidulares; massa cística; inflamação ou infiltrado celular; neoplasia (Raskin, 2016).

Quando a população celular é monomórfica ou monotípica e não existe inflamação, o diagnóstico de processo neoplásico deve ser seguido pela identificação do tipo e determinação do carácter maligno ou benigno da mesma (Viadel & Morales, 2005; Raskin, 2016).

1.1.1 Técnicas de colheita de amostras para análise citológica

Na obtenção de material de elevado valor diagnóstico revela-se essencial o uso de práticas adequadas de recolha e preparação, constituindo as mesmas frequentemente um fator limitante do exame citológico (Tvedten, 2012; Friedrichs & Young, 2013).

As técnicas de colheita de amostras para análise citológica são a punção por agulha fina, aspirativa ou não aspirativa, a raspagem, a técnica de aposição/impressão e a recolha com auxílio de zaragatoa (Morris & Dobson, 2001; Meinkoth *et al.*, 2008).

1.1.1.1 Punção aspirativa por agulha fina

A técnica de punção aspirativa por agulha fina (PAAF), método mais utilizado na colheita de amostras citológicas, tem como objetivo a extração de células individuais ou em pequenos grupos, com o mínimo de hemodiluição (Villiers, 2003; Friedrichs & Young, 2013). Permite obter células de neoplasias sólidas, sendo apropriada para lesões de origem epitelial ou com estroma escasso, revelando-se menos adequada para lesões mesenquimais ou em que a presença de tecido conjuntivo é significativa (Argyle & Milne, 2008).

Face à possibilidade de disrupção do tumor, deve ser evitado o uso de anestésico local, sendo o procedimento habitualmente realizado com o animal consciente e sem sedação, excetuando-se os casos de pacientes não cooperantes (Argyle & Milne, 2008).

Após a imobilização do tumor, o local deve ser limpo com sabão cirúrgico ou álcool (Villiers, 2003; Argyle & Milne, 2008). A colheita em lesões menores é realizada geralmente com agulhas de pequeno calibre (22 a 25 G), restringindo a probabilidade de hemorragia

(Villiers, 2003; Friedrichs & Young, 2013). Na presença de matriz abundante (massas firmes e sarcomas), o recurso a agulhas de grande calibre (18 a 20 G) pode ser necessário, levando a que o conteúdo de sangue presente na amostra seja superior. A dimensão da agulha a utilizar deve ser maior quando a recolha é efetuada a partir de órgãos internos, permitindo aumentar a área de colheita e o campo de diagnóstico (Friedrichs & Young, 2013).

A consistência do tecido a recolher determina também a dimensão da seringa a utilizar. Em tecidos moles (linfonodos) é comumente usada uma seringa de 3mL, enquanto que tecidos firmes (fibromas e carcinomas de células escamosas) requerem uma seringa de maiores dimensões para assegurar uma pressão negativa adequada. Nas situações em que a textura do tecido é desconhecida, deve ser aplicada uma seringa de 12 mL (Meinkoth *et al.*, 2008).

A agulha e a seringa devem ser revestidas com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) antes da aspiração de tecidos vascularizados, por forma a diminuir o risco de formação de coágulos e o comprometimento da qualidade da amostra (Meyer, 2016).

Após a estabilização da massa, a agulha é inserida na lesão e, mantendo o vácuo, redireciona-se a mesma por forma a coletar uma amostra representativa das células da neoplasia (Meinkoth *et al.*, 2008; Tvedten, 2012; Friedrichs & Young, 2013). Terminada a aspiração, o vácuo é libertado e a agulha é removida do tecido. Posteriormente, a agulha é retirada da seringa e esta última é preenchida com ar. Os dois elementos são novamente acoplados, promovendo-se a expulsão do material recolhido para uma lâmina de vidro (Argyle & Milne, 2008; Meinkoth *et al.*, 2008; Tvedten, 2012; Friedrichs & Young, 2013; Meyer, 2016).

A sucção não deve ser aplicada mais do que alguns segundos. O recurso a uma pressão negativa prolongada ou força excessiva pode originar a rutura dos vasos e hemodiluição da amostra, impossibilitando o diagnóstico (Meinkoth *et al.*, 2008; Tvedten, 2012).

Quando não é possível mover ou redirecionar a agulha sem sair da massa, pode recorrer-se a um método de sucção intermitente. A agulha é inserida na lesão, onde permanece até cessar a sucção, sendo o êmbolo retirado e libertado alternadamente (Villiers, 2003).

A agulha não deve avançar através da massa para os tecidos circundantes, pois tal facto aumentaria o potencial de indução e disseminação de metástases tumorais. Este risco

também se encontra presente na punção não aspirativa por agulha fina (PNAAF) (Villiers, 2003).

A recolha da amostra pode ser efetuada com auxílio da fluoroscopia, da ultrassonografia e da tomografia axial computadorizada (TAC). O método de eleição na realização da PAAF é a ultrassonografia, devido à sua acessibilidade e portabilidade, permitindo a monitorização da posição da agulha em tempo real (Meyer, 2016). O uso de gel deve ser evitado pois pode interferir com o diagnóstico (Meinkoth *et al.*, 2008).

1.1.1.2 Punção não aspirativa por agulha fina

A PNAAF, também designada citologia por capilaridade ou citopuntura, produz amostras de celularidade igual ou superior à da PAAF e com menor teor de sangue, principalmente quando obtidas a partir de tecidos altamente vascularizados (Meinkoth *et al.*, 2008; Tvedten, 2012; Friedrichs & Young, 2013; Biller *et al.*, 2016; Meyer, 2016).

A agulha, fixada entre o polegar e o dedo médio e com a abertura superior obstruída pelo dedo indicador, evitando a libertação de sangue ou outros fluidos, é inserida, de forma rápida e repetida, com redireccionamento, na lesão, conduzindo ao empacotamento das células no eixo da agulha. Neste processo não é aplicada qualquer pressão negativa (Villiers, 2003; Meinkoth *et al.*, 2008; Friedrichs & Young, 2013).

A seleção deste método, em detrimento da PAAF, é condicionada pelo tipo de lesão. Assim, massas moles e gânglios linfáticos esfoliam normalmente bem sem sucção, enquanto que a esfoliação de massas firmes carece, em regra, de aspiração (Villiers, 2003).

1.1.2 Obtenção de preparações para análise citológica – técnica de esfregaço

Permite obter células dispostas numa camada única de espessura reduzida, sem rutura, assegurando uma boa visualização dos constituintes celulares. A técnica a aplicar depende do tipo e características da lesão e da experiência do preparador, sendo independente do método utilizado na obtenção da amostra (Meinkoth *et al.*, 2008; Friedrichs & Young, 2013).

Para material adquirido por PNAAF ou raspagem a partir de uma massa sólida, deve ser utilizada a técnica de esmagamento, possibilitando uma distribuição uniforme das células, mesmo quando agregadas, e uma melhor observação dos pormenores celulares. A maior desvantagem reside na possibilidade de rutura celular devido à pressão (Meinkoth *et al.*, 2008).

O material recolhido é depositado perto da extremidade duma lâmina de vidro limpa e o peso de uma segunda lâmina, colocada numa posição perpendicular sobre a primeira e deslizada ao longo da lâmina de base, é utilizado para espalhar o espécime cuidadosamente por forma a não exercer pressão sobre o mesmo (Meinkoth *et al.*, 2008; Friedrichs & Young, 2013). Contudo, pode ser aplicada uma pressão, ligeira e momentânea, se a amostra for muito granulosa ou espessa (Meinkoth *et al.*, 2008). A dispersão é efetuada de forma contínua a partir do momento que a lâmina superior entra em contacto com o material (Meyer, 2016).

O esfregaço pode também ser obtido por um processo idêntico ao do esfregaço sanguíneo, método indicado para populações celulares frágeis, originando amostras geralmente formadas por células intactas, bem dispersas. O material é colocado perto da extremidade de uma lâmina e uma segunda lâmina, posicionada num ângulo de 45°, à frente da amostra, é deslizada para trás, cerca de 1/3, e, de seguida, movimentada levemente e rapidamente para a frente ao longo da lâmina, permitindo a dispersão do espécime (Meinkoth *et al.*, 2008).

A avaliação celular pode ser impossibilitada pela espessura do esfregaço, o que se verifica frequentemente em amostras que não foram corretamente espalhadas, secaram/coagularam antes da realização da preparação, são provenientes de lesões que esfoliam facilmente ou que contêm grandes quantidades de sangue periférico (Meinkoth *et al.*, 2008).

Nas amostras obtidas por lavagens salinas ou por cateterização traumática, em que o conteúdo celular pode ser reduzido, deve proceder-se à concentração das células por centrifugação antes da realização do esfregaço (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.3 Envio das amostras citológicas

Se as amostras forem analisadas num laboratório externo, devem ser enviados dois a quatro esfregaços, acondicionados em recipiente rígido. As preparações não devem ser submetidas a refrigeração, antes ou durante o envio. Os espécimes devem ser remetidos separadamente das amostras de biópsia, pois a exposição a fumos de formalina pode interferir na coloração, impossibilitando o diagnóstico. A expedição das efusões cavitárias e dos fluidos de lavagens de mucosas deve ser feita em recipiente EDTA, conjuntamente com dois esfregaços não corados. Frascos esterilizados são indispensáveis para material para cultura. As lâminas devem ser acompanhadas de informação sobre a preparação e se foi utilizado um método de concentração nas efusões cavitárias (Friedrichs & Young, 2013).

Informações sobre a localização exata da lesão, bem como uma súmula que aborde os sinais clínicos, história, achados clínico-patológicos e exames imagiológicos efetuados, devem ser enviadas conjuntamente com os espécimes citológicos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.4 Exame e descrição das amostras citológicas

As amostras devem ser examinadas ao microscópio, preferencialmente equipado com uma câmara digital, inicialmente de uma forma sistemática e utilizando objetivas de menor poder de ampliação, para pesquisar e avaliar os arranjos e a morfologia geral das células. Posteriormente, recorrendo a objetivas de maior ampliação, devem ser analisados os detalhes celulares (North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013). Esta avaliação citológica inicial revela-se determinante na definição de diagnósticos diferenciais e classificação das neoplasias em epiteliais, mesenquimais e de células redondas (Friedrichs & Young, 2013).

A descrição das amostras deve ser feita com terminologia apropriada e de forma sucinta. Na descrição das populações celulares são utilizados os termos homogéneo e heterogéneo. As designações monomórfica (linhagem única, de aspeto uniforme; geralmente neoplasias benignas) e pleomórfica (linhagem única, com características morfológicas variáveis; podem ser indicativas de malignidade, ocorrendo também em células não-neoplásicas de lesões inflamatórias primárias) estão associadas à morfologia (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.5 Interpretação de espécimes citológicos

Os critérios celulares e citoplasmáticos de malignidade englobam variações na dimensão das células (anisocitose), forma variável (pleomorfismo), arranjo celular anormal (aglomerados tridimensionais, em vez de monocamada), células com tamanho superior ou inferior ao normal, variabilidade na razão núcleo/citoplasma (N:C) ou N:C inesperado para o tipo de célula (N:C elevado em células epiteliais e mesenquimais), citoplasma com basofilia acentuada (hipercromasia), vacuolização ou granulação anormal, e atividade fagocítica anómala (Cullen, *et al.*, 2002; Viadel & Morales, 2005; Meinkoth *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

Os critérios nucleares de malignidade, determinantes na previsão do comportamento da neoplasia, compreendem variações na dimensão nuclear (anisocariose), núcleos grandes (macrocariose), forma nuclear invulgar, multinuclearidade, presença de fragmentos nucleares,

nucléolos múltiplos, incremento do número de mitoses, mitoses atípicas e padrão de cromatina anormalmente grosseiro (Cullen, *et al.*, 2002; Viadel & Morales, 2005; Meinkoth *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

Segundo Whitney & Berent (2010), anisocitose, anisocariose, basofilia citoplasmática, figuras mitóticas anormais e multinuclearidade são características que podem estar presentes quer nos tecidos neoplásicos quer nas populações celulares hiperplásicas, pelo que devem ser considerados como critérios de malignidade fracos.

A diferenciação entre células benignas e malignas não pode ser realizada com base num único critério de malignidade. Um diagnóstico de neoplasia maligna pode geralmente ser efetuado se estiverem presentes três ou mais critérios nucleares de malignidade na maioria das células do esfregaço (Meinkoth *et al.*, 2008). Se o número for inferior ou as alterações forem pouco evidentes, podemos estar perante uma lesão benigna, uma hiperplasia, uma displasia ou uma situação de malignidade, sendo necessário recorrer ao exame histológico (Villiers, 2003).

O gigantismo celular (célula com um diâmetro dez vezes maior do que o de um eritrócito) e a presença de macronúcleos (cinco vezes superiores ao diâmetro de um eritrócito) representam critérios de malignidade especialmente perturbadores (Friedrichs & Young, 2013).

Algumas células não-neoplásicas (mesoteliais, fibroblastos e epiteliais escamosas), em proliferação ativa e na presença de inflamação, podem demonstrar critérios de malignidade, enquanto que algumas células neoplásicas malignas (tumores da glândula apócrina do saco anal e carcinomas da tiróide em cães) exibem um número reduzido de critérios de malignidade (Meinkoth *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6 Doenças neoplásicas e diagnóstico citológico

Atendendo às características citológicas, as neoplasias podem ser classificadas em epiteliais, mesenquimais e de células redondas (Figura 1). A planificação da terapêutica a adotar e do prognóstico face a um processo neoplásico pode ser efetuada tendo por base esta categorização (Friedrichs & Young, 2013).

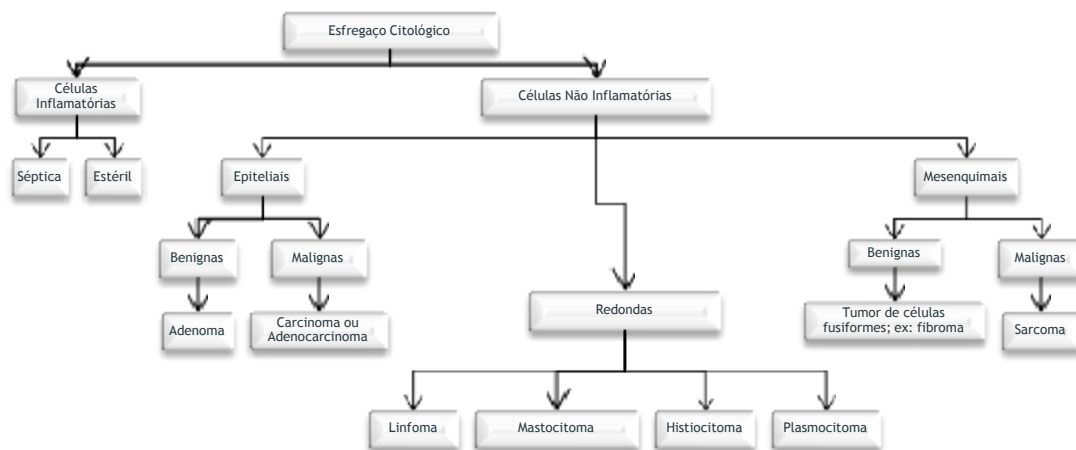


Figura 1 – Classificação das neoplasias com base no exame citológico. Fonte: adaptado de Dobson & Lascelles (2003).

1.1.6.1 Neoplasias dos tecidos epiteliais

Categoria de neoplasias mais abrangente, englobando tumores de superfícies epiteliais, de glândulas e de órgãos. Caracterizadas por uma grande variabilidade a nível citológico, exibem, contudo, algumas características em comum (Friedrichs & Young, 2013).

Dotadas de junções intercelulares, as células não elaboram matriz extracelular, esfoliando com facilidade e originando amostras de elevada celularidade (Hahn, 2002; Villiers, 2003; Radin & Wellman, 2004; North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013). Com limites citoplasmáticos normalmente bem definidos, dispõem-se em agregados ou lâminas coesas (Radin & Wellman, 2004; North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013; Raskin 2016).

As células são frequentemente redondas, com N:C moderado ou elevado e citoplasma basófilo. Podem assumir a aparência de células redondas, sem junções intercelulares, sendo nestas situações necessário proceder ao exame histológico, com ou sem análise imunohistoquímica, para definir o tipo de tumor específico. Nas neoplasias mal diferenciadas as características identificativas estão ausentes ou são escassas (Friedrichs & Young, 2013).

A avaliação citológica pode também ser inconclusiva nas neoplasias anexas da pele, se na amostra existirem diferentes tipos de células ou na ausência de características de identificação. A diferenciação destes tumores é baseada na presença de uma grande componente de células basilares, cuboides ou redondas, de N:C elevado, dispostas em lâminas/filas empilhadas (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). O núcleo

redondo tem cromatina condensada ou reticulada e um pequeno nucléolo indistinto. O citoplasma, ligeiramente basófilo, pode ter grânulos de melanina de cor preta (Friedrichs & Young, 2013).

Os tumores anexiais são maioritariamente benignos e nos malignos a existência de características pleomórficas permite prever o comportamento biológico dos mesmos (Friedrichs & Young, 2013). Os critérios nucleares constituem indicadores fiáveis de malignidade, com exceção dos tumores basocelulares, perianais ou da glândula anal e das situações em que existe inflamação (Hahn, 2002).

Nos tumores com origem no folículo piloso e nos cistos matriciais, as células redondas, exibem elevado número de vacúolos de aspeto gorduroso que obscurecem parcialmente o núcleo central, de pequenas dimensões (Friedrichs & Young, 2013).

Nos tumores das células basais, é geralmente necessário proceder ao exame histológico para identificar o tipo específico de tumor (Friedrichs & Young, 2013). Nos carcinomas basocelulares, neoplasias de baixo grau de malignidade comuns em cães, as células pequenas, cuboides e basófilas, podem conter melanina e esfoliar individualmente (Viadel & Morales, 2005; Whitney & Berent, 2010). Em alguns casos, exibem diferenciação sebácea ou escamosa, partilhando características citológicas com os tumores foliculares (Whitney & Berent, 2010).

1.1.6.1.1 Neoplasias da epiderme

O carcinoma das células escamosas é a neoplasia maligna da epiderme mais comum. A amostra pode conter células representativas de diferentes estadios e ser formada por células basilares, células queratinizadas mais maduras, ou ambas. O pleomorfismo pode ser acentuado, com anisocitose, anisocariose e hipercromasia moderadas ou elevadas e atipia nuclear acentuada. A determinação do grau de diferenciação é efetuada tendo por base o grau de anaplasia celular e de queratinização (Friedrichs & Young, 2013).

Na neoplasia bem diferenciada, as células grandes, angulares, com citoplasma basófilo e N:C reduzido, esfoliam facilmente e de forma isolada (Viadel & Morales, 2005). A queratinização é acompanhada tipicamente por inflamação neutrofílica e a queratina não cora com colorações do tipo Romanowsky (Friedrichs & Young, 2013). Nos tumores pouco diferenciados, as células fortemente unidas, de forma quadrangular ou oval, apresentam pleomorfismo acentuado e esfoliam em grupos ou aglomerados (Viadel & Morales, 2005).

1.1.6.1.2 Neoplasias das glândulas

1.1.6.1.2.1 *Neoplasias das glândulas salivares*

As neoplasias das glândulas salivares podem ser de células dos ductos, de células secretoras, ou de ambas (Friedrichs & Young, 2013).

Nas neoplasias dos ductos, as células são semelhantes a células epiteliais basilares, apresentam pleomorfismo reduzido, anisocariose ligeira ou moderada e nucléolos distintos. Nas lesões de origem secretora, as células têm N:C moderado e pleomorfismo mais acentuado. Possuem vacúolos secretores, em número e dimensões variáveis. Apresentam anisocariose e nucléolos visíveis, com morfologia e dimensões variáveis. A mucina produzida pelas células assume a aparência de material rosa ou azul pálido que alinha os eritrócitos circundantes em linhas de fluxo contínuo (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.2.2 *Neoplasias das glândulas mamárias*

Na citologia podem ser visualizadas células ductulares, secretoras, mesenquimais ou uma mistura das mesmas. As células ductulares ou tubulares são similares a células epiteliais basilares, com N:C e pleomorfismo baixos a moderados e inclusões citoplasmáticas granulares basófilas. As células secretoras têm anisocitose e anisocariose moderadas a elevadas e vacúolos secretores de dimensões variáveis. As células mesenquimais têm pleomorfismo ligeiro ou moderado e podem exibir ou não matriz extracelular fibrilar (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.2.3 *Neoplasias da glândula perianal*

Também designadas de circumanais ou hepatóides, são na sua maioria benignas. Nas lesões malignas, o pleomorfismo não se encontra realçado (Friedrichs & Young, 2013).

Formadas por células dispostas em aglomerados coesos, com N:C baixo, apresentam citoplasma granular eosinófilo, com limites bem definidos (Hahn, 2002; Friedrichs & Young, 2013). Os núcleos, redondos e localizados centralmente, possuem cromatina reticular e um único nucléolo (Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

Na periferia destes aglomerados pode ser observada uma população de células de reserva, de cor mais escura, pequenas, cuboidais, de citoplasma escasso e basófilo e com N:C elevado (Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

Os adenomas e os adenocarcinomas são muitas vezes indistinguíveis do ponto de vista citológico (Hahn, 2002).

1.1.6.1.2.4 *Neoplasias da glândula apócrina do saco anal*

Com pleomorfismo reduzido, são geralmente malignas e, frequentemente, metastizam para os linfonodos ilíacos medianos. De origem não neuroendócrina, os adenocarcinomas apócrinos assemelham-se a tumores neuroendócrinos (Friedrichs & Young, 2013).

As células dos adenocarcinomas possuem núcleos redondos ou ovais, cromatina grosseira e quantidade reduzida de citoplasma, com limites muitas vezes indistintos (Whitney & Berent, 2010). Dispõem-se em grupos, formando largas estruturas papilares (Viadel & Morales, 2005). O rácio N:C é elevado, verificando-se ocasionalmente uma ligeira anisocariose, e os nucléolos são de dimensões reduzidas (Hahn, 2002).

1.1.6.1.2.5 *Neoplasias da glândula prostática*

Com características similares às de outros tumores glandulares, podem ser visualizados grânulos eosinófilos circulares citoplasmáticos. Citologicamente é difícil diferenciar carcinomas primários da próstata de carcinomas de células de transição nesta glândula (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.3 *Neoplasias do sistema urogenital*

1.1.6.1.3.1 *Carcinomas de células de transição*

Os critérios de malignidade presentes incluem anisocitose e anisocariose acentuadas, basofilia elevada, N:C variável e grande diversidade quanto à morfologia e número dos nucléolos. As células apresentam forma redonda e encontram-se dispostas individualmente ou formando lâminas coesas/agregados (Friedrichs & Young, 2013). A multinuclearidade é frequente (Radin & Wellman, 2004; Friedrichs & Young, 2013).

Para evitar a dispersão das células tumorais ao longo do percurso da agulha, não deve ser realizada PAAF, sendo de privilegiar a cateterização traumática da bexiga e a lavagem da próstata para obtenção de espécimes citológicos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4 *Neoplasias de órgãos*

1.1.6.1.4.1 *Neoplasias hepatocelulares*

Podem ser provenientes de hepatócitos ou do epitélio biliar, englobando os adenomas e os carcinomas (Friedrichs & Young, 2013). Por vezes, é impossível diferenciar nódulos e massas hepáticas, de áreas de hiperplasia, de tumores benignos e malignos, por apresentarem

hepatócitos bem diferenciados com algum grau de atipia, sendo aconselhável a realização de exame histológico (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

As características de atipia hepatocelular sugestivas de neoplasia compreendem anisocitose e anisocariose, N:C variável, aumento da basofilia do citoplasma e três ou mais núcleos com múltiplos nucléolos. As células podem encontrar-se desorganizadas ou dispor-se em agregados. Contudo, estas características podem ser visualizadas também em nódulos hepáticos hiperplásicos ou regenerativos (Friedrichs & Young, 2013).

O carcinoma hepatocelular constitui o tumor hepático mais comum nos cães (Viadel & Morales, 2005). Nos carcinomas indiferenciados as características citológicas que os identificam como de origem hepatocelular são diminutas, podendo assemelhar-se a outros carcinomas indiferenciados que metastizaram no fígado (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.2 Neoplasias biliares

Nos cistadenomas biliares benignos, as células epiteliais cúbicas e monomórficas encontram-se dispostas em lâminas, apresentando N:C elevado, citoplasma basófilo, núcleos redondos, centrais e uniformes, podendo conter vacúolos secretores. Nos carcinomas biliares, as células poligonais, encontram-se organizadas em lâminas ou agregados, possuindo N:C variável, pleomorfismo nuclear e nucleolar proeminentes, citoplasma basófilo, núcleos ovais excêntricos e sem vacúolos secretores ou em número variável (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.3 Neoplasias do pâncreas exócrino

Podem ter origem no epitélio ductular ou acinar. Nos carcinomas ductais, as células cúbicas, dispostas em lâminas monomórficas, possuem N:C elevado, citoplasma basófilo e núcleos redondos centrais, com pleomorfismo ligeiro. No adenocarcinoma pancreático exócrino, o pleomorfismo é acentuado e as células possuem citoplasma intensamente basófilo, com numerosos pequenos glóbulos eosinofílicos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.4 Carcinomas renais

Citologicamente podem ser confundidos com tumores neuroendócrinos. Apresentam-se constituídos por células epiteliais cuboides, de pleomorfismo variável, dispostas em lâminas soltas, aglomerados, túbulos ou ácinos, com N:C moderado a elevado, podendo conter alguns vacúolos citoplasmáticos discretos. Os núcleos, geralmente redondos e localizados basalmente, possuem nucléolos distintos, em número variável (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.5 Carcinomas pulmonares ou adenocarcinomas pulmonares

Os tumores primários do pulmão são, frequentemente, minimamente pleomórficos (Viadel & Morales, 2005). As células, cuboides ou poligonais, sem cílios apicais, com N:C moderado a elevado, dispostas em lâminas ou agregados, podem conter vacúolos discretos. Em neoplasias de maiores dimensões é comum a presença de grandes quantidades de detritos, provenientes de células necróticas e inflamação neutrófila (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.6 Timoma e carcinoma tímico

Com origem no epitélio de suporte do timo, produzem aspirados maioritariamente formados por pequenos linfócitos, sendo frequente a visualização de mastócitos bem diferenciados. As células epiteliais, quando presentes, são poliédricas, com citoplasma abundante e núcleo central oval, dispostas individualmente ou em pequenas lâminas. Os critérios de malignidade e a fração epitelial são mais acentuados nos carcinomas (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.7 Carcinomas nasais e adenocarcinomas

Pouco frequentes em cães, podendo o diagnóstico clínico revelar-se muito difícil (Viadel & Morales, 2005). O exame histopatológico revela-se frequentemente necessário, principalmente quando está presente um processo inflamatório (Friedrichs & Young, 2013).

O exame citológico revela pleomorfismo ligeiro a moderado, vacuolização citoplasmática variável, com claro predomínio de células com um número reduzido ou sem vacúolos secretores e ausência de cílios apicais (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.8 Neoplasias gastrointestinais

As amostras citológicas apresentam-se constituídas por células epiteliais de elevado pleomorfismo, detentoras de um número variável de vacúolos secretores, dispostas em agregados ou lâminas e inseridas em muco abundante, produzido pelas células tumorais, ou colagénio fibrilar de cor rosada (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.9 Neoplasias endócrinas e neuroendócrinas

As amostras, de elevada celularidade, apresentam células frágeis que podem sofrer rutura, pelo que é habitual a presença de núcleos livres (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

As células, organizadas em aglomerados e lâminas coesas, possuem junções intercelulares e margens citoplasmáticas bem definidas. Os núcleos podem encontrar-se dispostos em roseta, com cromatina reticular e um ou dois nucléolos muitas vezes indistintos. Geralmente existem poucos critérios de malignidade, a anisocitose e a anisocariose são leves a moderadas, podendo estar presentes figuras mitóticas (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.10 Carcinomas da tiróide

Dotados de elevada vascularização, produzem amostras com grandes quantidades de sangue e hemosiderófagos (Friedrichs & Young, 2013). As suas células exibem aspetos característicos de tecido endócrino, podendo conter grânulos citoplasmáticos azuis ou pretos, bem como material amorfo de cor rosada (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). Quando estas características estão ausentes, não é possível diferenciá-las citologicamente das neoplasias da paratiróide e das células C. A grande maioria das neoplasias da tiróide diagnosticadas em cães são carcinomas não funcionais (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.11 Neoplasias da paratiróide

Estas neoplasias exibem as características típicas do tecido endócrino, podendo registar-se a presença de inclusões eosinofílicas espiculadas no citoplasma (Friedrichs & Young, 2013). Os adenomas são caracterizados por populações monomórficas, com células de forma cúbica ou poliédrica e citoplasma claro, enquanto que os carcinomas exibem polimorfismo celular, sendo comum a presença de infiltração local (Viadel & Morales, 2005).

1.1.6.1.4.12 Quimiodectomas

Neoplasias neuroendócrinas das células quimiorrecetoras, sem características que possibilitem a sua distinção de outros tumores endócrinos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.13 Neoplasias adrenais corticais e medulares

As características presentes são as comuns nas neoplasias neuroendócrinas (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). A presença de vacúolos discretos, de cor clara e em número variável, é frequente nas lesões adrenais corticais das zonas glomerular e fasciculata (Friedrichs & Young, 2013). Apesar das características anaplásicas (anisocariose e núcleos múltiplos) das células do adenocarcinoma e do maior polimorfismo das mesmas, nem sempre é possível a sua diferenciação citológica do adenoma adrenocortical, devido ao

pleomorfismo mínimo que geralmente exibem (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.1.4.14 Insulinomas

Com características típicas de outras neoplasias neuroendócrinas, podendo metastizar para o fígado, nódulos linfáticos regionais, mesentério e omento (Friedrichs & Young, 2013). Nos cães, a maioria dos insulinomas são adenocarcinomas (Viadel & Morales, 2005).

1.1.6.2 Neoplasias dos tecidos mesenquimais

Esfoliam com dificuldade, originando amostras de baixa celularidade, formadas por células frequentemente englobadas numa matriz extracelular (Radin & Wellman, 2004; North & Banks, 2009; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013; Raskin, 2016).

As células, ovais, fusiformes, poligonais, poliédricas ou estreladas, com limites citoplasmáticos indistintos, possuem núcleos com posição central ou excêntrica (Radin & Wellman, 2004; North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013; Raskin, 2016). Desprovidas de junções intercelulares, dispõem-se de forma individualizada. Em situações de elevada celularidade, raspagem e aplicação de métodos de impressão, podem ser visualizados agregados celulares densos não coesos e desorganizados (Friedrichs & Young, 2013).

As características nucleares são bons indicadores do potencial de malignidade destas neoplasias, com exceção do leiomiossarcoma e do mixossarcoma, difíceis de diferenciar do leiomioma e do mixoma, respetivamente, tendo por base apenas características citológicas ou histológicas. Nestes casos, a determinação do potencial é efetuada frequentemente por recurso à invasão dos tecidos circundantes (Hahn, 2002).

Segundo Hahn (2002), pode ser necessária a confirmação por exame histológico se a amostra for formada por uma população celular heterogénea (inflamatória e mesenquimal), uma vez que o processo inflamatório pode estimular a produção de fibroblastos reativos que são citologicamente indistinguíveis das células dos sarcomas.

1.1.6.2.1 Neoplasias de fibroblastos

Formadas por células monomórficas, alongadas ou fusiformes, com N:C moderado, citoplasma basófilo e núcleos ovais e centrais, com um número variável de pequenos nucléolos. Estas características citomorfológicas estão presentes na fibroplasia reativa, no fibroma e no fibrossarcoma bem diferenciado, não permitindo distingui-las (Friedrichs & Young, 2013).

O fibrossarcoma possui celularidade e pleomorfismo elevados e não apresenta inflamação. As células têm N:C variável, anisocitose e anisocariose moderadas a elevadas e podem ter grânulos citoplasmáticos rosados. A visualização de colagénio, formando bandas fibrilares no material extracelular de cor rosada, pode constituir um indicativo de células resultantes de fibroblastos. Porém, é possível que outras neoplasias de origem mesenquimal apresentem uma matriz semelhante (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.2 Neoplasias da parede perivascular ou da bainha do nervo

Estas neoplasias esfoliam facilmente, originando amostras com elevada celularidade, constituídas por células fusiformes e volumosas, ovais ou estreladas, individualizadas ou dispostas em agregados densos. O citoplasma basófilo contém alguns pequenos vacúolos e, numa pequena percentagem de células, pode ser observada a presença de dois núcleos (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). Com anisocitose e anisocariose ligeiras a moderadas, possuem núcleos ovais com localização central, cromatina fina e um a três pequenos nucléolos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.3 Neoplasias do endotélio vascular

Nos hemangiomas, as amostras podem ser formadas por uma população uniforme de células fusiformes, longas e finas, inseridas numa grande quantidade de sangue. Raramente a celularidade é suficiente para permitir estabelecer um diagnóstico definitivo (Friedrichs & Young, 2013).

Nos hemangiossarcomas, as células, com pleomorfismo acentuado e limites citoplasmáticos mal definidos, podem encontrar-se em número suficiente para formular um diagnóstico provisório (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). As células tumorais raramente esfoliam em efusões hemorrágicas e são dotadas de núcleos grandes, irregulares, ovais ou indentados, com cromatina grosseira e vários nucléolos proeminentes, de forma e dimensão variáveis, podendo esporadicamente observar-se multinuclearidade. A anisocitose e a anisocariose são normalmente acentuadas (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.4 Neoplasias do tecido adiposo

Os lipomas, neoplasias comuns em cães, não podem ser diferenciados do tecido adiposo subcutâneo normal ou de uma infiltração de um lipoma, pelo que nem sempre é possível um diagnóstico conclusivo. Dão origem a aspirados de elevado teor lipídico que, em regra, se dissolvem nos fixadores à base de metanol, dando origem a uma mancha acelular

(Friedrichs & Young, 2013). As células grandes e redondas, dispostas em agregados, possuem um pequeno núcleo localizado na periferia devido à presença de um vacúolo lipídico claro (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). Podem, por vezes, ser visualizados filamentos estruturantes de estroma e capilares sanguíneos inseridos nos agregados de adipócitos (Friedrichs & Young, 2013).

Os lipossarcomas, raros em cães, são formados por células fusiformes, estreladas ou redondas, com N:C variável, possuindo vacúolos lipídicos de cor clara que diferem quanto às dimensões e número. O citoplasma, basófilo ou anfófilo, apresenta limites pouco definidos e os núcleos são redondos ou ovais, com cromatina condensada, exibindo muitas vezes critérios de malignidade (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

Em caso de inflamação do tecido adiposo, pode ser necessário proceder ao exame histológico (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.5 Neoplasias mesenquimais compostas por células finas alongadas

1.1.6.2.5.1 *Neoplasias do músculo liso e estroma*

Os aspirados de leiomioma, leiomiossarcoma e neoplasia do estroma gastrointestinal apresentam grande celularidade, consistindo em células mesenquimais longas e finas, dispostas em agregados e feixes lineares (Friedrichs & Young, 2013). Devido à fragilidade do citoplasma, os núcleos livres são abundantes nas preparações, (Hahn, 2002).

O pleomorfismo é reduzido e a distinção destas neoplasias é feita com auxílio de testes imunohistoquímicos da expressão da actina do músculo ou da expressão c-kit em tumores do músculo liso e do estroma gastrointestinal, respetivamente (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.5.2 *Neoplasias do músculo estriado*

Os rabdomiomas da língua e da faringe são formados por células individualizadas, redondas ou poligonais, possuindo numerosos grânulos citoplasmáticos rosados (mitocôndrias) e um núcleo central redondo (Friedrichs & Young, 2013). Os rabdomiossarcomas são constituídos por células grandes individualizadas, alongadas e pleomórficas, podendo apresentar estrias transversais no citoplasma (Viadel & Morales, 2005).

1.1.6.2.6 Neoplasias mesenquimais compostas por células redondas ou ovais

1.1.6.2.6.1 *Neoplasias de origem óssea*

Designação que engloba o osteoma, o osteossarcoma, o tumor multilobular do osso (osteoblastos) e o tumor das células gigantes do osso (osteoclastos) (Friedrichs & Young, 2013).

O osteossarcoma, neoplasia óssea mais comum em cães, produz amostras citológicas com conteúdo celular reduzido ou elevado, dependendo da técnica de colheita e da natureza da lesão (Friedrichs & Young, 2013). As células, redondas, ovais ou fusiformes, de dimensão variável, podem apresentar-se isoladas ou formando grupos (Viadel & Morales, 2005). Com margens indistintas, citoplasma basófilo e presença ocasional de grânulos citoplasmáticos, possuem núcleo excêntrico, com N:C moderado ou elevado e clareira perinuclear distinta. Frequentemente, é visível a presença de matriz extracelular e de osteoclastos grandes multinucleados dispersos entre os osteoblastos neoplásicos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.6.2 *Neoplasias dos condrócitos*

O condrossarcoma é o segundo tumor ósseo maligno com maior expressão em cães (Viadel & Morales, 2005). A nível citológico, a grande quantidade de matriz extracelular roxa que envolve frequentemente os condroblastos, células redondas, fusiformes ou estreladas, com N:C moderado a elevado, é a característica mais comum. Possuem um número reduzido de vacúolos e grânulos citoplasmáticos, núcleos redondos com cromatina ponteadas e fina e um número variável de nucléolos proeminentes (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.6.3 *Neoplasias das células sinoviais*

A esfoliação nesta neoplasia pouco comum ocorre em estadios avançados e nem todos os sarcomas sinoviais o fazem, podendo ocorrer derrame hemorrágico (Viadel & Morales, 2005). As células, redondas ou fusiformes, individualizadas ou formando agregados não coesos, demonstram rácios N:C moderados, pleomorfismo variável e anisocitose e anisocariose acentuadas. Nos sarcomas com elevado pleomorfismo, pode ser fundamental efetuar uma coloração imunohistoquímica para distingui-los dos sarcomas histiocíticos periarticulares (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.2.6.4 *Neoplasias dos melanócitos*

Os melanomas são neoplasias difíceis de classificar, pois as suas células podem ser morfológicamente similares a células epiteliais (camadas de células coesas), mesenquimais

(individualizadas, ovais ou fusiformes) ou células redondas (Viadel & Morales, 2005; DeNicola, 2008; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

Os melanoblastos são células redondas, ovais ou fusiformes, com N:C elevado e citoplasma com ligeira basofilia (Friedrichs & Young, 2013). Os núcleos, redondos ou ovais, possuem cromatina fina e nucléolo distinto. Exibem muitos critérios de malignidade, sendo de destacar a anisocariose e o pleomorfismo nuclear (DeNicola, 2008; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013). Podem apresentar grânulos citoplasmáticos de melanina de cor preta que, quando em grande número, podem ofuscar os detalhes celulares (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

Numa mesma neoplasia podem ser visualizadas células com diferentes graus de melanização. Nos tumores amelanóticos, com os procedimentos de coloração padrão, as células podem apresentar-se completamente desprovidas de pigmentação, representando um maior desafio a nível do diagnóstico (DeNicola, 2008; Friedrichs & Young, 2013).

Nos melanomas pigmentados, é comum a presença nos linfonodos de melanófagos, macrófagos com elevada concentração de melanina dentro de fagolisossomas, diferenciando-se, por isso, dos melanoblastos em que a granulação é fina (Friedrichs & Young, 2013).

Os melanocitomas, neoplasias benignas, são formados por células poligonais ou fusiformes contendo grânulos citoplasmáticos pretos (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.3 Neoplasias de células redondas

Neoplasias frequentes em cães, tendo a maior parte origem hematopoiética e mesenquimal (DeNicola, 2008; Friedrichs & Young, 2013). Neste grupo incluem-se as neoplasias de mastócitos, de plasmócitos, de linfócitos e de histiócitos, bem como o tumor venéreo transmissível (Radin & Wellman, 2004; Friedrichs & Young, 2013).

São fáceis de diagnosticar tendo por base o exame citológico (Radin & Wellman, 2004). Esfoliam facilmente, produzindo amostras com elevada celularidade, formadas por células redondas ou ovais, com margens citoplasmáticas distintas, dispostas individualmente ou em monocamada não coesa (Radin & Wellman, 2004; Friedrichs & Young, 2013). Os núcleos são comumente redondos, podendo apresentar morfologia diferente consoante o pleomorfismo destes tumores (Hahn, 2002; North & Branks, 2009; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.3.1 Mastocitomas

As células possuem grânulos citoplasmáticos em número variável, que coram de roxo quando em presença de corantes hematológicos. Frequentemente ofuscam o núcleo, tornando difícil a avaliação dos critérios de malignidade desta estrutura (Viadel & Morales, 2005; DeNicola, 2008; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

O núcleo encontra-se geralmente localizado centralmente. A presença de anisocitose, anisocariose, binuclearidade ou multinuclearidade, nucléolos múltiplos visíveis e figuras mitóticas constituem alguns dos critérios de malignidade que podem ser observados (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). O pleomorfismo acentuado é pouco comum e está normalmente associado a neoplasias de grau superior. Os mastócitos marcadamente pleomórficos podem apresentar granulação escassa ou ausente, dimensões celulares e nucleares variáveis e núcleos lobados ou ameboides (Friedrichs & Young, 2013).

Nos cães, os aspirados de mastocitomas contêm habitualmente numerosos eosinófilos, uma pequena proporção de fibroblastos reativos e grossas faixas de colagénio (DeNicola, 2008; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

O exame citológico nem sempre permite diferenciar mastocitomas de outras neoplasias formadas por células com grânulos citoplasmáticos, tais como, linfoma de células T granuladas, linfoma de células assassinas naturais e neoplasias de células granulares. A distinção entre mastocitoma e plasmocitoma, histiocitoma e linfoma atípico também pode revelar-se difícil se os mastócitos forem agranulares ou se os grânulos não corarem com os corantes aquosos utilizados (Friedrichs & Young, 2013).

A avaliação da presença de metástases em tecidos em que existem mastócitos, nomeadamente nos nódulos linfáticos, fígado e baço, pode ser difícil, sendo necessário recorrer ao exame histopatológico se a citologia não permitir distinguir entre mastócitos residentes e processos de metastização (Friedrichs & Young, 2013).

A classificação dos mastocitomas e a determinação do seu grau são fundamentadas em características histológicas (Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.3.2 Plasmocitomas

As células neoplásicas são redondas a ovais, com citoplasma abundante, zona clara perinuclear (aparelho de Golgi), núcleo redondo excêntrico e padrões de cromatina uniformes e às vezes grosseiros, mas regulares (DeNicola, 2008; Friedrichs & Young, 2013).

A multinuclearidade é comum e os núcleos podem ser multilobados em situações de maior pleomorfismo (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013).

As células podem parecer imaturas, assemelhando-se a grandes linfócitos com N:C mais elevado e cromatina fina. Podem conter corpos de Russell, sendo denominadas de células de Mott (Friedrichs & Young, 2013).

O diagnóstico citológico dos plasmocitomas mal diferenciados, maioritariamente formados por células redondas com critérios de malignidade, é difícil de efetuar, sendo aconselhável a realização de exame histológico com coloração imunohistoquímica para as cadeias leves da imunoglobulina (Whitney & Berent, 2010).

1.1.6.3.3 Linfomas

Grupo diversificado de neoplasias (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). Pode ser difícil, ou mesmo impossível, estabelecer um diagnóstico, devendo ser efetuados exames adicionais, tais como, biópsia com avaliação histológica, imunofenotipagem e avaliação de clonalidade (Friedrichs & Young, 2013).

Neoplasias caracterizadas por populações celulares monomórficas, com citoplasma variável e basófilo, vacuolização moderada, N:C elevado, núcleo com um ou vários nucléolos evidentes e cromatina granular (Viadel & Morales, 2005; Whitney & Berent, 2010).

A predominância de linfócitos grandes (maiores que os neutrófilos e com o dobro do diâmetro dos eritrócitos) ou intermédios (dimensões iguais às do neutrófilo e com um diâmetro 1,5 a 2 vezes o de um eritrócito) conduz a um diagnóstico citológico de linfoma. No linfoma de células pequenas, é indispensável a realização de testes adicionais (exame histológico; imunofenotipagem por imunocitoquímica/coloração histoquímica ou citometria de fluxo; reação em cadeia da polimerase para o rearranjo do recetor de antigénio) para determinação da clonalidade, principalmente quando localizado em gânglios linfáticos e no baço, dotados de uma população residente de linfócitos pequenos, ou no fígado e intestino delgado, onde é comum a presença de inflamação linfocítica (Friedrichs & Young, 2013).

Em amostras provenientes de PAAF é comum a presença de núcleos livres e fragmentos citoplasmáticos devido à fragilidade dos linfócitos, características partilhadas com os espécimes provenientes de populações linfocitárias reativas (Friedrichs & Young, 2013).

Por vezes, os linfócitos neoplásicos exibem pleomorfismo acentuado, anisocitose moderada ou elevada, multinuclearidade, núcleos indentados, clivados ou ameboides, vacúolos citoplasmáticos e comportamento fagocitário anómalo, assemelhando-se a histiócitos neoplásicos. Podem também possuir grânulos citoplasmáticos rosados, médios ou

grosseiros, sugestivos de células T ou de fenótipo NK. O linfoma tipo Hodgkins é formado por uma população celular heterogênea de linfócitos clonais e policlonais (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.3.4 Neoplasias de origem histiocítica

É difícil efetuar um diagnóstico definitivo tendo por base unicamente a análise de amostras citológicas, uma vez que possuem um número reduzido de variações citomorfológicas. Apresentam celularidade moderada ou elevada e quantidades variáveis de contaminação por sangue periférico (DeNicola, 2008).

1.1.6.3.4.1 *Histiocitoma cutâneo*

O histiocitoma cutâneo, neoplasia com origem em células dendríticas epidérmicas ou células de Langerhans, é formado por células redondas, com citoplasma incolor ou azul claro, núcleo redondo ou oval, por vezes indentado, com posição central, cromatina fina ou reticular e nucléolos indistintos. As figuras mitóticas são raras e pode estar presente um infiltrado de pequenos linfócitos, particularmente nos tumores em regressão, associado à resposta imunomediada por células T (Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013). Frequentemente, as células aparecem destacadas num fundo de cor arroxeadas de natureza proteica (Friedrichs & Young, 2013). O índice mitótico é elevado, podendo, em situações raras, apresentarem-se binucleadas (Viadel & Morales, 2005). Em cães jovens, na fase de resolução, as células podem ostentar forma irregular ou ameboide (DeNicola, 2008).

1.1.6.3.4.2 *Sarcomas histiocíticos de linhagens dendríticas e de macrófagos*

Tendo por base a apresentação clínica, a morfologia celular e a especificidade da linhagem de células, estas neoplasias assumem diferentes designações: sarcoma histiocítico; histiocitose maligna; sarcoma histiocítico hemofagocítico (Friedrichs & Young, 2013).

O sarcoma histiocítico é composto por células redondas de elevado pleomorfismo, em que a multinuclearidade e as figuras mitóticas anormais estão frequentemente presentes. As células possuem N:C variável e núcleos habitualmente arredondados, com cromatina grosseira ou disposta em agregados e nucléolos proeminentes, em número, tamanho e forma variáveis (Viadel & Morales, 2005; Friedrichs & Young, 2013). O citoplasma basófilo pode conter um grande número de vacúolos. É comum a presença de um infiltrado constituído por pequenos linfócitos, plasmócitos e neutrófilos (Friedrichs & Young, 2013).

Na histiocitose maligna, o pleomorfismo, a vacuolização citoplasmática e o comportamento fagocitário estão menos evidentes. As células, redondas, ovais ou fusiformes, são dotadas de núcleos redondos, ovais ou alongados (Friedrichs & Young, 2013).

No sarcoma hemofagocítico histiocitário, as células assemelham-se a macrófagos fagocíticos encontrados em lesões inflamatórias. Apresentam N:C moderado, núcleos centrais redondos, cromatina reticular, um ou dois nucléolos proeminentes, e citoplasma vacuolizado, contendo usualmente hemossiderina ou eritrócitos fagocitados, neutrófilos e plaquetas. O diagnóstico definitivo é habitualmente efetuado por biópsia (Friedrichs & Young, 2013).

1.1.6.3.5 Tumor venéreo transmissível (TVT)

O exame citológico desta neoplasia de origem histiocítica pode fornecer um diagnóstico definitivo, principalmente se a mesma estiver presente em locais como mucosas dos órgãos genitais externos e da cavidade nasal (Friedrichs & Young, 2013).

As células apresentam núcleo central ou localizado de forma excêntrica e cromatina grosseira (DeNicola, 2008; Friedrichs & Young, 2013). Têm um ou mais nucléolos proeminentes, N:C médio ou elevado e citoplasma caracterizado por uma basofilia moderada (Friedrichs & Young, 2013). Os vacúolos, quando presentes, são pequenos e de cor clara, com tendência, em algumas células, a distribuírem-se ao longo da superfície interna da membrana celular (Viadel & Morales, 2005; DeNicola, 2008; Whitney & Berent, 2010). As figuras mitóticas são frequentes e as lesões maduras podem conter infiltrados formados por pequenos linfócitos (DeNicola, 2008; Friedrichs & Young, 2013).

1.1.7 Avaliação citológica de linfonodos

Frequentemente, os linfonodos constituem o primeiro local de disseminação do processo neoplásico, pelo que a sua avaliação é parte integrante do estadiamento da doença oncológica. A PAAF é o método habitualmente utilizado na análise dos linfonodos regionais, mas em caso de resultado inconclusivo deve-se proceder a uma biópsia excisional (North & Banks, 2009). As amostras citológicas de linfonodos em situações de neoplasia metastática apresentam células que normalmente estariam ausentes ou possuem um número excessivo de células face ao habitual (Whitney & Berent, 2010).

1.1.8 Vantagens e desvantagens do exame citológico

A utilização da citologia no diagnóstico oncológico carece do conhecimento das suas vantagens e limitações (Friedrichs & Young, 2013).

O menor custo, por comparação com a histologia, a aquisição de resultados imediatos com requisitos mínimos de equipamento e a sua realização geralmente sem recurso a anestesia, são algumas das vantagens associadas ao exame citológico. O risco dos procedimentos para o animal é relativamente baixo, permitindo obter amostras com reduzido perigo de hemorragia, disseminação e infeção (Viadel & Morales, 2005; Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013).

O diagnóstico por citologia é privilegiado em neoplasias muito vascularizadas ou invasivas (Tvedten, 2012). Em lesões múltiplas, permite estabelecer se as mesmas pertencem ao mesmo processo ou se representam várias neoplasias (Viadel & Morales, 2005).

A sua realização pode preceder exames mais invasivos e de maior perigosidade, sendo especialmente aconselhada em animais muito debilitados. Assume um papel importante na avaliação de recidivas em período pós-operatório (Viadel & Morales, 2005).

Contudo, a arquitetura tecidular e o grau de invasão vascular, linfática e do tecido normal adjacente, não são geralmente avaliados, impossibilitando, por vezes, a diferenciação entre processos reativos e neoplásicos. Além disso, as dimensões da amostra são inferiores às da biópsia, podendo a mesma não ser representativa da lesão (Friedrichs & Young, 2013).

Não fornece informações sobre o grau do tumor e nem sempre conduz a um diagnóstico, uma vez que a qualidade do espécime pode não ser adequada, devido a fatores intrínsecos da lesão (algumas neoplasias, como as mesenquimais, não esfoliam com facilidade, produzindo espécimes de baixa celularidade; presença de inflamação ou necrose) ou por execução deficiente da técnica de recolha (Viadel & Morales, 2005; Masserdotti, 2006; Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013; Biller *et al.*, 2016).

O diagnóstico e estadiamento de algumas neoplasias (linfoma) podem ser efetuados recorrendo unicamente à citologia, dando seguimento ao tratamento, enquanto que noutras situações (carcinoma hepatocelular bem diferenciado) possibilita apenas a elaboração de uma lista de diagnósticos diferenciais, devendo ser realizado um exame histológico para obtenção de um diagnóstico definitivo (Friedrichs & Young, 2013).

Muitas vezes, a classificação do processo neoplásico como epitelial, mesenquimatoso ou discreto das células redondas, pode ser efetuado citologicamente, permitindo informar o proprietário sobre o diagnóstico e o prognóstico (Friedrichs & Young, 2013).

1.2 Histologia

O exame histológico permite obter informações sobre o grau da neoplasia e a estrutura e arquitetura dos tecidos constituintes, dados importantes na seleção do tratamento a adotar e na definição do prognóstico (Morris & Dobson, 2001; Whitley, 2010; Biller *et al.*, 2016).

A escolha criteriosa da técnica de biópsia a utilizar é essencial para evitar a dispersão das células cancerosas para os tecidos normais adjacentes e para obtenção de uma amostra que possibilite a produção de um diagnóstico definitivo (Ehrhart, 1998; North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013; Biller *et al.*, 2016).

Sendo assim, é indispensável o conhecimento dos princípios básicos da biópsia: colheita de várias amostras representativas da neoplasia; profundidade suficiente, por forma a penetrar nos tecidos normais ou reativos sobrepostos; manipulação suave das amostras; colocação dos tecidos recolhidos numa quantidade apropriada de formalina; localização da incisão, facilitando a remoção do tumor aquando da excisão definitiva (Biller *et al.*, 2016).

O estado de saúde geral do animal, o tipo possível de neoplasia e a preferência do médico veterinário são determinantes no tipo de biópsia a efetuar. As técnicas podem ser classificadas em biópsia pré-tratamento (por agulha, punção, incisional) e biópsia pós-tratamento (excisional) (Ehrhart, 1998; North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013).

A biópsia pré-tratamento deve ser executada quando a PAAF não produz um diagnóstico definitivo, se o conhecimento do tipo e do grau da neoplasia for preponderante na terapêutica a selecionar e na aceitação da mesma pelo proprietário ou caso os tumores se encontrem localizados em áreas de difícil reconstrução. A sua execução é desaconselhada em situações em que o tipo de tratamento ou a extensão do ato cirúrgico não esteja dependente do tipo de lesão ou quando a biópsia represente um risco igual ou superior ao da remoção definitiva (Ehrhart, 1998; Morris & Dobson, 2001; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Quando se pretende obter um quadro mais pormenorizado da doença (subtipo histológico, grau do tumor, grau de invasão da vasculatura regional e dos vasos linfáticos), a biópsia excisional é a técnica de eleição (Ehrhart, 1998; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Os fatores a ter em consideração na planificação de uma biópsia, pretendendo obter uma amostra representativa com um risco mínimo para o animal, encontram-se sumarizados na tabela 8 (Morris & Dobson, 2001).

Tabela 8 – Fatores a considerar na planificação de uma biópsia. Fonte: adaptado de Morris & Dobson (2001).

Objetivos	Considerações
Selecionar uma amostra representativa do tumor.	• Evitar ulcerações superficiais, áreas de inflamação ou necróticas. • Garantir uma profundidade adequada. • Incluir o limite normal do tecido da neoplasia na amostra.
Evitar recidiva tumoral local/disseminação local.	• Minimizar a manipulação da neoplasia por exposição cirúrgica adequada. • Assegurar uma hemostase correta. • Reduzir o trauma das neoplasias e dos tecidos normais. • Evitar a contaminação do tecido normal por instrumentos cirúrgicos.
Não comprometer a terapia subsequente.	• Efetuar a biópsia dentro das margens duma futura excisão.

1.2.1 Métodos de biópsia

Os métodos mais usados na colheita de tecidos são a biópsia por agulha, por punção, incisional e excisional (Morris & Dobson, 2001; Ehrhart, & Withrow, 2013).

1.2.1.1 Biópsia por agulha

Pode ser executada com diferentes tipos de agulha (Tru-Cut, ABC, entre outras), operadas manualmente ou acionadas por mola ou mecanismo pneumático, em regime de ambulatorio, com anestesia local e sedação (North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Normalmente são utilizadas agulhas de 14 G para obtenção de amostras de pequenas dimensões, 1 mm de largura e 1 a 1,5 cm de comprimento, em que a relação estrutural dos tecidos e das células tumorais é habitualmente visualizada (Ehrhart, & Withrow, 2013).

Comumente efetuada em massas passíveis de serem detetadas por palpação exterior, pode ser aplicada em lesões externas ou localizadas profundamente. Não deve ser selecionada para neoplasias com processo inflamatório e necróticas, sendo nestes casos aconselhável optar pela biópsia incisional (North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Após esterilização da área, é administrada anestesia local no tecido sobrejacente, se intacto, na região de inserção da agulha. A massa é fixada no lugar e é efetuada uma pequena incisão (1 a 2 mm) na pele, permitindo uma melhor penetração no tecido subjacente, evitando o embotamento da ponta da agulha. Várias amostras são recolhidas de locais diferentes e o

tecido coletado é removido com auxílio de uma lâmina de bisturi ou agulha hipodérmica e inserido em formalina. Se for usada uma agulha de menores dimensões, a amostra pode ser retirada utilizando uma solução salina (Ehrhart, & Withrow, 2013).

As vantagens associadas à biópsia por agulha prendem-se com o custo reduzido e com o facto de ser frequentemente efetuada em regime de ambulatório, permitindo obter múltiplas amostras através de uma única abordagem e em que a arquitetura tecidual é maioritariamente conservada (White, 2003; Argyle & Milne, 2008; Ehrhart, & Withrow, 2013). Contudo, exhibe uma precisão inferior às biópsias incisional e excisional, principalmente em lesões heterogéneas, inflamatórias, necróticas ou císticas (Ehrhart, & Withrow, 2013).

1.2.1.2 Biópsia incisional

Efetuada quando a biópsia por agulha não permite obter material suficiente para análise e em lesões ulceradas ou necróticas, permitindo recolher amostras de maiores dimensões e representativas da lesão (Ehrhart, 1998; Ehrhart, & Withrow, 2013). Especialmente aconselhada quando o conhecimento do tipo de neoplasia é importante no planeamento da ressecção definitiva ou pode influenciar o protocolo terapêutico a adotar (Henry & Pope, 2010).

Pode ser realizada com o animal sedado e com anestesia local ou com anestesia geral, se as neoplasias forem mais profundas ou estiverem localizadas na face, boca ou área genital (Ehrhart, 1998; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Após esterilização do local, deve-se proceder à incisão da pele sobre a neoplasia e remoção de uma amostra representativa da lesão. Na maioria das situações, a distinção dos tecidos neoplásico, normal e reativo circundante baseia-se na coloração e textura diferentes que apresentam (North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013).

As incisões a efetuar devem ter dimensões reduzidas, diminuindo assim a exposição dos tecidos não envolvidos e a contaminação dos mesmos por dispersão de células neoplásicas. O trato da biópsia em continuidade com a neoplasia deve ser removido no momento da ressecção curativa (Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013).

1.2.1.3 *Biópsia excisional*

Método utilizado quando o conhecimento do tipo de neoplasia não influencia o tratamento definitivo (White, 2003; Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Ehrhart, & Withrow, 2013). Em casos específicos, e se efetuada corretamente, pode servir como diagnóstico e terapêutica (Henry & Pope, 2010; Ehrhart, & Withrow, 2013).

Consiste na extirpação cirúrgica completa do tumor, com margens adequadas, e posterior recolha de amostras para exame histopatológico. É contraindicada se existir elevado risco de hemorragia e devem ser ponderados os perigos associados à administração anestésica (Argyle & Milne, 2008). Deve ser efetuada em lesões suficientemente pequenas e com acessibilidade anatómica, por forma a permitir a remoção cirúrgica da neoplasia sem comprometimento dos tecidos normais envolventes e sem contribuir para o aumento da morbilidade em caso de cirurgia adicional (Hahn, 2002; Henry & Pope, 2010).

Preferencialmente, todas as amostras obtidas devem ser alvo de exame histológico, a fim de se obter um diagnóstico definitivo. Em caso de remoção das margens do tumor ou do tecido normal envolvente, as margens cirúrgicas devem ser marcadas para que se proceda à avaliação se a excisão foi completa (Argyle & Milne, 2008).

1.2.2 Recolha de tecidos, marcação de margens e fixação

A probabilidade de se obter um diagnóstico preciso é superior em amostras de maior dimensão e quando são examinados vários espécimes de uma mesma massa (Shearer, 2003; Ehrhart & Withrow, 2013).

A recolha de amostras não deve ser efetuada com recurso a eletrocautério, uma vez que a sua utilização conduz à deformação, por autólise ou polarização, da arquitetura e morfologia celulares. A manipulação inadequada por pinças ou outro material, previamente à fixação dos tecidos, pode impossibilitar a obtenção de um diagnóstico efetivo ou avaliação das margens da lesão (Hahn, 2002; White, 2003; Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013).

Na necessidade de avaliar as margens, para determinação do grau de invasividade das células neoplásicas, as mesmas devem ser indicadas na amostra por recurso a corantes ou suturas (Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013). A neoplasia óssea representa uma exceção a este procedimento, uma vez que a biópsia é efetuada no centro da lesão (Argyle & Milne, 2008; Whitley, 2010). Após a coloração, a amostra deve secar por um período até vinte minutos antes de ser inserida em formalina. A marcação do tecido pode também ser efetuada após a sua fixação, mas a aderência do corante será menor e o tempo de secagem maior (Argyle & Milne, 2008; Ehrhart & Withrow, 2013).

Uma fixação adequada é indispensável na manutenção da arquitetura tecidual e celular (Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013). Habitualmente utiliza-se formalina tamponada neutra a 10% (Hahn, 2002; Argyle & Milne, 2008; North & Banks, 2009; Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013). Se forem amostradas diferentes lesões, os tecidos devem ser colocados em recipientes separados (Ehrhart & Withrow, 2013).

Para que ocorra uma fixação adequada, a espessura do tecido não deve ser superior a um centímetro. Massas superiores devem ser previamente cortadas em fatias, a intervalos de um centímetro (Argyle & Milne, 2008; Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013).

O envio das amostras deve ser acompanhado pela história clínica, completa e concisa, onde devem ser referenciados sinais clínicos, história de recidivas, taxa de crescimento, localização anatômica, forma da massa, tratamentos efetuados e resposta aos mesmos, testes adicionais e terapias adjuvantes realizadas. Deve, ainda, ser feita alusão ao agente etiológico ou processo patológico do qual se suspeita e informação sobre relatórios enviados anteriormente (Whitley, 2010; Ehrhart & Withrow, 2013).

1.2.3 Doenças neoplásicas e diagnóstico histológico

1.2.3.1 *Neoplasias dos tecidos epiteliais*

1.2.3.1.1 Neoplasias das células basais

Formadas por lóbulos, separados por estroma fibroso com melanófagos, em que é comum a presença de formações císticas na região central, caracterizadas pela existência de detritos necróticos de cor castanha/preta, envolvidos por uma zona periférica de células tumorais. O número de figuras mitóticas é baixo e entre as células basais são, por vezes, visualizados melanócitos (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

Nos carcinomas basocelulares não existe diferenciação epidérmica e anexial. Na variante do tipo infiltrativo as células dispõem-se em ilhas ou trabéculas que se estendem até à derme ou formam folhas no seio do estroma moderadamente celular. Os núcleos apresentam pleomorfismo reduzido, mas as mitoses são muitas vezes extremamente numerosas (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

1.2.3.1.2 Neoplasias da epiderme

No carcinoma das células escamosas, as células epiteliais formam cordões, ilhas ou trabéculas, apresentando uma quantidade variável de queratina. Invadem a derme e o tecido subcutâneo, podendo induzir uma resposta desmoplástica. É frequente a presença de infiltrados de neutrófilos, plasmócitos e linfócitos no estroma do tecido conjuntivo que

envolve o epitélio neoplásico. As margens da neoplasia podem apresentar neurotropismo e ocorrer invasão dos vasos linfáticos cutâneos e subcutâneos (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

1.2.3.1.3 Neoplasias das glândulas

1.2.3.1.3.1 *Neoplasias das glândulas salivares*

Neoplasias raras, sendo o adenocarcinoma a mais frequente (Uzal *et al.*, 2015). Consiste na proliferação de células anaplásicas, dispostas em ácinos e/ou ductos, trabéculas e agregados sólidos (Uzal *et al.*, 2015; Munday *et al.*, 2017). Nos adenocarcinomas de alto grau, as células neoplásicas exibem perda da diferenciação glandular (Munday *et al.*, 2017).

1.2.3.1.3.2 *Neoplasias da glândula perianal*

Os adenomas das glândulas hepatóides são massas multilobadas, encapsuladas, intradérmicas e subcutâneas. A região central é constituída por células idênticas a hepatócitos, dispostas em cordões, ilhotas e trabéculas. A zona periférica é formada por células de reserva, dispostas numa única camada. O estroma interlobular é rico em vasos sanguíneos e pode conter células inflamatórias (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

Os adenocarcinomas, com uma estrutura em lóbulos e trabéculas menos nítida que a dos adenomas, podem ser constituídos por um único tipo de células. O indicador de malignidade reside nas células hepatóides diferenciadas se encontrarem em mitose e/ou na invasão do tecido conjuntivo e vasos linfáticos circundantes (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

1.2.3.1.3.3 *Neoplasias da glândula apócrina do saco anal*

Nos adenocarcinomas, as células dispõem-se em camadas e/ou rosetas, dando origem a três tipos de padrão (sólido, em rosácea e tubular) que podem existir concomitantemente na mesma neoplasia. O número de mitoses é baixo, dada a propensão para formar metástases, e é comum a invasão do tecido envolvente, induzindo uma resposta desmoplástica dos músculos periretais e dos vasos linfáticos (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

Nos adenomas, lesões delimitadas por uma única camada de células epiteliais cuboides com pleomorfismo nuclear mínimo e atividade mitótica, o estroma envolvente é formado por tecido conjuntivo fibrovascular, infiltrado por um número variável de plasmócitos e macrófagos repletos de pigmento (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

1.2.3.1.4 Neoplasias de órgãos

1.2.3.1.4.1 *Neoplasias hepatocelulares*

Os carcinomas hepatocelulares apresentam grande diversidade histológica, relacionada com o grau de diferenciação dos hepatócitos e arranjo celular, podendo na lesão ser visualizado mais do que um padrão tecidular: trabecular; pseudoglandular; sólido; cirrótico. No padrão trabecular, o mais comum nos animais domésticos, as células encontram-se organizadas formando trabéculas de espessura variável. Pode registrar-se a presença de necrose, sinuosidades dilatadas e espaços preenchidos com sangue (Cullen & Stalker, 2015; Cullen, 2017).

Em carcinomas bem diferenciados as figuras mitóticas são raras. Nas neoplasias pouco diferenciadas os hepatócitos podem apresentar pleomorfismo elevado e as figuras mitóticas são frequentes (Cullen, 2017).

Os adenomas hepatocelulares são lesões bem delimitadas, não encapsuladas, de contorno circular, com perda da arquitetura lobular normal. São formados por trabéculas uniformes, com duas a três células de espessura e as sinuosidades podem encontrar-se dilatadas, formando espaços císticos preenchidos por sangue ou soro (Cullen, 2017).

1.2.3.1.4.2 *Neoplasias biliares*

Os adenomas biliares, formados por túbulos delimitados por uma única camada de células epiteliais bem diferenciadas, possuem quantidades moderadas de estroma (Cullen & Stalker, 2015; Cullen, 2017).

Nos carcinomas biliares, os componentes epiteliais encontram-se geralmente separados por uma quantidade variável de tecido conjuntivo fibroso (Cullen & Stalker, 2015; Cullen, 2017). É frequente a presença de mucina eosinófila ou de reduzida basofilia (H&E) no lúmen dos túbulos ou ácinos neoplásicos e as margens são caracterizadas pela existência de múltiplos locais de invasão do parênquima hepático circundante por células tumorais, podendo ocorrer necrose do parênquima adjacente e existir fibrose (Cullen, 2017).

1.2.3.1.4.3 *Neoplasias do pâncreas exócrino*

Nos adenocarcinomas ductais, as células podem conter mucina no seu citoplasma e encontram-se dispostas em túbulos ou ductos (Jubb & Stent, 2015; Munday *et al.*, 2017). Com quantidades variáveis de estroma, possuem anaplasia celular acentuada e figuras mitóticas frequentes (Munday *et al.*, 2017).

Os adenocarcinomas acinares são formados por células poligonais polarizadas, organizadas em ácinos, lóbulos sólidos ou lâminas. A quantidade de estroma que envolve o ácino é normalmente pequena, mas pode ser abundante quando serve de suporte a massas sólidas ou lâminas de células (Munday *et al.*, 2017).

1.2.3.1.4.4 *Carcinomas renais*

Do ponto de vista histológico, os carcinomas renais mais comuns são as neoplasias sólidas, tubulares, papilares e císticas (Cianciolo & Mohr, 2015; Meuten. & Meuten, 2017).

Os carcinomas sólidos, neoplasias comuns em cães, são constituídos por células epiteliais dispostas de forma contígua, não formando túbulos, ácinos ou papilas. Os limites celulares são geralmente distintos e, dentro de uma mesma lesão, as células e os núcleos apresentam uniformidade (Meuten. & Meuten, 2017).

1.2.3.1.4.5 *Carcinomas pulmonares ou adenocarcinomas pulmonares*

Caracterizados pela presença de estruturas glandulares, papilares, tubulopapilares, acinares ou mistas. A presença de secreções pode conferir a estas lesões uma aparência cística (Caswell & Williams, 2015; Wilson, 2017).

As neoplasias de baixo grau apresentam espaços glandulares revestidos por uma camada de células, cúbicas, colunares ou com aparência pseudoestratificada, que raramente apresentam figuras mitóticas. As neoplasias de alto grau possuem espaços glandulares irregulares, pleomorfismo celular, atipia nuclear e elevado número de mitoses (Wilson, 2017).

1.2.3.1.4.6 *Carcinoma tímico*

Neoplasia lobulada, constituída por estroma hialino abundante, células com núcleos vesiculares pleomórficos, apresentando frequentemente figuras mitóticas. É comum a infiltração do estroma desmoplásico que envolve as ilhas, formadas por células neoplásicas com diferentes graus de queratinização, plasmócitos e linfócitos maduros (Valli *et al.*, 2015).

1.2.3.1.4.7 *Carcinomas nasais e adenocarcinomas*

Os carcinomas são as neoplasias mais frequentes da cavidade nasal e dos seios nasais em canídeos, sendo o adenocarcinoma o mais comum. Constitui uma lesão invasiva, formada por um número variável de ácinos, túbulos ou estruturas papilares, podendo em alguns casos registrar-se uma elevada produção de mucina (Caswell & Williams, 2015).

1.2.3.1.4.8 *Neoplasias gastrointestinais*

Os carcinomas gastrointestinais, independentemente da localização, são caracterizados pelo desvanecimento/destruição da arquitetura da mucosa glandular, devido à multiplicação de células epiteliais poligonais produtoras de muco que tendem a infiltrar-se na lâmina própria, invadindo a submucosa e a túnica muscular, os vasos linfáticos e, por vezes, os vasos sanguíneos (veias). O adenocarcinoma do estômago constitui a neoplasia gástrica mais comum em cães (Uzal *et. al*, 2015).

1.2.3.1.4.9 *Carcinomas da tiróide*

Os carcinomas da tiróide, de dimensões superiores, com maior celularidade e pleomorfismo celular que os adenomas, apresentam-se constituídos por vários nódulos, possuindo frequentemente regiões hemorrágicas e necróticas com posição central. Em alguns casos, são visíveis focos de mineralização ou formação óssea (Rosol & Gröne, 2015).

Atendendo ao padrão histológico de crescimento predominante, os carcinomas diferenciados da tiróide são subdivididos em papilares, foliculares e compactos, sendo os dois últimos tipos os mais comuns nos cães (Rosol & Gröne, 2015).

1.2.3.1.4.10 *Neoplasias da paratiróide*

Nos carcinomas é comum a invasão dos tecidos conjuntivos da paratiróide, da tiróide e periglandulares. As células podem formar folículos e apresentam um grau de pleomorfismo celular e número de figuras mitóticas superiores aos dos adenomas (Rosol & Gröne, 2015).

Os adenomas são constituídos por células dispostas em agregados subdivididos em pequenos grupos, separados por finos septos de tecido conjuntivo com inúmeros capilares. As células neoplásicas podem dispor-se em paliçada, envolvendo pequenos vasos sanguíneos. No estroma podem ser visualizados adipócitos e mastócitos (Rosol & Gröne, 2015).

1.2.3.1.4.11 *Neoplasias adrenais corticais e medulares*

Os adenomas corticais são formados por células bem diferenciadas, dispostas em largas trabéculas ou ninhos separados por pequenos espaços vasculares. Podem ser delimitados, parcialmente ou integralmente, por uma fina cápsula de tecido conjuntivo fibroso e parênquima cortical e apresentarem focos de mineralização e agregados de células de gordura. A existência de hematopoiese extramedular, com megacariócitos e colónias eritróides e granulocíticas, é habitual em canídeos. Nos carcinomas adrenocorticais são visíveis agregados celulares separados por estroma fibrovascular de espessura variável. No

seio destas neoplasias é frequente a presença de hemorragia. É comum a invasão dos tecidos adjacentes, bem como dos vasos sanguíneos e linfáticos (Rosol & Gröne, 2015).

1.2.3.1.4.12 Insulinomas

Os adenomas são lesões bem delimitadas, encontrando-se envolvidos por uma fina cápsula de tecido conectivo fibroso da qual partem septos que dividem a neoplasia em pequenos lóbulos. Podem apresentar, principalmente na periferia, pequenos ninhos de células epiteliais. As figuras mitóticas são raras. Nos carcinomas, lesões multilobulares, as células neoplásicas invadem a cápsula e o parênquima pancreático adjacente. As figuras mitóticas são raras (Rosol & Meuten, 2017).

1.2.3.2 Neoplasias dos tecidos mesenquimais

1.2.3.2.1 Neoplasias de fibroblastos

O fibrossarcoma bem diferenciado é formado por células fusiformes, dispostas em padrões entrelaçados ou em espinha. As figuras mitóticas são raras. Nas neoplasias pouco diferenciadas, o pleomorfismo celular e nuclear é mais acentuado, o número de figuras mitóticas é variável, estando o seu acréscimo associado a lesões de maior agressividade. Por vezes, são visíveis agregados periféricos de linfócitos e eosinófilos (Hendrick, 2017).

Os fibromas são neoplasias benignas, circunscritas e não encapsuladas, formadas por fibrócitos maduros que secretam colagénio (estroma), o qual forma bandas fibrilares normalmente dispostas em feixes entrecruzados. Raramente se observam figuras mitóticas (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Hendrick, 2017).

1.2.3.2.2 Neoplasias da parede perivascular ou da bainha do nervo

Caracterizadas pela presença de agregados perivasculares de células fusiformes, embora esta característica possa estar presente em outros sarcomas (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Hendrick, 2017). Em certas lesões, as células podem formar vasos ramificados de paredes finas ou lóbulos múltiplos com um capilar central (Hendrick, 2017).

A neoplasia pode estar bem demarcada do tecido circundante, mas geralmente invade os planos fasciais, levando a recorrências frequentes (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Hendrick, 2017). O pleomorfismo celular e a atividade mitótica geralmente são baixos nas lesões primárias, mas a atipia celular, o número de mitoses e a presença de formas multinucleadas aumentam com cada recorrência. As células neoplásicas podem variar do

ponto de vista morfológico dentro do mesmo tumor, encontrando-se separadas por quantidades variáveis de estroma formado por colagénio (Hendrick, 2017).

1.2.3.2.3 Neoplasias do endotélio vascular

Os hemangiomas são neoplasias normalmente bem circunscritas, formadas por compartimentos vasculares de dimensão variável com eritrócitos e revestidos por uma única camada de células endoteliais uniformes com núcleos discretos. A presença de trombos com focos de hemossiderose é comum nestas lesões (Robinson & Robinson, 2015; Hendrick, 2017).

Nos hemangiossarcomas, os espaços vasculares são revestidos por células endoteliais de morfologia variável (Robinson & Robinson, 2015; Hendrick, 2017). Os núcleos são pleomórficos, sendo frequente a presença de figuras mitóticas. Em algumas zonas o estroma entre as fendas é acelular, hialino e eosinófilo (Hendrick, 2017).

1.2.3.2.4 Neoplasias do tecido adiposo

As células dos lipomas não podem ser diferenciadas das do tecido adiposo subcutâneo normal. Em alguns casos existe necrose, inflamação e/ou fibrose. As células infiltrantes predominantes são os macrófagos (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Hendrick, 2017).

Os lipossarcomas são comumente formados por células dispostas em lâminas, apresentando núcleos pleomórficos. O estroma, formado por colagénio, é reduzido, podendo estar ausente. Predominam as células análogas a adipócitos normais (Hendrick, 2017).

1.2.3.2.5 Neoplasias mesenquimais compostas por células finas alongadas

1.2.3.2.5.1 *Neoplasias do músculo liso e estroma*

Os leiomiomas, neoplasias benignas não encapsuladas e não invasivas, são constituídos por uma população relativamente homogénea de células fusiformes com citoplasma eosinófilo (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Cooper & Valentine, 2017)

Os leiomiossarcomas, neoplasias malignas não encapsuladas e frequentemente invasivas, apresentam grande diversidade histológica, podendo ser formados por agregados de células fusiformes com as características das células normais do músculo liso, ou serem constituídos por células com maior pleomorfismo, fusiformes, ovais ou redondas. As figuras mitóticas podem ser numerosas. A presença de áreas necróticas e de inflamação podem conduzir à formação de edema (Cooper & Valentine, 2017).

1.2.3.2.5.2 *Neoplasias do músculo estriado*

Os rabdomiomas são formados por células separadas por um estroma vascular fino. As figuras mitóticas são raras ou inexistentes (Cooper & Valentine, 2017).

Os rabdomiossarcomas são classificados em embrionários, botrioides, alveolares e pleomórficos. Os rabdomiossarcomas embrionários são caracterizados pela presença de células miogénicas, arredondadas ou alongadas. No tipo botrioide, a celularidade é reduzida e as células encontram-se suspensas numa matriz mixoide. As neoplasias alveolares são constituídas por agregados de células mal diferenciadas num estroma fibrovascular. No tipo pleomórfico, a população celular apresenta elevado pleomorfismo e as células contêm frequentemente glicogénio (Cooper & Valentine, 2015; Cooper & Valentine, 2017).

1.2.3.2.6 Neoplasias mesenquimais compostas por células redondas ou ovais

1.2.3.2.6.1 *Neoplasias de origem óssea*

Os osteossarcomas são neoplasias de aparência histológica diversificada, em que a formulação de um diagnóstico definitivo tem por base a presença de osteoide e/ou osso produzido por osteoblastos malignos. A matriz pode conter quantidades variáveis de cartilagem, colagénio e osteoide (Craig *et. al*, 2015; Thompson & Dittmer, 2017).

Os osteossarcomas osteoblásticos produtivos apresentam osteoide abundante, mas a quantidade deste componente é reduzida nos osteossarcomas não produtivos e moderadamente produtivos (Thompson & Dittmer, 2017). Este material hialino eosinófilo pode formar cordões ou fitas estreitas entre as células malignas ou agregados irregulares/espículas separados por osteoblastos malignos (Craig *et. al*, 2015; Thompson & Dittmer, 2017).

Os osteoclastos malignos são células pleomórficas em que as figuras mitóticas são frequentes, podendo ser atípicas (Craig *et. al*, 2015; Thompson & Dittmer, 2017).

As espículas ósseas encontram-se geralmente desorganizadas, sem conexão, sendo os espaços entre elas preenchidos por osteoblastos malignos. Áreas de necrose e hemorragia são comuns em osteossarcomas de crescimento rápido (Thompson & Dittmer, 2017).

1.2.3.2.6.2 *Neoplasias dos condrócitos*

O condrossarcoma central é normalmente constituído por múltiplos lóbulos de células mesenquimais neoplásicas com matriz condroide. Com reduzida vascularização, apresenta frequentemente focos de mineralização ou necrose e, por vezes, centros de

ossificação endocondral de dimensão variável. Os condrócitos neoplásicos podem penetrar na cavidade medular e no córtex do osso, envolverem os vestígios de trabéculas ósseas pré-existent e infiltrarem os tecidos moles contíguos. As figuras mitóticas são relativamente comuns nos condrossarcomas de alto grau, mal diferenciados, mas raras nas neoplasias bem diferenciadas (Craig *et. al*, 2015; Thompson & Dittmer, 2017).

1.2.3.2.6.3 Neoplasias das células sinoviais

O sarcoma das células sinoviais, formado por células fusiformes, não possui características específicas distintivas, devendo efetuar-se coloração imunohistoquímica (IHQ) para proceder à identificação desta neoplasia (Craig & Thompson, 2017)

1.2.3.2.6.4 Neoplasias dos melanócitos

As células do melanoma maligno, neoplasia comum no cão, possuem pleomorfismo nuclear, três ou mais figuras mitóticas por dez campos e mitoses atípicas (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015). Quando presente na pele, é formado por melanócitos dispostos individualmente ou em pequenos agregados, na base da epiderme ou nas camadas superiores. (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

A parte dérmica é habitualmente constituída por melanócitos anaplásicos e pleomórficos, epiteliais/poligonais, fusiformes ou por uma combinação destas duas formas, com uma quantidade variável de melanina intracitoplasmática. As células epiteliais/poligonais formam frequentemente agregados rodeados por estroma fino fibroso, enquanto que as células fusiformes originam geralmente um padrão entrecruzado, imitando um fibrossarcoma (Goldschmidt & Goldschmidt, 2017).

1.2.3.3 Neoplasias de células redondas

1.2.3.3.1 Mastocitomas

Os mastocitomas cutâneos não apresentam cápsula, mas são bem delimitados, com exceção dos mastocitomas de menor grau de diferenciação, habitualmente com menor capacidade infiltrativa, em que a delimitação é mais difícil (Kiupel, 2017).

A presença de esclerose, edema, necrose, inflamação linfocítica secundária e lise do colagénio é comum. Por vezes, devido à existência de hemorragias ou edemas, é possível a visualização de focos azuis nas zonas afetadas. Em muitos mastocitomas a quantidade de eosinófilos presentes é elevada (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Kiupel, 2017). Os mastócitos neoplásicos podem apresentar-se agrupados em lâminas ou filas e no seu

citoplasma são visíveis grânulos cinza claro ou azul quando corados com H&E, ou de cor roxa quando são aplicados corantes metacromáticos (Kiupel, 2017).

1.2.3.3.2 Plasmocitomas

As células, dispostas em lâminas, possuem citoplasma eosinófilo a anfófilo, pleomorfismo nuclear e as figuras mitóticas são geralmente escassas (Hendrick, 2017).

Segundo Hendrick (2017), o padrão de cromatina habitual nos plasmócitos não se encontra presente na maioria das células neoplásicas. Contudo, na periferia do tumor, onde a densidade celular é menor, as células apresentam maiores semelhanças com os plasmócitos, exibindo algumas zonas perinucleares claras (Golgi) ou agregados citoplasmáticos circulares.

Em algumas neoplasias dos plasmócitos, cutâneas ou orais (10% nos canídeos), pode ser detetada a presença de amilóide primária formando depósitos dispersos por entre as células neoplásicas ou, ocasionalmente, nas paredes dos vasos sanguíneos (Hendrick, 2017).

1.2.3.3.3 Linfomas

Os linfomas difusos de grandes células B constituem o grupo de linfomas mais comum em cães. Neoplasias agressivas e de crescimento rápido, são formadas por células, na maioria dos casos, semelhantes a centroblastos e/ou imunoblastos. Possuem grandes nucléolos anfófilos e as mitoses são comuns, podendo ser visualizadas formas atípicas. Observa-se positividade para marcadores tais como CD79a ou CD20 e um alto índice proliferativo Ki-67 (Valli *et al.*, 2015; Valli *et al.*, 2017).

1.2.3.3.4 Neoplasias de origem histiocítica

1.2.3.3.4.1 *Histiocitoma cutâneo*

Caracterizado pela existência de uma infiltração dérmica de células redondas, ligeiramente pleomórficas, com figuras mitóticas geralmente numerosas, dispostas em cordões ou lâminas, existindo pouco ou nenhum estroma e em que as estruturas anexas se encontram destruídas (Mauldin & Peters-Kennedy, 2015; Hendrick, 2017). As células estendem-se das junções dermoepidérmicas para a derme profunda e para o panículo e a neoplasia pode assumir diferentes aspetos, dependendo da idade da lesão e do nível de necrose e inflamação secundária existente (Hendrick, 2017).

Em alguns casos verifica-se a infiltração da epiderme por células neoplásicas, imitando os abscessos de Pautrier do linfoma cutâneo. É comum a visualização de agregados densos de linfócitos maduros na base do tumor. Em lesões mais antigas é frequente a presença de ulceração e necrose nas margens profundas e laterais das neoplasias (Hendrick, 2017).

1.2.3.3.4.2 *Sarcomas histiocíticos de linhagens dendríticas e de macrófagos*

Maioritariamente formadas por células dispostas em lâminas soltas, sem estroma ou com estroma reduzido, podendo conter eritrócitos fagocitados, hemossiderina ou detritos celulares. As células podem assemelhar-se a macrófagos normais ou apresentarem grande pleomorfismo e dimensões variáveis (Hendrick, 2017). É normal a observação de figuras mitóticas, muitas das quais atípicas (Craig *et. al*, 2015; Hendrick, 2017). Em algumas lesões, podem ser visualizadas células inflamatórias no seio das células neoplásicas (Hendrick, 2017).

1.2.3.3.5 Tumor venéreo transmissível (TVT)

As células encontram-se dispostas em lâminas soltas, filas ou cordões e as figuras mitóticas são frequentes (Schlafer & Foster, 2015; Hendrick, 2017). As lesões podem apresentar infiltrados formados por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos e macrófagos e nas neoplasias em regressão a presença de zonas de necrose e fibrose e de inflamação são frequentes (Hendrick, 2017).

1.2.4 Vantagens e desvantagens do exame histológico

O exame histológico baseia-se na interpretação das observações efetuadas sobre a arquitetura celular e tecidual das amostras, podendo a mesma lesão ser perspectivada de forma diferente por vários patologistas (Whitley, 2010).

Nem sempre as neoplasias exibem todas as características classicamente associadas às mesmas, dificultando a análise das alterações encontradas e o estabelecimento de um diagnóstico morfológico fiável (Whitley, 2010).

Outra importante limitação reside na complexidade associada à diferenciação entre processo inflamatório e resposta inflamatória ou imune de uma neoplasia. A distinção das respostas fibroblásticas hiperplásicas na cicatrização de feridas e a proliferação neoplásica de fibroblastos pode também ser difícil de efetuar (Whitley, 2010).

As alterações do tecido necessárias ao diagnóstico nem sempre estão presentes na amostra submetida, pelo que pode ser necessária a obtenção de uma segunda opinião ou a realização de estudos adicionais (Whitley, 2010).

Devem, ainda, ser considerados os riscos inerentes ao ato cirúrgico e à administração anestésica, procedimentos por vezes necessários à colheita das amostras, bem como as complicações associadas ao período pós-operatório (Friedrichs & Young, 2013).

Contudo, o exame histológico, se tiver sido preservada a arquitetura tecidual, pode revelar-se indispensável no estabelecimento do diagnóstico definitivo e na determinação do tipo de neoplasia, sua extensão e metastização (Friedrichs & Young, 2013).

O exame histológico permite avaliar a arquitetura tecidual e, conseqüentemente, determinar se estamos perante uma neoplasia inflamada ou uma lesão primária inflamatória com indução de hiperplasia reativa secundária e/ou displasia. Possibilita, também, identificar o grau do tumor e sua invasividade, importantes na definição do prognóstico. Quando os critérios citológicos de malignidade estão ausentes, a invasividade constitui um importante indicador de malignidade nas neoplasias da glândula perianal e mamárias (Whitney & Berent, 2010).

2 Objetivos

O objetivo geral deste estudo é determinar a relevância da citologia realizada internamente em centros de atendimento médico veterinário, através da concordância entre os diagnósticos citológico e histológico, realizado posteriormente em laboratório especializado, em lesões suspeitas de neoplasia em cães.

Os objetivos específicos que presidem ao mesmo são: relacionar os diagnósticos obtidos por análise citológica com os alcançados por exame histológico; estabelecer a concordância entre diagnósticos citológico e histológico (*gold standard*) na distinção de lesões neoplásicas e não neoplásicas e na identificação do tipo celular e carácter (benigno/maligno) da neoplasia.

3 Materiais e métodos

3.1 Material

Os dados do presente estudo, referentes a neoplasias em canídeos, constam da base de dados do hospital veterinário VetSet, localizado em Palmela, e reportam ao período compreendido entre 1 de janeiro de 2012 e 31 de dezembro de 2016.

3.2 Métodos

3.2.1 Critérios de seleção

Num primeiro momento do estudo, foram analisados todos os exames citológicos relativos a canídeos efetuados no hospital VetSet, no espaço temporal anteriormente referenciado.

Posteriormente, foram selecionados todos os casos em que os pacientes foram submetidos a cirurgia e/ou biópsia com análise histopatológica subsequente, realizada no Laboratório de Investigação Científica e Análises Moleculares (DNAtech), em Lisboa.

Por último, a seleção incidiu nas lesões onde existia um diagnóstico citológico e/ou histológico de neoplasia.

3.2.2 Consulta dos relatórios citológicos, histológicos e das fichas clínicas

Foram consultados os exames citológicos dos 49 casos selecionados, tendo sido recolhida informação sobre:

- localização anatómica e órgão afetado pela lesão;
- dimensão da lesão;
- método de recolha, operador que efetuou o procedimento e data em que o mesmo decorreu;
- preservação, coloração e celularidade da amostra;
- presença/ausência de ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação;
- existência/inexistência de multinuclearidade, anisocariose e anisocitose, nucléolos múltiplos, nucléolos evidentes, figuras mitóticas, mitoses atípicas, alteração do rácio N:C e vacuolização;
- tipo de células visualizadas;
- diagnóstico citológico.

Posteriormente, foram analisados os relatórios histológicos relativos aos mesmos pacientes e foram extraídos os dados respeitantes:

- ao método de recolha da amostra;
- à data da realização do exame;
- ao tipo de células predominante e tecido;
- à presença/ausência de inflamação e necrose;
- à existência/inexistência de multinuclearidade, mitoses atípicas, invasão vascular e linfática e infiltração de tecido vizinhos;
- ao número de mitoses por dez campos;
- ao grau histológico, no caso das neoplasias malignas;
- à realização ou não de IHQ;
- ao diagnóstico histológico.

Por último, foi examinada toda a informação proveniente das fichas clínicas sobre dados demográficos, raça, sexo (machos/fêmeas; castrados/inteiros) e idade, sinais clínicos e história pregressa. Sempre que no registo do paciente era relatado o ano do seu nascimento, mas não era feita referência ao dia e mês, a data considerada foi o primeiro dia do mês de janeiro do ano mencionado.

Todo o material colhido para análise citológica e exame histológico foi obtido *in vivo*.

Quando um mesmo animal foi referenciado em diferentes exames citológicos e histológicos, provenientes de amostras de lesões diferentes, os dados foram considerados na análise estatística em todos os campos, com exceção dos referentes ao sexo, idade e raça.

A colheita de amostras para exame citológico foi efetuada por PNAAF ou por PAAF, existindo quatro situações em que o método de recolha não é referenciado (desconhecido). Na obtenção das preparações citológicas foram utilizados corantes do tipo Romanowsky (Diff-Quick) e as lâminas examinadas por um médico veterinário não especializado da VetSet, em microscópio ótico composto binocular, sem conhecimento do resultado histológico correspondente.

No que concerne ao diagnóstico citológico, o termo inconclusivo foi utilizado sempre que se revelou impossível a identificação inequívoca de células representativas, quantitativamente e qualitativamente, nomeadamente devido ao elevado grau de contaminação sanguínea da amostra.

Quando o relatório da citologia referia a possibilidade de diferentes diagnósticos, benignos e malignos, foi considerado como inconclusivo o carácter benigno/maligno da lesão.

A nível citológico, o tipo de célula foi referenciado como inconclusivo sempre que foram apresentados diferentes diagnósticos caracterizados por tipos celulares distintos para uma mesma lesão.

Sempre que o diagnóstico citológico foi considerado inconclusivo ou foram apresentados mais do que dois possíveis diagnósticos para uma mesma lesão, foi utilizada a designação de inconclusiva para a existência ou não de uma neoplasia.

Relativamente às lesões identificadas como não neoplásicas, não foi indicado o tipo de células constituinte/predominante observado nos exames citológico e histológico.

Os dados referentes à variável dimensão da lesão foram, para facilidade de tratamento estatístico, agrupados em intervalos de valores (0 a 1,99cm; 2 a 5cm; maiores de 5cm).

Relativamente ao exame histológico, das 49 lesões referenciadas 44 amostras foram obtidas por excisão e apenas 5 por método incisional. A peça, fixada em formalina, foi geralmente enviada na íntegra para análise. Quando tal se revelou impossível, procedeu-se à expedição de material representativo da neoplasia, tendo sido evitadas as áreas com contaminação sanguínea.

Para efeitos de tratamento estatístico, sempre que no relatório histológico não era referido o número de mitoses por dez campos, optou-se pela utilização do termo desconhecido.

3.2.3 Análise estatística

Os dados foram previamente inseridos e processados numa base de dados Oracle (Oracle, EUA), criada para o efeito e, posteriormente, exportados para Excel.

A análise estatística foi realizada com recurso ao programa informático Microsoft Excel 2016 (Microsoft, EUA).

Inicialmente, procedeu-se à análise estatística descritiva das seguintes variáveis: raça, sexo, idade, localização anatómica e órgão da afeção, método de recolha da amostra para exame citológico e histológico, tipo de lesão (neoplásica/não neoplásica), caracterização da neoplasia (benigna/maligna), célula predominante/tipo celular e diagnóstico.

Posteriormente, analisou-se a relação existente entre os diagnósticos obtidos (citológico e histológico), o tipo de lesão, o tipo de neoplasia (benigna/maligna) e o tipo celular das lesões.

4 Resultados

Tendo por base os critérios de inclusão estabelecidos neste estudo, foram selecionadas 49 lesões presentes em 40 cães. Sete dos animais foram avaliados relativamente a duas lesões distintas e em apenas um cão foram analisadas três lesões diferentes.

Todas as análises citológicas (49) foram realizadas no hospital VetSet e os relatórios histológicos (49) provêm exclusivamente do Laboratório de Investigação Científica e Análises Moleculares (DNAtech), em Lisboa.

4.1 Caracterização da amostra estudada

A distribuição relativa das neoplasias observadas na amostra quanto à raça e sexo encontra-se representada, respetivamente, nos gráficos 1 e 2.

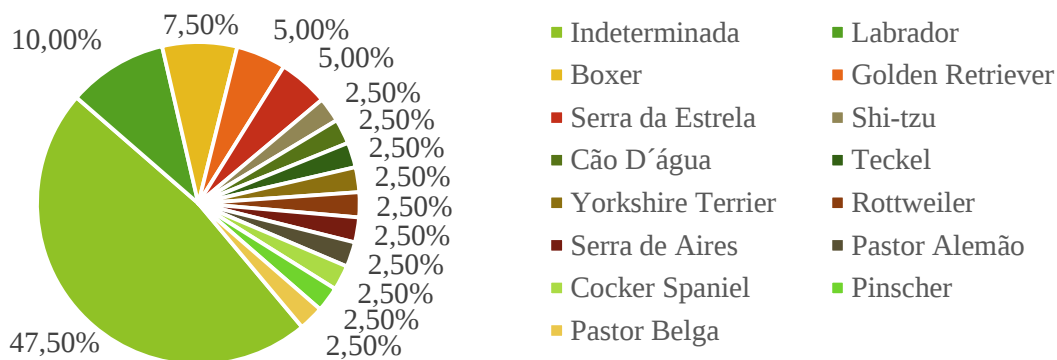


Gráfico 1 – Distribuição relativa das neoplasias observadas quanto à raça.

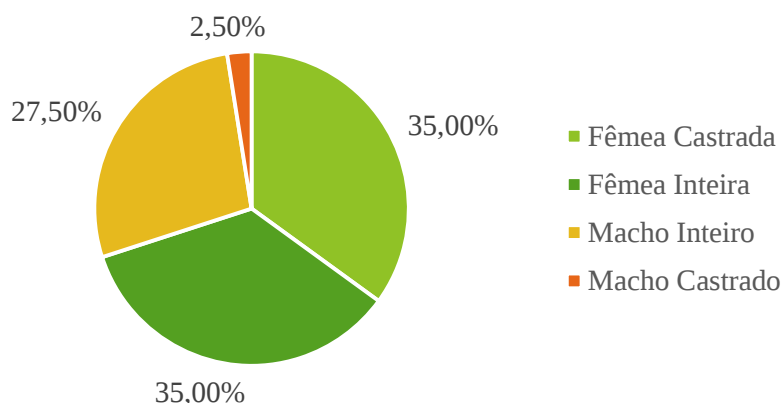


Gráfico 2 – Distribuição relativa das neoplasias observadas quanto ao sexo.

4.1.1 Raça

Dos 40 cães incluídos no estudo, 52,50% (n=21) eram de raça pura e 47,50% (n=19) reportavam a canídeos de raça indeterminada.

Dos animais de raça pura: 10,00% (n=4) eram Labradores; 7,50% (n=3) eram da raça Boxer; as raças Golden Retriever e Serra da Estrela apresentavam um valor de 5,00% (n=2) cada uma; e as raças Teckel, Pinscher, Cão D'água, Yorkshire Terrier, Pastor Belga, Shi-Tzu, Pastor Alemão, Cocker Spaniel, Serra de Aires e Rottweiler com 2,50% (n=1) cada uma (Gráfico 1).

4.1.2 Sexo (machos/fêmeas; castrados/inteiros)

Na população estudada (n=40; 100%), 70,00% (n=28) eram fêmeas e 30,00% (n=12) eram machos. Relativamente às fêmeas, 50,00% (n=14) eram inteiras e 50,00% (n=14) eram castradas. Nos machos, 91,67% (n=11) eram machos inteiros e 8,33% (n=1) eram castrados (Gráfico 2).

4.1.3 Idade

A idade dos animais variou entre 4 e 15 anos, sendo a média de 9,5 anos e a mediana de 10 anos. Registou-se uma maior incidência de lesões nos cães com 11 anos, 17,50% (n=7).

4.2 Caracterização geral das lesões

A caracterização das lesões analisadas quanto à localização anatômica e à presença de ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação, encontra-se expressa nos gráficos 3 e 4.

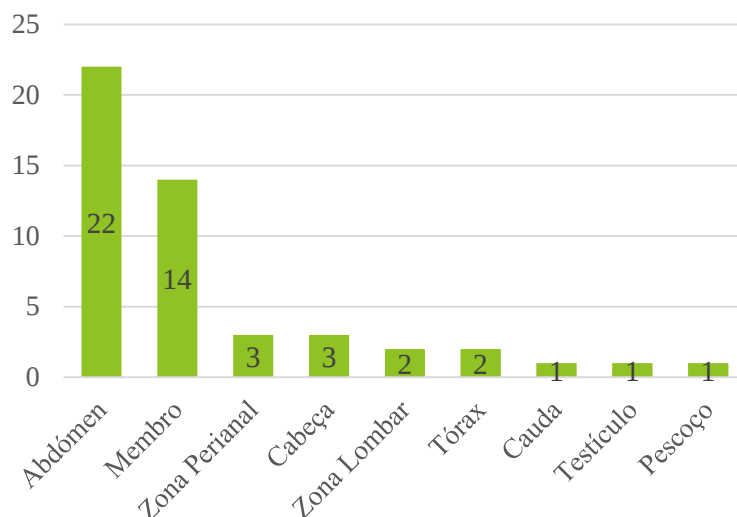


Gráfico 3 – Distribuição absoluta da localização anatômica das lesões.

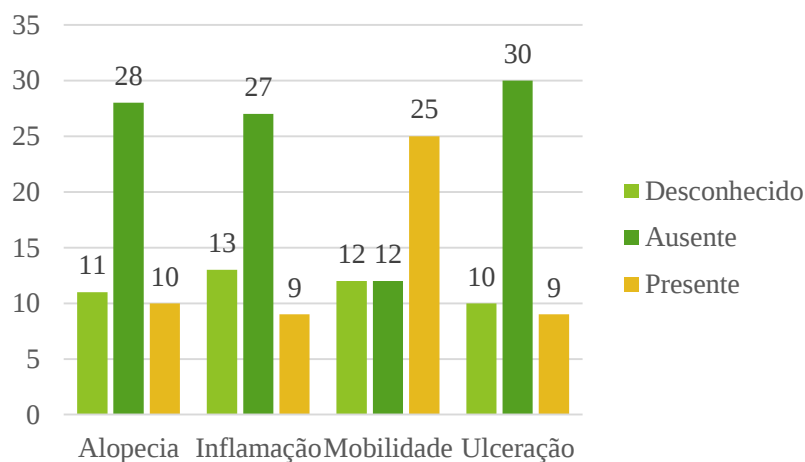


Gráfico 4 – Distribuição absoluta da presença de ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação.

4.2.1 Localização

Quanto à localização anatômica (Gráfico 3), as neoplasias mais comuns situavam-se no abdômen, 44,90% (n=22), seguidas das existentes nos membros, 28,57% (n=14), zona perianal, 6,12% (n=3), cabeça, 6,12% (n=3), zona lombar, 4,08% (n=2), tórax, 4,08% (n=2), cauda, 2,04% (n=1), testículo, 2,04% (n=1), e pescoço, 2,04% (n=1).

4.2.2 Dimensões

Verificou-se um claro predomínio das lesões com dimensões inferiores a 5cm, 82% (n= 41), sendo que 44% apresentavam entre 0,1 e 1,99 cm e 38% estavam compreendidas entre 2 e 5 cm.

Cinco lesões (10%) possuíam dimensões superiores a 5cm, desconhecendo-se o diâmetro de quatro dos casos.

4.2.3 Ulceração, mobilidade, alopecia e inflamação

Nas lesões analisadas, observou-se um claro predomínio da inexistência de ulceração, 61,22% (n=30). Em 18,37% (n=9) das situações a mesma estava presente e não existia qualquer indicação relativamente a esta variável em 20,41% (n=10) dos casos.

Cerca de metade, 51,02% (n=25), das lesões eram móveis, 24,49% (n=12) não apresentavam mobilidade e em 24,49% (n=12) não existia informação sobre esta característica.

Em 57,14% (n=28) das ocorrências não havia alopecia, 20,41% (n=10) apresentavam alopecia e em 22,45% (n=11) não existia qualquer referência.

Não existia inflamação em 55,10% (n=27) das lesões, sendo relatada a presença da mesma apenas em 18,37% (n=9) dos casos analisados. Não há qualquer informação relativamente a esta característica para 26,53% (n=13) das situações (Gráfico 4).

4.3 Exame citológico

Relativamente ao exame citológico foram analisados os seguintes aspetos: métodos utilizados na recolha das amostras; preservação, coloração e celularidade das amostras; critérios celulares, citoplasmáticos e nucleares de malignidade presentes na preparação; e diagnóstico citológico (tipo de lesão - gráfico 5; tipos de neoplasias - gráfico 6).

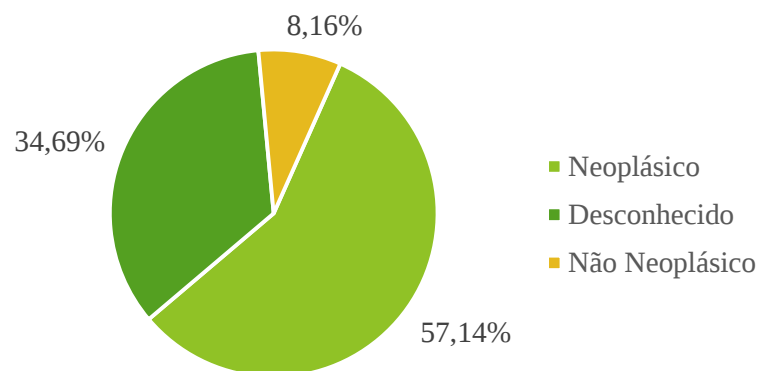


Gráfico 5 – Tipo de lesão.

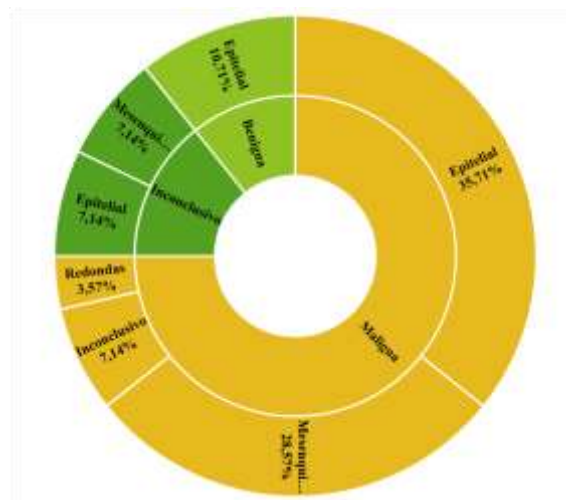


Gráfico 6 – Frequência relativa do tipo de neoplasia.

4.3.1 Método de recolha

As técnicas de colheita mais utilizadas foram a PNAAF, 53,06% (n=26), e a PAAF, 32,65% (n=16). Em 6,12% dos casos (n=3) foram efetuados os dois métodos (PNAAF e PAAF). O tipo de processo usado na recolha não é referenciado em 8,16% (n=4) das lesões amostradas.

4.3.2 Preservação, coloração e celularidade da amostra

Relativamente à celularidade da amostra, é referido que a mesma é adequada nos 49 exames citológicos efetuados.

No que concerne à preservação e coloração do material amostrado/preparação, não existe qualquer informação.

Todos os exames citológicos foram corados pelo método Diff-Quick.

4.3.3 Critérios celulares, citoplasmáticos e nucleares de malignidade

Os critérios celulares e citoplasmáticos de malignidade patentes nos relatórios citológicos elaborados são a anisocitose, a variação N:C e a vacuolização.

A presença de anisocitose foi referenciada em 16,33% (n=8) das preparações (severa – 10,20%; severa e moderada – 4,08%; moderada – 2,04%). As alterações da razão N:C foram registadas em apenas um caso (2,04%) e a vacuolização foi mencionada em 10,20% (n=5) das amostras.

Os critérios nucleares de malignidade avaliados foram anisocariose, multinuclearidade, nucléolos múltiplos, nucléolos evidentes, aumento do número de mitoses e mitoses atípicas.

A anisocariose estava presente em 20,41% (n=10) das lâminas (severa – 14,29%; severa e moderada – 4,08%; moderada – 2,04%) e a presença de vários núcleos por célula (multinuclearidade) foi visível em 12,24% (n=6) das preparações.

Em nenhuma das amostras é referida a existência de nucléolos múltiplos, embora em 12,24% (n=6) dos casos os nucléolos sejam evidentes (Tabela 9).

Não foi feita alusão à presença de mitoses atípicas nas lesões e a presença de figuras mitóticas é referida em apenas um caso (2,04%).

Tabela 9 – Critérios celulares, citoplasmáticos e nucleares de malignidade observados.

Anisocitose			N:C		Anisocariose			Multinuclearidade		Nucléolos Evidentes	
Tipo	n	%	n	%	Tipo	n	%	n	%	n	%
Severa	5	10,20%	1	2,04%	Severa	7	14,29%	6	12,24%	6	12,24%
Severa e moderada	2	4,08%			Severa e moderada	2	4,08%				
Moderada	1	2,04%			Moderada	1	2,04%				

4.3.4 Diagnóstico citológico

Dos 49 (100%) exames citológicos efetuados, o diagnóstico proposto em 57,14% (n=28) dos casos foi de neoplasia, em 8,16% (n=4) das lesões foi não neoplásico e em 34,69% (n=17) é referido como sendo desconhecido o tipo de lesão (Gráfico 5).

Relativamente às citologias em que o tipo de lesão é referenciado como desconhecido (n=17; 100%), 41,18% (n=7) dos diagnósticos foram inconclusivos devido à hemodiluição presente na preparação e 58,82% (n=10) das situações apresentaram dois ou mais diagnósticos contraditórios (neoplásico e não neoplásico).

Das lesões neoplásicas, n=28 (100%), 74,99% (n=21) eram malignas, 10,71% (n=3) eram benignas e em 14,28% (n=4) das neoplasias a caracterização da lesão foi considerada como inconclusiva, uma vez que o relatório da citologia referia a possibilidade de diferentes diagnósticos, benignos e malignos (Gráfico 6).

Das neoplasias malignas (n=21, 100%), 47,62% (n=10) eram epiteliais, 38,10% (n=8) eram mesenquimatosas, 4,76% (n=1) eram de células redondas e 9,52% (n=2) foram classificadas como inconclusivas por terem sido apresentados diferentes diagnósticos, caracterizados por tipos celulares distintos, para uma mesma lesão. Todas as neoplasias benignas examinadas eram do tipo epitelial.

Das citologias em que o critério benignidade/malignidade foi inconclusivo, o exame era sugestivo de um processo epitelial em 50,00% (n=2) das lesões e de um processo mesenquimatoso em 50,00% (n=2) dos casos.

4.4 Exame histológico

No que concerne ao exame histológico, foram analisados os seguintes aspetos: métodos de recolha das amostras; presença/ausência de inflamação, necrose, encapsulamento e hemorragia; características histológicas; número de mitoses por dez campos (gráfico 7); diagnóstico histológico (tipo de lesão - gráfico 8; tipos de neoplasias - gráfico 9).

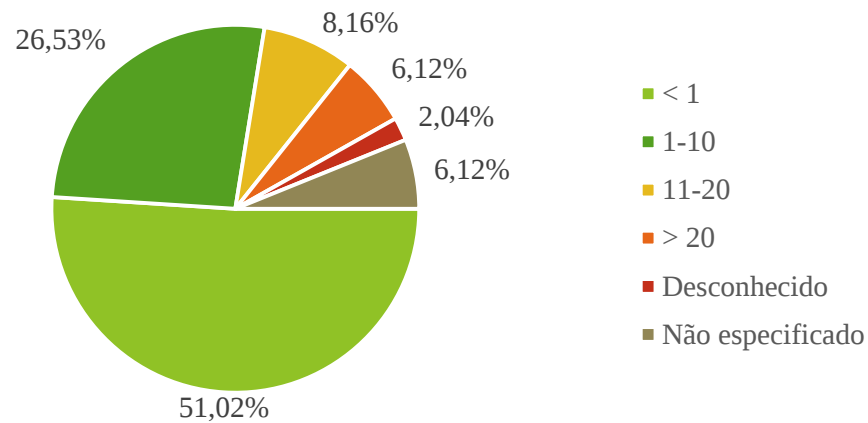


Gráfico 7 – Número de mitoses por 10 campos de observação.

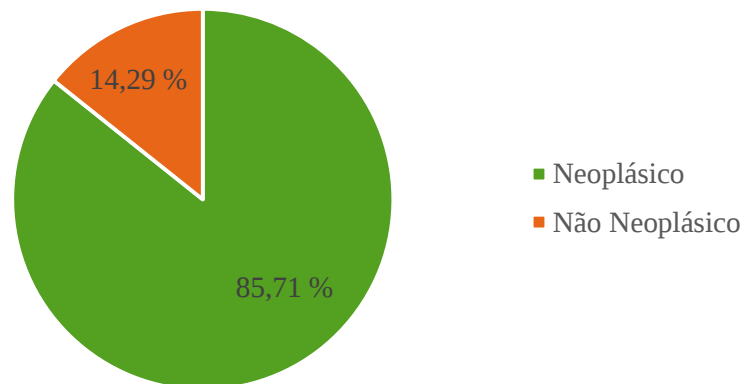


Gráfico 8 – Frequência relativa do tipo de lesão.

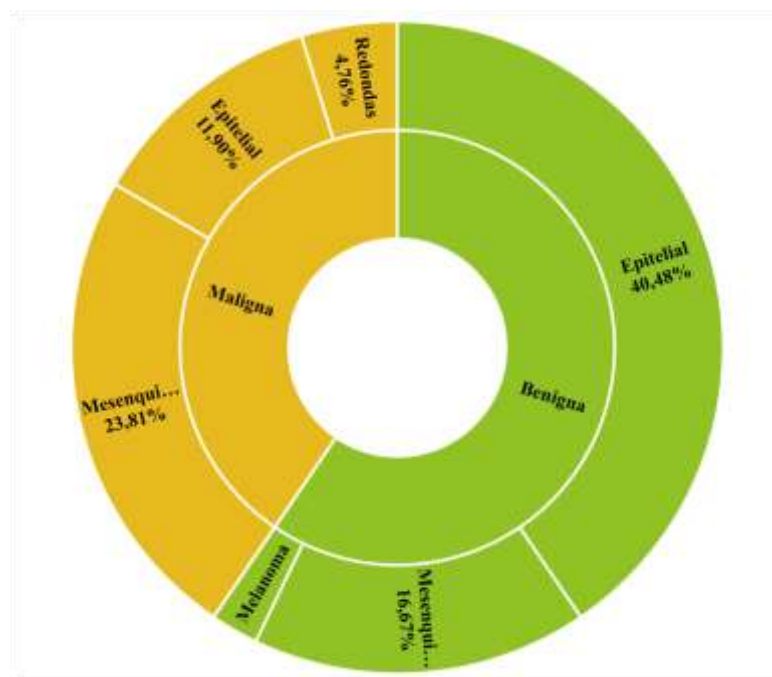


Gráfico 9 – Frequência relativa do tipo de neoplasia.

4.4.1 Método de recolha

O método mais comumente usado na colheita de tecidos foi o excisional, 89,80% (n=44). A biópsia incisional correspondeu a 10,20% (n=5) dos atos praticados.

4.4.2 Inflamação, necrose, encapsulamento e hemorragia

Foi detetada a presença de inflamação, hemorragia e necrose em, respetivamente, 4,08% (n=2), 22,45% (n=11) e 12,24% (n=6) das histologias.

Apenas em cerca de metade houve referência à presença de cápsula, 42,86% do total das lesões, 10,20% (n=5) das situações não exibiam encapsulamento e em 46,94% (n=23) dos exames histológicos este parâmetro é desconhecido.

4.4.3 Características histológicas

Em nenhum dos exames histológicos foi visualizada multinuclearidade, mitoses atípicas e invasão vascular.

Já a invasão linfática é descrita em apenas um caso (2,04%) de carcinoma e mioepitelioma mamário maligno de grau III.

A infiltração dos tecidos vizinhos é relatada num caso (2,04%) de carcinoma das células escamosas do tipo verrucoso.

O grau de diferenciação das lesões é referenciado como bem diferenciado em 46,94% (n=23) dos exames e pouco diferenciado em 2,04% (n=1) das histologias.

Em 91,84% (n=45) dos exames não é observado pleomorfismo e em 8,16% (n=4) das preparações regista-se a presença deste parâmetro.

4.4.4 Número de mitoses por dez campos de observação

Este critério não era especificado em 6,12% (n=3) dos exames efetuados e era desconhecido para 2,04% (n=1) dos casos.

Em 51,02% (n=25) das histologias o número registado era nulo (< 1), em 26,53% (n=13) das observações o valor encontrava-se compreendido entre 1 e 10 mitoses, sendo igual a 8,16% (n=4) para o intervalo de 11 a 20 mitoses por dez campos e de 6,12% (n=3) para valores superiores a 20 figuras mitóticas (Gráfico 7).

4.4.5 Diagnóstico histológico

Das 49 (100%) histologias efetuadas, 85,71% (n=42) correspondiam a neoplasias e 14,29% (n=7) representavam lesões não neoplásicas (Gráfico 8).

Das 42 (100%) neoplasias observadas, 40,47% (n=17) foram classificadas como malignas e 59,53% (n=25) como benignas (Gráfico 9).

Atendendo ao tipo de célula predominante, nas neoplasias malignas 23,81% (n=10) eram mesenquimatosas, 11,90% (n=5) eram epiteliais e 4,76% (n=2) eram de células redondas. As neoplasias benignas eram maioritariamente formadas por células epiteliais, 40,48% (n=17), 16,67% (n=7) eram mesenquimais e 2,38 % (n=1) correspondiam a melanomas (Gráfico 9).

4.5 Análise comparativa entre os exames citológico e histológico

A concordância entre os exames citológico e histológico relativamente ao tipo de lesão, tipo celular, carácter da neoplasia e conjugação dos parâmetros tipo celular e carácter da neoplasia encontra-se representada nos gráficos 10, 11, 12 e 13.

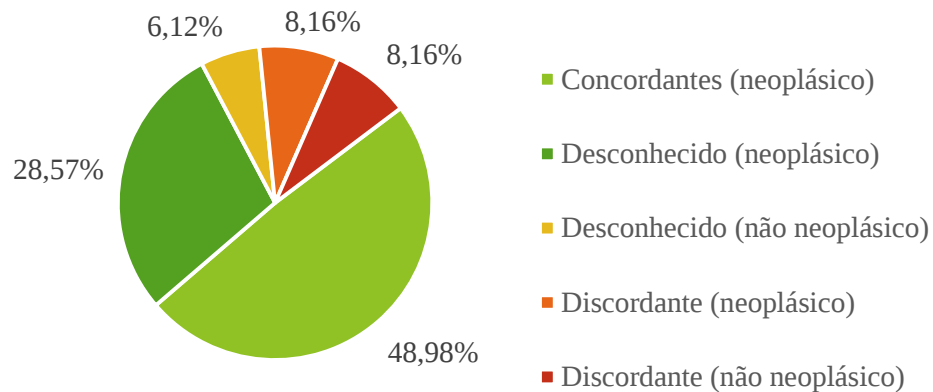


Gráfico 10 – Análise comparativa – tipo de lesão.

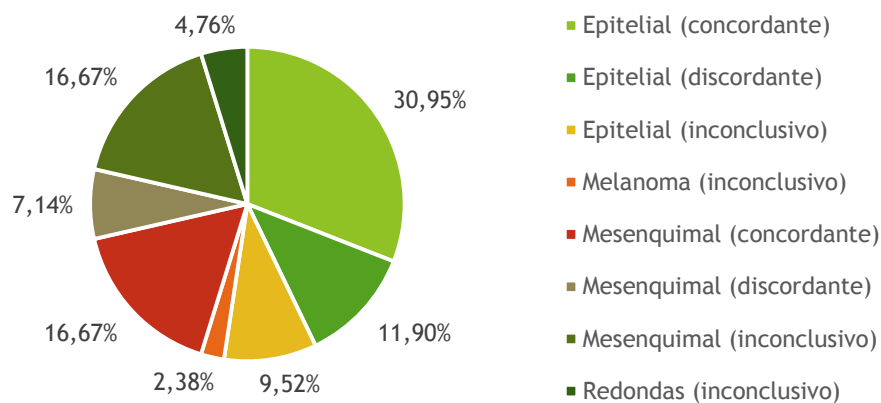


Gráfico 11 – Análise comparativa – tipo celular da neoplasia.

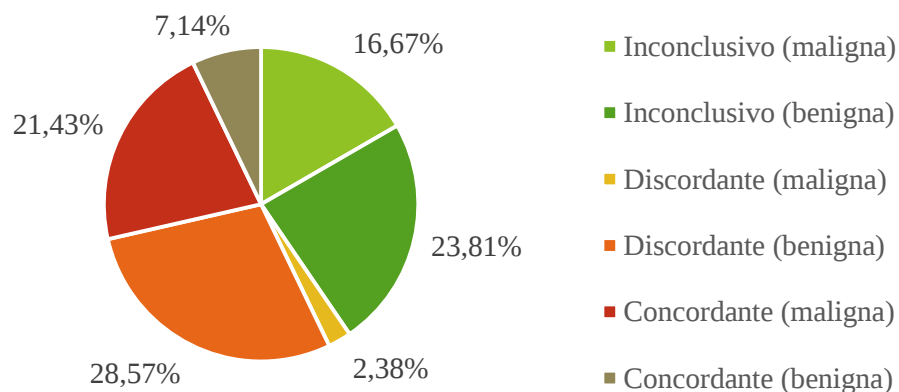


Gráfico 12 – Análise comparativa – carácter da neoplasia.



Gráfico 13 – Análise comparativa – tipo celular e carácter da neoplasia.

4.5.1 Tipo de lesão – neoplásica/não neoplásica

Em 36,73% (n=18) dos processos diagnosticados histologicamente como neoplásicos não existiu concordância com as citologias, verificando-se que em 28,57% (n=14) dos casos o resultado da citologia é referenciado como desconhecido e em 8,16% (n=4) das situações a lesão foi considerada como não neoplásica.

Em todas as histologias referentes a processos não neoplásicos, 14,28% (n=7), não existiu correspondência com as citologias. 6,12% (n=3) dos relatórios citológicos indicam que o tipo de lesão é desconhecido e em 8,16% (n=4) o mesmo é identificado como uma neoplasia.

Relativamente ao tipo de lesão, neoplásica/não neoplásica, a análise comparativa dos exames histológicos (*gold standard*) e citológicos permitiu constatar a existência de concordância em 48,98% (n=24) dos resultados obtidos, todos eles alusivos a neoplasias (Gráfico 10).

4.5.2 Tipo celular

No que concerne ao tipo celular predominante na lesão, 52,37% (n=22) das 42 (100%) neoplasias diagnosticadas histologicamente foram classificadas como epiteliais,

40,51% (n=17) eram mesenquimatosas, 4,76% (n=2) eram de células redondas e 2,38% (n=1) correspondiam a melanomas (Gráfico 11).

Nas neoplasias epiteliais (n=22; 100%), obteve-se o mesmo resultado em 59,09% (n=13) das citologias realizadas. Os diagnósticos foram diferentes em 40,91% (n=9) dos casos, 44,44% (4 de 9) dos quais pelo exame citológico ter sido inconclusivo.

Nas neoplasias mesenquimatosas (n=17; 100%), os resultados foram iguais em 41,18% (n=7) das análises citológicas e discordantes em 58,82% (n=10) das situações. 70,00% dos exames em que se verificou discordância (7 em 10) eram inconclusivos.

Não se verificou concordância entre os exames citológicos e histológicos relativos às neoplasias de células redondas e melanomas.

4.5.3 Carácter da neoplasia – benigna/maligna

No que respeita ao carácter da neoplasia, o exame histológico permitiu identificar 59,52% (n=25) lesões benignas e 40,48% (n=17) malignas (Gráfico 12).

Em 12,00% (n=3) das neoplasias benignas (n=25; 100%) os resultados obtidos por citologia foram idênticos e em 88,00% (n=22) dos casos foram discordantes. Dos diagnósticos que diferiram dos obtidos por histologia (n=22; 100%), 45,45% (n=10) devem-se a exames citológicos inconclusivos.

Em 52,94% (n=9) das neoplasias malignas (n=17; 100%) os diagnósticos citológicos são concordantes com os exames histológicos e discordantes em 47,06% (n=8) dos casos. Das análises com resultados diferentes (n=8; 100%), 87,50% (n=7) devem-se a observações inconclusivas.

4.5.4 Tipo celular e carácter das lesões

A análise comparativa dos diagnósticos histológicos e citológicos, tendo por base a conjugação dos parâmetros tipo celular e carácter das lesões, que se encontra expressa na tabela 10 e no gráfico 13, permitiu constatar que existiu concordância total entre os dois exames em 19,05% (n=8) das neoplasias, parcial (tipo celular ou carácter da lesão) em 38,10% (n=16) dos casos e não existiu concordância em 42,86% (n=18) das situações.

Relativamente às neoplasias epiteliais (n=22; 100%), verificou-se concordância total em 18,18% (n=4) das lesões (50% benignas e 50% malignas), parcial em 45,45% (n=10) dos casos (80% benignas e 20% malignas) e não existiu qualquer tipo de concordância em 36,36% (n=8) das situações (87,50% benignas e 12,50% malignas).

No que concerne às neoplasias mesenquimatosas (n=17; 100%), constatou-se concordância total em 23,53% (n=4) das lesões, todas elas de carácter maligno, parcial em 29,41% das análises (60,00% benignas; 40,00% malignas), e os resultados foram discordantes em 47,06% (n=8) dos exames (50,00% benignas; 50,00% malignas).

Não existiu qualquer tipo de concordância no melanoma avaliado e nas neoplasias de células redondas.

Tabela 10 – Análise comparativa – tipo celular e carácter da neoplasia.

Diagnóstico Histológico		Diagnóstico Citológico					
Tipo Celular	Carácter	Concordância					
		Nula		Parcial		Total	
Epitelial	Benigna	7	31,81%	8	36,36%	2	9,09%
	Maligna	1	4,55%	2	9,09%	2	9,09%
Melanoma	Benigna	0	0,00%	1	100,00%	0	0,00%
Mesenquimal	Benigna	4	23,53%	3	17,65%	0	0,00%
	Maligna	4	23,53%	2	11,76%	4	23,53%
Redondas	Maligna	2	100,00%	0	0,00%	0	0,00%

Da comparação entre a histologia e a citologia, atendendo ao carácter, tipo celular e diagnóstico histológico definitivo (Tabela 11), conclui-se que a concordância é total (igualdade dos três dados) para 16,00% (4 em 25) das neoplasias benignas e 41,18% (7 em 17) das neoplasias malignas. A concordância é parcial para 40,00% (n=10) das lesões benignas e 11,76% (n=2) das lesões malignas. Não existe concordância para 44,00% (n=11) e 47,06% (n=8) das neoplasias, respetivamente benignas e malignas.

Relativamente às neoplasias epiteliais (n=22; 100%), constatou-se existir concordância total e parcial entre os dois exames em 27,27% (n=6) e 31,82% (n=7) dos casos, respetivamente. Não se registou concordância em 40,91% (n=9) dos diagnósticos. Nas neoplasias mesenquimais (n=17; 100%), a concordância foi total em 23,53% (n=4), parcial em 23,53% (n=4) das situações e não houve concordância em 52,94% (n=9) dos relatórios.

Nas neoplasias de células redondas, a concordância é total num dos casos (50%) e no outro não existe concordância (50%).

A concordância no melanoma analisado foi apenas parcial.

As neoplasias em que se registou uma maior percentagem de concordância total dos diagnósticos histológicos e citológicos foram o adenoma das glândulas hepatóides (100%), o carcinoma mamário (50%), o sarcoma dos tecidos moles (50%) e o mastocitoma (50%).

Verificou-se uma maior discordância no adenoma das células de Leydig, no hamartoma, no tricoblastoma, no tricoepitelioma, no carcinoma das células escamosas, no condrossarcoma e no hemangiossarcoma, com 100% (n=1) cada. Nos hemangiomas verifica-se uma discordância de 60% (3 em 5).

Tabela 11 – Análise comparativa das neoplasias.

B/ M	Tipo Celular	Neoplasia	N		P		T	
Benigna	Epitelial	Adenoma das células de Leydig	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Adenoma das glândulas hepatóides	0	0,00%	0	0,00%	3	100,00%
		Hamartoma	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Neoplasia mamária benigna	3	30,00%	6	60,00%	1	10,00%
		Tricoblastoma	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Tricoepitelioma	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
	Melanoma	Melanoma amelanocítico	0	0,00%	1	100,00%	0	0,00%
	Mesenquimal	Hemangioma	3	60,00%	2	40,00%	0	0,00%
		Lipoma	1	50,00%	1	50,00%	0	0,00%
Maligna	Epitelial	Carcinoma das células escamosas	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Carcinoma mamário	1	25,00%	1	25,00%	2	50,00%
	Mesenquimal	Condrosarcoma	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Hemangiossarcoma	1	100,00%	0	0,00%	0	0,00%
		Sarcoma de tecidos moles	3	37,50%	1	12,50%	4	50,00%
	Redondas	Mastocitoma	1	50,00%	0	0,00%	1	50,00%

5 Discussão

A definição de um diagnóstico preciso, emitido no menor período de tempo, é preponderante na determinação do prognóstico e da terapêutica a implementar no âmbito da medicina oncológica veterinária, permitindo o aumento da sobrevida do paciente e da sua qualidade de vida.

O exame citológico, de reduzido custo, fácil execução e com riscos mínimos para o animal, se efetuado por um clínico especializado, pode fornecer informações essenciais à diferenciação de doenças não neoplásicas de neoplasias, possibilitando estabelecer os procedimentos médicos iniciais a adotar.

No presente estudo, tendo como objetivo determinar a relevância da citologia realizada internamente em centros de atendimento médico veterinário, por um elemento não especializado do corpo clínico, procedeu-se à análise comparativa e determinação do grau de concordância dos diagnósticos oncológicos obtidos por exame citológico, com os provenientes de exame histológico (*gold standard*), efetuado externamente em laboratório de referência.

Foram analisados os resultados das citologias e histologias de 49 lesões, 42 das quais diagnosticadas como neoplasias por histologia, em cães presentes a consulta no hospital veterinário VetSet, no período compreendido entre 1 de janeiro de 2012 e 31 de dezembro de 2016.

A dimensão relativamente reduzida da amostra considerada nesta dissertação deve-se ao facto de apenas terem sido considerados os dados referentes a lesões que foram concomitantemente objeto de diagnósticos citológico e histológico. O número de ocorrências clínicas, neoplásicas e não neoplásicas, identificadas citologicamente no hospital durante o espaço temporal considerado revelou-se muito superior ao apresentado no estudo, uma vez que nem sempre foram submetidas amostras para exame histológico, por decisão do tutor do animal ou pela fácil identificação das massas, não tendo sido considerada como imprescindível a sua expedição para laboratório.

A comparação dos dados obtidos por histologia, considerado como o teste de referência (*gold standard*), com os provenientes da citologia, permite constatar que existiu concordância entre os dois exames na definição da lesão como neoplásica/não neoplásica em apenas metade (48,98%) dos espécimes analisados.

A divergência nos valores apresentados foi de 16,32%, verificando-se a existência de quatro diagnósticos citológicos falsos positivos (fibrose, quisto folicular, hiperplasia nodular

esplénica e adenose glandular mamária) e quatro falsos negativos (três neoplasias mamárias benignas e um condrossarcoma).

Não foi emitido um diagnóstico citológico definitivo, pela impossibilidade de identificação inequívoca de células representativas, quantitativamente e qualitativamente, num número significativo das citologias efetuadas, mais de um terço (34,69%), reportando-se a maioria dos casos a neoplasias. Uma das causas mencionadas nos relatórios como explicativa para este resultado é o elevado grau de contaminação sanguínea das amostras, constatando-se que três dos exames são relativos a hemangiomas e um a hemangiossarcoma. A citologia foi considerada inconclusiva em 20,41% dos casos, por terem sido apresentados em relatório dois ou mais possíveis diagnósticos para a mesma lesão.

Se os diagnósticos inconclusivos não forem considerados na identificação do tipo de lesão, o exame citológico apresentará uma concordância de 75,00% (24 em 32).

Constata-se, assim, que os valores relativos à concordância entre a citologia e o exame histológico na identificação de neoplasias e lesões não neoplásicas revelam-se inferiores aos descritos na literatura. Num estudo efetuado por Ghisleni *et al.* (2006), com 292 animais (242 cães e 50 gatos), em massas cutâneas e subcutâneas, em que 49 das lesões (44 cães e 5 gatos) foram excluídas devido à baixa celularidade da amostra citológica, foi obtido acordo entre os diagnósticos citológico e histológico em 90,9% (221/243) dos casos. Braz *et al.* (2016), apresentam valores superiores, 91,91%, para a concordância das duas vias de diagnóstico na identificação de lesões cutâneas e subcutâneas de 91 cães.

A diferença registada entre os resultados alcançados por Ghisleni *et al.* (2006) e Braz *et al.* (2016) e os constantes no presente estudo pode ser explicada, em parte, pelo facto destes autores terem feito incidir as suas análises exclusivamente em lesões cutâneas e subcutâneas e, também, pela diferença de dimensões das amostras consideradas.

Contudo, num estudo realizado por Bonfanti *et al.* (2004) a 132 massas torácicas e abdominais, presentes em cães e gatos, foi alcançada uma concordância de 89,4% (118 em 132) entre os dois tipos de exame na diferenciação de massas neoplásicas de não neoplásicas, referindo os autores que 20 casos foram excluídos do estudo devido à baixa celularidade ou contaminação sanguínea das amostras recolhidas. Resultados similares foram também registados por Vos *et al.* (1989) ao analisarem os dados das citologias e histologias provenientes de 348 lesões caninas, localizadas em diversos órgãos, em que a precisão diagnóstica do exame citológico foi de 83,9%, percentagens muito superiores às do presente trabalho.

Relativamente à diferenciação das lesões neoplásicas em benignas e malignas, a análise comparativa dos 42 diagnósticos histológicos alusivos a neoplasias com as respetivas citologias revelou valores concordantes em somente 28,57% das situações. Os relatórios citológicos emitidos foram discordantes em 47,06% das lesões malignas e 88,00% das neoplasias benignas, das quais 20,00% reportavam a neoplasias mamárias.

Dos exames citológicos em que não se verificou concordância, 40,48% foram considerados inconclusivos pela manifesta dificuldade na determinação do carácter da lesão ou pelo facto de no relatório ser referida a possibilidade de diferentes diagnósticos, benignos e malignos.

Segundo fontes bibliográficas (Meinkoth *et al.*, 2008; North & Banks, 2009; Friedrichs & Young, 2013), a definição da lesão como benigna ou maligna exclusivamente com base na citologia pode ser dificultada pelo facto das células não-neoplásicas, em proliferação ativa e na presença de inflamação, poderem demonstrar critérios de malignidade e pelo número reduzido destes parâmetros presentes em algumas células neoplásicas malignas, contribuindo para uma incorreta classificação das neoplasias. Villiers (2003) refere que se o número de critérios de malignidade for inferior a três ou as alterações citológicas forem pouco evidentes, pode ser imprescindível a realização de um exame histológico para distinção de lesões malignas, benignas, hiperplasias e displasias.

No que concerne à definição do carácter benigno/maligno das neoplasias mamárias, é referido na literatura (Friedrichs & Young, 2013) que a classificação destas lesões deve ser realizada com base no tipo, arranjo e capacidade invasiva do tecido neoplásico, bem como na presença ou ausência de componentes mesenquimatosos de lesões neoplásicas e não neoplásicas, sistema de categorização que não pode ser utilizado para amostras citológicas, o que pode contribuir para explicar os dados do presente trabalho. O principal objetivo da citologia, segundo Whitney & Berent (2010), reside na eliminação da possibilidade da existência de outro tipo de patologia.

Duas das citologias em que o diagnóstico foi considerado como inconclusivo são alusivas a lipomas, resultados que para Whitney & Berent (2010) podem ser explicados pela baixa celularidade dos esfregaços obtidos pela esfoliação destas neoplasias de origem mesenquimatosa, devido ao alto teor lipídico das mesmas e à aparência celular idêntica à do tecido adiposo subcutâneo.

Se, novamente, não forem contabilizados os diagnósticos inconclusivos na identificação das lesões, a concordância será de 48,00% (12 em 25), valor manifestamente inferior aos apresentados por Braz *et al.* (2016), 68,13%, e Vos *et al.* (1989), 83,7%.

Também num estudo efetuado por Ménard *et al.* (1986), tendo por base 102 neoplasias (97 malignas e 5 benignas) presentes em cães (83) e gatos (19), em que os autores salientam a correlação existente entre a presença de inflamação e a complexidade verificada na definição do carácter da neoplasia, diretamente relacionada com os detalhes celulares análogos exibidos pelas células malignas e pelas células regenerativas, pelos fibroblastos e pelas células epiteliais em lesões inflamatórias crónicas, conduzindo a diagnósticos falsos positivos, os valores de concordância foram muito superiores aos obtidos neste trabalho, tendo sido consonantes em 69% das neoplasias malignas.

Resultados semelhantes, relacionados com neoplasias mamárias caninas, são relatados por Yildirim & Gurel (2012) ao analisarem 100 lesões previamente classificadas por exame histológico como malignas (76%), benignas (19%) e displasias (5%) e avaliadas citologicamente por impressão e dois tipos de coloração, Papanicolaou e May-Grünwald Giemsa, reportando valores de concordância entre os dois diagnósticos em 88% e 86% dos casos, respetivamente.

Allen *et al.* (1989) ao examinarem os dados provenientes dos exames citológicos e histológicos de 91 massas mamárias caninas, efetuados por dois citologistas e dois histopatologistas, tendo por base dez critérios citológicos importantes de malignidade, constataram a existência de um diagnóstico citológico concordante em 25% das lesões benignas e em aproximadamente metade das neoplasias malignas. Em 50% dos casos, o diagnóstico citológico emitido por ambas as citologias foi inconclusivo.

No presente trabalho, contrariamente ao relatado nos estudos efetuados por Ménard *et al.* (1986), Vos *et al.* (1989), Yildirim & Gurel (2012) e Braz *et al.* (2016), apenas foram contabilizadas as ocorrências clínicas em que não foi possível uma fácil identificação das massas por exame citológico, tendo sido imprescindível a sua expedição para laboratório, o que poderá ter tido um impacto decisivo na análise estatística efetuada, com reflexos negativos nos valores registados.

Nos artigos acima referenciados (Ménard *et al.*, 1986; Vos *et al.*, 1989; Yildirim & Gurel, 2012; Braz *et al.*, 2016), os exames citológicos foram realizados por especialistas que efetuaram concomitantemente o exame histológico ou por citologistas especializados, o que

poderá também ter contribuído para a diferença dos valores da concordância registados por estes autores e os constantes do trabalho que presidiu a esta tese.

Estes factos não só poderão ter tido influência nos dados obtidos na diferenciação de neoplasias benignas e malignas, bem como na identificação do tipo de processo (neoplásico/não neoplásico) relatada anteriormente.

Quanto ao tipo celular, foi obtida concordância em somente 47,62% das neoplasias, percentagem muito inferior à referenciada por Ménard *et al.* (1986), 74%.

A maior concordância neste trabalho foi alcançada nas neoplasias epiteliais, 59,09%.

O resultado foi considerado inconclusivo em 26,19% das citologias realizadas, por terem sido apresentados diferentes diagnósticos, caracterizados por tipos celulares distintos, para uma mesma lesão, sendo de realçar que nas neoplasias diagnosticadas histologicamente como de origem mesenquimatosa, 70,00% dos exames considerados discordantes foram inconclusivos.

Segundo Whitney & Berent (2010), Friedrichs & Young (2013) e Raskin (2016), o reduzido valor obtido no diagnóstico das neoplasias mesenquimatosas pode estar relacionado com a dificuldade de esfoliação destas lesões e, conseqüente, baixa celularidade das amostras e, de acordo com Hahn (2002) e Whitney & Berent (2010), com a presença de uma população celular heterogénea (inflamatória e mesenquimatosa), podendo ser necessária a realização de histologia para determinação do tipo de neoplasia.

Quanto às neoplasias epiteliais, Friedrichs & Young (2013) afirmam que a avaliação citológica pode não se revelar frutífera ou ser inconclusiva quando as células constituintes assumem a aparência de células redondas, sem junções intercelulares, sendo necessário proceder ao exame histológico, com ou sem análise imunohistoquímica, para definir o tipo específico de tumor.

Contrariamente ao estudo efetuado por Tvedten (2012), sobre o valor dos exames citológico e histológico no diagnóstico das lesões neoplásicas da pele, que revelou uma concordância na maioria (60 dos 64) das neoplasias de células redondas, sendo os diagnósticos coincidentes em todos os mastocitomas (37), melanomas (11), histiocitomas (2) e linfomas cutâneos (1), no presente trabalho não se verificou concordância entre os dois exames na avaliação destas neoplasias (n=2).

No que concerne aos melanomas, foi diagnosticado apenas um caso que não obteve concordância nos exames citológico e histológico. Na literatura é descrito (Whitney & Berent, 2010; Friedrichs & Young, 2013) que estas neoplasias são difíceis de diagnosticar,

pois a nível celular podem ser morfológicamente similares a células epiteliais, mesenquimais ou células redondas. DeNicola (2008) e Friedrichs & Young (2013) referem que neste grupo de neoplasias os tumores amelanóticos representam um maior desafio a nível do diagnóstico, pois as células podem apresentar-se completamente desprovidas de pigmentação com os procedimentos padrão de coloração histológica, situação registada nos relatórios analisados.

A discrepância entre os dados referenciados nos artigos mencionados e os constantes neste trabalho pode também estar relacionada com o facto previamente referido dos exames citológicos referenciados nos estudos apresentados pelos diferentes autores terem sido executados por citologistas especializados.

Relativamente às neoplasias de células redondas e aos melanomas, os resultados podem ainda ser explicados pelo reduzido número de lesões avaliadas.

Por último, a análise comparativa dos diagnósticos definitivos demonstra que se registou uma maior percentagem de concordância total nos adenomas das glândulas hepatóides, 100%, nos carcinomas mamários, 50%, nos sarcomas dos tecidos moles (indiferenciado e perivascular), 50%, e nos mastocitomas, 50%.

Num estudo prospetivo efetuado por Stockhaus *et al.* (2003) em que foram avaliadas as lesões de tecidos moles de diferentes origens presentes em 95 animais (82 cães e 13 gatos), a citologia apresentou um diagnóstico concordante na determinação do caráter benigno/maligno em 93% das ocorrências, variando entre 85,7% a 97,1% consoante o tipo de lesão. No que respeita aos sarcomas dos tecidos moles, 23 dos 28 pacientes apresentavam exames citológicos consonantes quanto ao diagnóstico definitivo, mas em três situações a citologia revelou proliferação mesenquimatosa benigna e em dois casos exibiu proliferação mesenquimatosa de malignidade desconhecida. Os valores de concordância revelaram-se inferiores quando era associado simultaneamente o tipo histológico da neoplasia (epitelial/mesenquimal), 89% (81,4% a 94,4%), mas mesmo assim muito superiores aos deste trabalho.

Relativamente aos carcinomas mamários, Griffiths *et al.* (1984) mencionam, num trabalho efetuado com 147 neoplasias cutâneas provenientes de 119 cães, que a concordância entre a citologia e a histologia se verificou em apenas 8 das 19 lesões avaliadas (42,11%). Estes dados são corroborados na literatura, por North & Banks (2009), em que é referido que a citologia é geralmente inútil na diferenciação de adenoma mamário de carcinoma, devido à existência de populações celulares mistas no seio das neoplasias mamárias, e pelo estudo de Ménard *et al.* (1986), em que os autores afirmam ser necessário proceder ao exame

histológico devido à inconsistência dos resultados alcançados por citologia nas lesões mamárias, consequência do alto teor em sangue e inflamação presentes nas amostras e à disposição das células, formando agregados em que os detalhes celulares são pouco notórios, o que se verificou neste trabalho.

Cohen *et al.* (2003), ao estimarem a sensibilidade e especificidade do exame citológico em 269 animais, dos quais 216 cães, indicam que a sensibilidade variou entre 33,3% e 66,1%, em função da localização da lesão, registrando uma maior precisão no diagnóstico de afeções cutâneas e subcutâneas e menor exatidão em lesões hepáticas, o que está em concordância com os dados obtidos.

Verificou-se uma maior discordância no presente estudo no adenoma das células de Leydig, no hamartoma, no tricoblastoma, no tricoepitelioma, no carcinoma das células escamosas, no condrossarcoma e no hemangiossarcoma, com 100% (n=1) cada.

Em relação aos hemangiossarcomas (2), Ménard *et al.* (1986) salientam a impossibilidade de efetuar um diagnóstico citológico destas neoplasias no seu estudo devido à elevada hemodiluição dos espécimes. Referem, ainda, as dificuldades sentidas na identificação dos carcinomas das células escamosas (10), devido à existência de necrose, à fraca celularidade e disposição das células em agregados e à difícil visualização das características nucleares face à acentuada basofilia do citoplasma (60% de concordância no carácter da lesão e 40% quanto à origem celular), propondo a aplicação da coloração Papanicolaou nestas neoplasias.

Quanto à discordância verificada na identificação das lesões anexiais da pele (tricoblastoma e tricoepitelioma), Viadel & Morales (2005) e Friedrichs & Young (2013) referem que a avaliação citológica pode ser inconclusiva se na amostra existirem diferentes tipos de células ou na ausência de características de identificação. Friedrichs & Young (2013) aludem, ainda, ao facto de nas lesões com origem no folículo piloso as células redondas exibirem elevado número de vacúolos de aspeto gorduroso que podem obscurecer parcialmente o núcleo, dificultando a determinação do processo. Há, também, a considerar o diminuto número de situações analisadas neste trabalho.

No que respeita às lesões testiculares, os valores alcançados por Masserdotti *et al.* (2005), com 92 cães, revelaram um diagnóstico citológico consistente em 87 casos. A citologia proporcionou uma sensibilidade de 95% para seminoma, 88% para sertolinoma e 96% para tumores de células de Leydig, tendo os mesmos concluído que a citologia por agulha fina de massas testiculares é uma técnica muito fiável. Estes dados não estão de acordo

com os resultados deste estudo, o que pode ser explicado pelo facto de apenas ter sido avaliada uma neoplasia benigna (adenoma das células de Leydig) na amostra considerada.

Johnson & Myers (2017) afirmam que a citologia permite, frequentemente, a distinção do processo em neoplásico/não neoplásico, a identificação da origem celular e a definição do tipo específico de tumor nas lesões cutâneas, constituindo uma importante ferramenta no diagnóstico destas massas. Contudo, destacam que este exame apresenta limitações, uma vez que as células existentes na amostra podem não ser representativas da lesão, as características celulares que permitem definir o carácter da neoplasia (benigno/maligno) nem sempre estão presentes e a presença de inflamação pode conduzir à transformação das células, podendo as mesmas vir a exibir particularidades comuns às células neoplásicas.

A fraca representatividade do material colhido é também referenciada por Friedrichs & Young (2013), que identificam, ainda, a presença de inflamação e ulceração nas lesões, a hemodiluição das amostras como fatores predisponente à não obtenção de um diagnóstico citológico definitivo, como foi experienciado neste trabalho.

Vos *et al.* (1989), consideram, face aos resultados por eles obtidos, que a citologia fornece informações rápidas e valiosas em relação ao diagnóstico e prognóstico, auxiliando na definição da terapêutica a implementar, sendo, contudo, necessário recorrer com frequência ao exame histológico para diagnosticar/excluir neoplasias, especialmente no caso de lesões de tecidos moles e mamárias.

O presente estudo corrobora as limitações do exame citológico apresentadas por Friedrichs & Young (2013) e Johnson & Myers (2017), mas não se identifica com as vantagens descritas por diversos autores, nomeadamente no que concerne à definição da natureza da lesão, onde uma parte considerável das neoplasias diagnosticadas histologicamente não foram identificadas por citologia, acentuando a necessidade do exame citológico ser efetuado por um clínico especializado.

Os dados reportados no presente estudo, face às reduzidas dimensões da amostra considerada e ao facto de serem provenientes de um único hospital veterinário, não podem ser considerados como representativos do país ou região.

Por ser um estudo retrospectivo, não existiu padronização dos dados obtidos, constatando-se variações no registo clínico dos diferentes casos avaliados e, por vezes, ausência da identificação dos critérios nucleares e celulares que permitissem uma melhor compreensão da discordância verificada entre a citologia e a histologia.

A realização de um estudo prospetivo, em que seriam definidos previamente os dados a considerar e registar, podendo ser criada uma ficha de registo padrão, com uma população alvo de maiores dimensões, provenientes de todas as regiões do país, permitiria análises estatísticas mais relevantes sobre a concordância dos diagnósticos citológicos, efetuados por um citologista interno, e histológicos.

6 Conclusão

A análise dos resultados obtidos no presente estudo permite constatar a existência de um baixo grau de concordância entre os exames citológicos, realizados internamente, e histológicos na diferenciação de lesões neoplásicas e não neoplásicas, classificação das neoplasias atendendo ao tipo celular e emissão de um diagnóstico definitivo.

A capacidade diagnóstica revela-se ainda inferior quando aplicada na triagem de neoplasias benignas e malignas.

A emissão de diagnósticos citológicos definitivos concordantes com os obtidos por histologia foi superior nas neoplasias relativas aos sarcomas de tecidos moles (indiferenciado e perivascular), nos adenomas das glândulas hepatóides, mastocitomas e carcinomas mamários.

A diferença entre os resultados obtidos neste trabalho e os presentes em outros estudos/artigos científicos publicados poderá advir do facto de na análise estatística apresentada apenas terem sido contabilizadas as ocorrências clínicas em que não foi possível uma fácil identificação das massas por exame citológico, sendo imprescindível a sua expedição para laboratório, e dos dados citológicos referenciados pelos autores mencionados provirem de citologias efetuadas por clínicos especializados. Outras limitações associadas a este trabalho, com reflexos diretos nos valores relativos à concordância entre os dois exames, prendem-se com a reduzida dimensão da amostra considerada e com os diagnósticos alcançados por citologia considerados inconclusivos, devido ao grau de hemodiluição e à ausência de células representativas da lesão.

Face ao exposto, a citologia realizada internamente, apesar de constituir um exame pouco invasivo para o animal, exigindo requisitos mínimos de equipamento, sendo efetuada, geralmente, sem recurso a anestesia, deverá ser utilizada com enorme precaução, não lhe devendo ser atribuído um papel decisivo na definição do diagnóstico em oncologia veterinária.

O exame citológico, mesmo quando efetuado por um clínico especializado, carece frequentemente de confirmação histológica para emissão de um diagnóstico definitivo.

Referências Bibliográficas

- Allen, S. W., Prasse, K. W. & Mahaffey, E. A. (1986). Cytologic differentiation of benign from malignant canine mammary tumors. *Veterinary Pathology*, 23(6), 649-55.
- Argyle, D. J. & Milne, E. (2008). Biopsy, tissue handling, and interpretation. In: D. J. Argyle, M. J. Brearley & M. M. Turek, *Decision Making in Small Animal Oncology* (1ªEd., pp. 51-67). Iowa: Wiley-Blackwell Publishing Company.
- Barger, A. (2012). Cytology of Neoplasia, An Essential Component of Diagnosis. Acedido em 10 de março de 2017 em <http://todaysveterinarypractice.epubxp.com/i/85311-sep-oct-2012/76>.
- Biller, B., Berg, J., Garrett, L., Ruslander, D., Wearing, R., Abbott, B., Patel, M., *et al.* (2016). Oncology Guidelines for Dogs and Cats. *JAAHA*, 52(4), 181-204.
- Bonfanti, U., Bussadori, C., Zatelli, A., De Lorenzi, D., Masserdotti, C., Bertazzolo, W., Faverzani, *et al.* (2004). Percutaneous fine-needle biopsy of deep thoracic and abdominal masses in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 45(4), 191-198.
- Bonfanti, U., Bertazzolo, W., Gracis, M., Roccabianca, P., Romanelli, G., Palermo, G. & Zini, E. (2015). Diagnostic value of cytological analysis of tumours and tumour-like lesions of the oral cavity in dogs and cats: A prospective study on 114 cases. *Veterinary Journal*, 205(2), 322-327.
- Braz, P. H., Brum, K. B., Souza, A. I. & e Abdo, M. A. G. S. Comparação entre a citopatologia por biopsia com agulha fina e a histopatologia no diagnóstico das neoplasias cutâneas e subcutâneas de cães. (2016). *Pesq. Vet. Bras.*, 36(3), 197-203.
- Caswell, J. L. & Williams, K. J. (2015). Respiratory System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.2, pp. 465-591). Missouri: Saunders, Elsevier.

Cianciolo, R. E. & Mohr, F. C. (2015). Urinary System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.2, pp. 376-464). Missouri: Saunders, Elsevier.

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). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(7), 964-967.

Cooper, B. J. & Valentine, B. A. (2015). Muscle and Tendon. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.1, pp. 164-249). Missouri: Saunders, Elsevier.

Cooper, B. J. & Valentine, B. A. (2017). Tumors of Muscle. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5ªEd., pp. 425-466). Iowa: Wiley, Blackwell.

Couto, C. G. (2000). Oncología. In R. W. Nelson & C. G. Couto, *Medicina Interna de Pequenos Animales*, (2ªEd., pp. 1165-1174). Buenos Aires: Editorial Inter-Médica.

Craig, L. E., Dittmer, K. E. & Thompson, K. G. (2015). Bones and Joints. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.1, pp. 16-163). Missouri: Saunders, Elsevier.

Craig, L. E. & Thompson, K. G. (2017). Tumors of Joints. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5ªEd., pp. 337-355). Iowa: Wiley, Blackwell.

Cullen J. M., Page, R. & Misdorp, W. (2002). An Overview of Cancer Pathogenesis, Diagnosis, and Management. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (4ªEd., pp. 3-44). Iowa: Blackwell Publishing Company.

Cullen, J. M. & Stalker, M. J. (2015). Liver and Biliary System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.2, pp. 258-352). Missouri: Saunders, Elsevier.

Cullen, J. M. (2017). Tumors of the Liver and Gallbladder. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 602-631). Iowa: Wiley, Blackwell.

DeNicola, D. (2008). Round Cells. In R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth & D. B. DeNicola, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3^aEd., pp. 68-77). Missouri: Mosby/Elsevier.

Ehrhart, N. P. (1998). Principles of tumor biopsy. *Clin Tech Small Anim Pract* 13(1), 10-16.

Ehrhart, N. P. & Withrow, S. J. (2013). Biopsy Principles. In: S. J. Withrow & D. M. Vail, *Small Animal Clinical Oncology* (5^aEd., pp. 143-148). Missouri: Saunders, Elsevier.

Friedrichs, K. R. & Young, K. M. (2013). Diagnostic Cytopathology in Clinical Oncology. In: S. J. Withrow & D. M. Vail, *Small Animal Clinical Oncology* (5^aEd., pp. 111-130). Missouri: Saunders, Elsevier.

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. *Veterinary Clinical Pathology*, 35(1), 24-30.

Goldschmidt, M. H. & Goldschmidt, K. H. (2017). Epithelial and Melanocytic Tumors of the Skin. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 88-141). Iowa: Wiley, Blackwell.

Griffiths, G. L., Lumsden, J. H. & Valli, V. E. O. (1984). Fine Needle Aspiration Cytology and Histologic Correlation in Canine Tumors. *Veterinary Clinical Pathology*, 13(1), 13-17.

Hahn, K. A. (2002). Getting a Diagnosis. In: K. A. Hahn, *Veterinary Oncology* (4^aEd., pp. 7-63). Missouri: Butterworth-Heinemann, Elsevier Inc.

Hendrick, M. J. (2017). Mesenchymal Tumors of the Skin and Soft Tissues. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 142-175). Iowa: Wiley, Blackwell.

Henry, C. J. & Pope, E. R. (2010). Methods of Tumor Diagnosis: Fine-Needle Aspiration and Biopsy Techniques. In: C. J. Henry & M. L. Higginbotham, *Cancer Management in Small Animal Practice* (pp. 41-46). Missouri: Saunders, Elsevier.

Johnson, M. C. & Myers, A. N. (2017). Cytology of Skin Neoplasms. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 47(1), 85-110.

Jubb, K. V. F. & Stent, A. W. (2015). Pancreas. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.2, pp. 353-375). Missouri: Saunders, Elsevier.

Kiupel, M. (2017). Mast Cell Tumors. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 176-202). Iowa: Wiley, Blackwell.

Masserdotti, C., Bonfanti, U., de Lorenzi, D., Tranquillo, M. & Zanetti, O. (2005). Cytologic features of testicular tumours in dog. *Journal of Veterinary Medicine*, 52(7), 339-346.

Masserdotti, C. (2006). Architectural patterns in cytology: correlation with histology. *Vet. Clin. Pathol.*, 35(4), 388-396.

Mauldin, E. A. & Peters-Kennedy, J. (2015). Integumentary System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.1, pp. 509-688). Missouri: Saunders, Elsevier.

Meinkoth, J. H., Cowell, R. L., Tyler, R. D. & Morton, R. J. (2008). Sample Collection and Preparation. In: R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth & D. B. DeNicola, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3^aEd., pp. 1-18). Missouri: Mosby/Elsevier.

Meinkoth, J. H., Cowell, R. L. & Tyler, R. D. (2008). Cell Types and Criteria of Malignancy. In: R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth & D. B. DeNicola, *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (3^aEd., pp. 20-46). Missouri: Mosby/Elsevier.

Ménard, M., Fontaine, M. & Morin, M. (1986). Fine needle aspiration biopsy of malignant tumors in dogs and cats: a report of 102 cases, *Canadian Veterinary Journal*, 27 (12), 504-510.

Meuten, D. J. & Meuten, T. L. K. (2017). Tumors of the Urinary System. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 639-643). Iowa: Wiley, Blackwell.

Meyer, D. J. (2016). The Acquisition and Management of Cytology Specimens. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide* (3^aEd., pp. 1-15). Missouri: Elsevier.

Morris, J. & Dobson, J. (2001). Diagnosis and Staging. In J. Morris & J. Dobson, *Small Animal Oncology* (pp. 15-17). Oxford: Blackwell Science.

Munday, J. S., Löhr, C. V. & Kiupel, M. (2017). Tumors of the Alimentary Tract. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 499-601). Iowa: Wiley, Blackwell.

North, S. & Banks, T. (2009). Principles of cytology and pathology. In: S. North & T. Banks, *An Introduction to Small Animal Oncology* (1^aEd., pp. 17-23). Missouri: Saunders, Elsevier.

North, S. & Banks, T. (2009). Concepts of oncology surgery. In: S. North & T. Banks, *An Introduction to Small Animal Oncology* (1^aEd., pp. 25-30). Missouri: Saunders, Elsevier.

Radin, M. J. & Wellman M. L. (2004). Interpretation of a Cytologic Specimen. In: M. J. Radin & M. L. Wellman, *Interpretation of Canine and Feline Cytology* (pp 13-18). Delaware: Gloyd Group.

Rae, C. A., Jacobs R. M. & Couto, C. G. (1989). A comparison between the cytological and histological characteristics in thirteen canine and feline thymomas. *Can. Vet. J.*, 30, 497-500.

Raskin, R. E. (2016). General Categories of Cytologic Interpretation. In: R. E. Raskin & D. J. Meyer, *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide* (3^aEd., pp. 16-33). Missouri: Elsevier.

Robinson, W. F. & Robinson, N. A. (2015). Cardiovascular System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.3, pp. 1-101). Missouri: Saunders, Elsevier.

Rosol, T. J. & Gröne, A. (2015). Endocrine Glands. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.3, pp. 269-357). Missouri: Saunders, Elsevier.

Rosol, T. J. & Meuten, D. J. (2017). Tumors of the Endocrine Glands. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 766-833). Iowa: Wiley, Blackwell.

Schlafer, D. H. & Foster, R. A. (2015). Female Genital System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.3, pp. 358-464). Missouri: Saunders, Elsevier.

Shearer, D. (2003). The pathologist's view. In: J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles, *Manual of Canine and Feline Oncology* (2^aEd., pp. 21-23). Gloucester: BSAVA.

Stockhaus, C., Schoon, H. A., Grevel, V., Oechtering, G. U. & Teske, E. (2003). The value of cytology in the diagnosis of soft tissue sarcoma in the dog and cat. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere - Heimtiere*. 31. 148-153.

Thompson, K. G. & Dittmer, K. E. (2017). Tumors of Bone. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5^aEd., pp. 356-424). Iowa: Wiley, Blackwell.

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

Uzal, F. A., Plattner, B. L. & Hostetter, J. M. (2015). Alimentary System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6^aEd., Vol.2, pp. 1-257). Missouri: Saunders, Elsevier.

Valli, V. E. Kiupel, M. & Bienzle, D. (2015). Hematopoietic System. In: K. V. F. Jubb, P.C. Kennedy & N. C. Palmer, *Pathology of Domestic Animals* (6ªEd., Vol.3, pp. 102-268). Missouri: Saunders, Elsevier.

Valli, V. E., Bienzle, D., Meuten, D. J. & Linder, K. E. (2017). Tumors of the Hemolymphatic System. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5ªEd., pp. 203-320). Iowa: Wiley, Blackwell.

Viadel, L. V., Murcia, D. B. & Morales, M. J. (2005). Atlas clínico de citología de los tumores del perro y el gato. Barcelona: Esmonpharma.

Villiers, E. (2003). Citology. In: J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles, *Manual of Canine and Feline Oncology* (2ªEd., pp. 24-37). Gloucester: Bsava.

Vos, J. H., van den Ingh, T. S. & van Mil, F.N. (1989). Non-exfoliative canine cytology: the value of fine needle aspiration and scraping cytology, *The Veterinary Quarterly*, 11(4), 22-31.

White, R. A. (2003). Core, incisional and excisional biopsy. In: J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles, *Manual of Canine and Feline Oncology* (2ªEd., pp. 38-40). Gloucester: Bsava.

Whitley, E. M. (2010). Histopathology, Immunohistochemistry, and Tumor Grading. In: C. J. Henry & M. L. Higginbotham, *Cancer Management in Small Animal Practice* (pp. 59-63). Missouri: Saunders, Elsevier.

Whitney, M. S. & Berent, L. M. (2010). The Cytology of Neoplasia. In: C. J. Henry & M. L. Higginbotham, *Cancer Management in Small Animal Practice* (pp. 47-58). Saunders Elsevier. Missouri. USA.

Wilson, D. W. (2017). Tumors of the Respiratory Tract. In: D. J. Meuten, *Tumors in Domestic Animals* (5ªEd., pp. 470-471). Iowa: Wiley, Blackwell.

Yildirim, F. & Gurel, A. (2012). Comparison between cytological and histopathological evaluations of canine mammary tumours. *Revue Méd. Vét.*, 163 (3), 116-122.