**AGRADECIMENTOS**

Para o desenvolvimento do presente trabalho salienta-se a colaboração e apoio de toda a equipa do Hospital Veterinário das Laranjeiras, desde recepcionista a auxiliares, enfermeira, médicos veterinários, estagiários, colaboradores e director clínico e orientador deste trabalho, Dr. Luís Cruz.

Por outro lado, salienta-se também a orientação do tutor Dr. Nuno Alexandre e todo o conhecimento transmitido pela equipa de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade do Tennessee, em especial do Dr. Michael Fry.

Por fim sublinha-se o apoio da família e amigos.

ESTUDO RETROSPETIVO DO VALOR DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO EM CLÍNICA DE ANIMAIS DE COMPANHIA

**RESUMO**

A presente dissertação de mestrado teve origem no trabalho realizado durante o estágio curricular de 4 meses no Hospital Veterinário das Laranjeiras (HVL). Durante o estágio, muitas vezes se recorreu ao exame citológico e/ou histológico de massas, o que despoletou o interesse e motivação para a realização deste estudo. Este incluiu a análise da distribuição, de acordo com a origem das células, dos processos patológicos envolvidos em 98 amostras submetidas a exame citológico, a comparação dos resultados histopatológicos e citológicos em 33 das 98 amostras, bem como a determinação da utilidade do diagnóstico citológico nas mesmas amostras citológicas. Foi obtida uma percentagem de concordância com os resultados histopatológicos de 70% e a obtenção de um diagnóstico citológico útil (específico ou inespecífico) em 89% dos casos. Contudo, excluindo os diagnósticos citológicos discordantes com os resultados de histopatologia, este valor de diagnóstico citológico útil desce para 79%.

A obtenção de uma correcta caracterização da doença e prognóstico exige que o exame citológico seja cada vez mais complementado por outras técnicas avançadas de diagnóstico. Estas técnicas incluem o imunodiagnóstico, a microscopia eletrónica, as colorações imunohistoquímicas específicas, a citometria de fluxo e a análise de imagem.

*Palavras-Chave*: Histopatologia; citologia.

RETROSPECTIVE STUDY ABOUT THE CYTOLOGICAL DIAGNOSIS VALUE IN SMALL ANIMAL CLINIC

**ABSTRACT**

This thesis was developed from the 4 months traineeship made at the Laranjeiras Veterinary Hospital. During the traineeship were often employed cytologic and/or histologic examinations of the masses which sparked the interest and motivation for this study. The last included the comparison of cytologic and histopathologic results of 37 samples, the study of distribution according to the origin of the cells involved in the pathological processes of the 98 samples submitted for cytological examination, comparison of the histological and cytological results in 33 of the 98 samples, as well as determining the usefulness of cytological diagnosis in the same cytological samples. We obtained a percentage of agreement with histopathologic results of 70% and obtained a useful cytological diagnosis (specific or inespecific) in 89% of the cases. However, excluding the diagnosis discordant with the results of histopathology, this figure drops to 79%.

In order to achieve a correct prognosis and characterization of the disease, cytology tends to be complemented by other advanced diagnostic techniques. These advanced diagnostic techniques are used in parallel with conventional cytology and include: immunodiagnostic, electron microscopy, special histochemical stains, flow cytometry and image analysis.

Keywords: Histopathology; cytology.

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO…………………………...…………………………………………. 1

1.1 Breve descrição do estágio curricular………..…………………………………... 1

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA………………………………………………………. 3

2.1 Objetivos da citologia…………………..………………………………………... 3

2.1.1 Exame citológico de rotina……………………………………....……..….. 4

2.2 Técnicas avançadas de diagnóstico…………………………………….….….... 4

2.2.1 Imunodiagnóstico………………..………………………………………..... 4

2.2.2 Microscopia eletrónica…………………………………………...………… 8

2.2.3 Citometria de fluxo………………………………………………………… 8

2.2.4 Análise de imagem…………………………………………………...…….. 9

2.2.5 PCR para rearranjos de receptores de antigénios (PARR)…………….…… 9

2.3 Tipos de diagnóstico citológico……...………….………….…………..….…... 10

2.3.1 Processos inflamatórios…………………………………………...………. 10

2.3.2 Processos não inflamatórios/não neoplásicos……………..……..………... 12

2.3.3 Processos neoplásicos…………………………………………...………… 14

2.3.3.1 Tumores de origem epitelial……………………………………..… 15

2.3.3.1.1Tumores neuroendócrinos e de células endócrinas……....… 15

2.3.3.1.2 Adenoma/ adenocarcinoma de glândulas perianais…….….. 17

2.3.3.1.3 Adenocarcinoma de sacos anais…………………….……... 18

2.3.3.1.4 Adenoma/ adenocarcinoma sebáceo…………….…………. 19

2.3.3.1.5 Carcinoma de células escamosas..……….…………….….... 20

2.3.3.1.6 Carcinoma de células de transição..…………….….….…… 21

2.3.3.1.7 Adenoma/adenocarcinoma da glândula mamária………...… 23

2.3.3.1.8 Carcinoma pulmonar………….………………………….… 26

2.3.3.1.9 Adenoma/ adenocarcinoma/ carcinomas de glândulas apócrinas……….......……..…………………………………....…… 27

2.3.3.1.10 Adenoma/ adenocarcinomas de glândulas ceruminosas….. 28

2.3.3.1.11 Adenocarcinoma nasal…………………………….……… 29

2.3.3.1.12 Neoplasias testiculares……..……………………………... 30

2.3.3.2 Tumores de origem mesenquimatosa……..…………...………..…. 32

2.3.3.2.1 Tumores da parede perivascular (TPP’s)………….........…... 33

2.3.3.2.2 Osteossarcoma (OSA)…………….…………...…..…..….. 35

2.3.3.2.3 Fibrossarcoma…………………..…………………….……. 36

2.3.3.2.4 Lipoma e lipossarcoma…………………….………....……. 36

2.3.3.2.5 Hemangiossarcoma (HSA)…………………………..…..… 37

2.3.3.3 Tumores de células redondas………………...……………….….… 40

2.3.3.3.1 Mastocitoma…………………………………………..…... 40

2.3.3.3.2 Tumores histiocíticos…………………………….………... 46

2.3.3.3.3 Linfoma…………………………………………………… 48

2.3.3.3.4 Plasmacitoma…………………………………………….... 66

2.3.3.3.5 Melanoma………………………………………….....…… 68

2.3.3.3.6 Tumor venéreo transmissível (TVT)………………..…..… 70

3. ESTUDO RETROSPECTIVO……………………………...……………………… 71

3.1 Objetivos………………………………………………………………..………. 71

3.2 Materiais e métodos…...………………………………………………………... 71

3.2.1 Materiais……………………………………………………………...…. 71

3.2.2 Métodos…………………………………………………………….…… 71

3.2.2.1 Análise estatística……………………………………………… 73

3.3 Resultados………………………………………………………………………. 73

3.3.1 Distribuição das lesões……………………………………………... 73 3.3.2 Diagnóstico útil via exame citológico………………………………...… 76 3.3.3 Concordância entre os resultados dos exames citológicos e histopatológicos……………………………………………………………….. 80

3.4 Discussão…………….…………………………………………………...……... 83

3.5 Conclusão……………………….………………………………………………. 89

4. PERSPETIVAS FUTURAS……………………………………………………...… 91

5. BIBLIOGRAFIA……………………………………………………………..……. 92

ANEXO 1: Classificação histológica proposta de massas mamárias em cadelas (2010)……………………………………………………………………………..…… 99

ANEXO 2: Classificação da WHO pde neoplasias linfóides……..…………….…… 101

ANEXO 3: Marcadores usados no diagnóstico diferencial das categorias de tumores…...………………………………………………………………..………… 103

ÍNDICE DE TABELAS

**Tabela 1** – Distribuição das categorias baseada na possibilidade de diagnóstico via exame citológico, de acordo com a localização anatómica de origem das 98 amostras recolhidas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=98).………………………………………………………………………………….77

**Tabela 2** – Distribuição dos 33 diagnósticos específicos efetuados……..…………… 77

**Tabela 3** – Associação entre as variáveis utilizando o teste de qui-quadrado..………. 79

**Tabela 4 -** Comparação dos resultados citológicos e histopatológicos discordantes, parcialmente corretos e rejeitados devido a células insuficientes na amostra citológica……………………………………………………………………………… 81

ÍNDICE DE GRÁFICOS

**Gráfico 1** – Classsificação dos resultados das 98 amostras citológicas submetidas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=98)……….…. 74

**Gráfico 2** - Distribuição das 45 neoplasias de acordo com diagnóstico citológico quando à origem das células, observadas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=45).………………………………………………….... 74

**Gráfico 3** – Distribuição das neoplasias de células redondas observadas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=17)…………….............. 75

**Gráfico 4** – Frequência das categorias de acordo com possibilidade de diagnóstico citológico das 98 amostras recolhidas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=98)…………………………………………………………….… 76 **Gráfico 5** – Percentagem da obtenção de um diagnóstico útil (específico ou citológico) durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL (n=98)…………………………………………………………………………….…… 78 **Gráfico 6** –Representação da distribuição dos animais conforme conforme a idade (mais ou menos de 6 anos) (n=98). ………………………...…………………...…….. 78 **Gráfico 7** - Percentagem de concordância entre o diagnóstico citológico e histológico (n=33).………………………………………………………….…………………..… 80 **Gráfico 8** - Percentagem da obtenção de um diagnóstico útil (específico ou citológico) nas 98 amostras citológicas submetidas durante o período de Janeiro de 2009 a Fevereiro de 2011 no HVL, excluindo os diagnósticos discordantes com os resultados histológicos (n=98)……………………………………………………..………..……. 82

ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1 –** Esquematização da reação enzima-substrato………..…………………...… 6

**Figura 2 -** Amostra citológica de lavagem prostática. Prostatite purulenta com evidência de bacilos fagocitados. Coloração Wright, 500X, 1000X......................…..………..… 12

**Figura 3** - Amostra citológica de quisto folicular com inflamação piogranulomatosa. Coloração Wright, 500X………...………………………………………………..…… 13

**Figura 4 -** Amostra citológica de adenocarcinoma canino de sacos anais. Coloração Wright, 500X, 1000X…..………………………...………………………..………….. 19

**Figura 5 -** Amostra citológica de carcinoma de células escamosas felino de pavilhão auricular. Coloração Diff- Quick, 400X, 1000X…………...………….……………… 21

**Figura 6 -** Amostra citológica de carcinoma de células transicionais vaginal canino com presença das inclusões intracitoplasmáticas cor de rosa típicas de CCT. Coloração Wright, 1000X………………………..……………….………………………………. 22

**Figura 7 -** Amostra citológica por aposição de carcinoma de células transicionais vaginal canino. Coloração Wright, 500X…………………………………...………… 23

**Figura 8 -** Amostra citológica de efusão torácica de carcinoma broncoalveolar canino. Coloração Diff- Quick, 500X, 1000X……………………………………………….... 27

**Figura 9 -** Amostra citológica de adenocarcinoma canino de glândulas ceruminosas de canal auditivo externo. Coloração Diff-Quick, 1000X, 400X…………….……..……. 29

**Figura 10 -** Amostra citológica de adenocarcinoma nasal canino. Coloração Diff- Quick, 400X…………………………….……………………………………………... 30

**Figura 11 -** Amostra citológica de tumor intersticial testicular canino. Coloração Diff-Quick, 400X….…………………………..……………………….…………………… 32

**Figura 12 -** Amostra citológica de hemangiopericitoma cutâneo canino. Coloração de Wright, 1000X……..………………………………………….………………………. 34

**Figura 13 -** Amostra citológica de hemangiopericitoma cutâneo canino. Coloração de Wright, 500X……..…………………………………………………………………… 34

**Figura 14 -** Amostra citológica de fibrossarcoma cutâneo canino. Coloração de Wright, 1000X………………………………………………..……...………………………… 36

**Figura 15 -** Amostra citológica de mastocitoma cutâneo canino bem diferenciado. Coloração de Wright, 1000X……………………………..…………………………… 41

**Figura 16 -** Amostra citológica de mastocitoma cutâneo canino pouco diferenciado. Coloração Diff-Quick, 400X, 1000X…………………………………………………. 42

**Figura 17 - A**mostra citológica de sarcoma histiocítico hepático canino. Coloração de Wright, 1000X………………..……………..………………………………………… 48

**Figura 18** - **A**mostra citológica de sarcoma histiocítico hepático canino. Coloração de Wright, 1000X………………..……………………………………………………….. 48

**Figura 19** - **A**mostra citológica de sarcoma histiocítico hepático canino. Coloração de Wright, 1000X……………..………………………………………………………….. 49

**Figura 20 -** Amostra citológica de linfoma hepático canino de alto grau de malignidade. Coloração de Wright, 400X, 1000X…………………………...……………………… 50

**Figura 21 -** Corte histológico de linfonodo canino com linfoma centroblástico de células B grandes (LDCBG-CB). Coloração H&E………………………………...…. 56

**Figura 22 -** Amostra citológica de linfonodo com linfoma LDCBG-CB. Coloração Wright-Giemsa, 1000X……………………...…...…………………………………… 56

**Figura 23 -** Corte histológico de baço canino com linfoma da zona marginal (LZM). Coloração H&E……………………………………………………………………….. 58

**Figura 24 -** Amostra citológica de linfonodo mesentérico canino com LZM. Coloração Wright-Giemsa, 1000X……………………………………………………………….. 58

**Figura 25 -** Corte histológico de linfonodo canino com linfoma periférico de células T (LPCT). Coloração H&E……..……………………………………………………….. 60

**Figura 26 -** Amostra citológica de linfonodo canino com LPCT. Coloração Wright Giemsa, 1000X…………..……………..……….…………………………………….. 60

**Figura 27 -** Amostra citológica de linfonodo canino com LPCT- NOS com linfócitos T pequenos com prolongamentos citoplasmáticos. Coloração Wright Giemsa, 1000X… 61

**Figura 28 -** Amostra citológica de linfonodo canino com LPCT-NOS de alto grau imunoblástico. Coloração Wright- Giemsa, 500X,1000X………..…..……...……….. 61

**Figura 29** - Corte histológico de linfonodo canino com linfoma da zona T (LZT), coloração H&E.……………………………………………………………………….. 62

**Figura 30 -** Amostra citológica de linfonodo canino LZT. Coloração Wright Giemsa, 1000X…………………………………………………………………………………. 63

**Figura 31 -** Corte histológico de linfonodo com linfoma linfolástico (LLB). Coloração H&E……….................................................................................................................... 64

**Figura 32 -** Amostra citológica de linfonodo canino com linfoma linfoblástico de células T. Coloração Wright- Giemsa, 500X…..…………………………………...… 64

**Figura 33 -** Corte histológico de linfonodo canino com linfoma folicular (FL). Coloração H&E…………………………………………………………………..…… 65

**ÍNDICE DE ABREVIATURAS**

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

ANP - Antigénio Nuclear de Proliferação

ARN – Ácido Ribonucleico

CCT – Carcinoma de Células de Transição

FL – Linfoma Folicular

H&E – Hematoxilina & Eosina

HEP – Hemangiopericitoma

Hpf – *High power field*

HVL – Hospital Veterinário das Laranjeiras

ICQ - Imunocitoquímica

IHQ - Imunohistoquímica

IM- Índice Mitótico

LBA – Lavado Bronco Alveolar

LCBGRCT - Linfoma de Células B Grandes Rico em Células T

LDCBG – Linfoma Difuso de Células B Grandes

LDCBG-CB - Linfoma Centroblástico Difuso de Células B Grandes

LDCBG-IB - Linfoma Imunoblástico Difuso de Células B Grandes

LLB-T – Linfoma Linfoblástico de Células T

LPCT – Linfoma Periférico de Células T

LZM – Linfoma da Zona Marginal

LZT – Linfoma da Zona Nodal de Células T

PAAF- Punção Aspirativa por Agulha Fina

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

PrHP – Proteína relacionada à Hormona da Paratiróide

RE – Recetores de Estrogénios

RONAg - Região Organizadora Nucleolar Argirofílica

RP - Recetores de Progesterona

TPP– Tumores da Parede Perivascular

TSM – Tempo de Sobrevivência Média

TVT – Tumor Venéreo Transmissível