

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIAGNÓSTICO COMPARATIVO ENTRE A
HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA POR CAPILARIDADE
COM AGULHA DE INSULINA NAS NEOPLASIAS
MAMÁRIAS CANINAS**

Giovanna Rossi Varallo

Médica Veterinária

2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**DIAGNÓSTICO COMPARATIVO ENTRE A
HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA POR CAPILARIDADE
COM AGULHA DE INSULINA NAS NEOPLASIAS
MAMÁRIAS CANINAS**

Giovanna Rossi Varallo

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Daleck

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Cirurgia Veterinária.

2013

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GIOVANNA ROSSI VARALLO – nasceu em Monte Alto – SP em três de novembro de 1983. Filha de Erivaldo José Varallo e Alzira Maria Rossi Varallo. Concluiu o ensino fundamental na escola “Mundo Pequenino” e o ensino médio no colégio “Objetivo” ambos localizados na cidade natal. Graduiu-se em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, em dezembro de 2007. Durante a graduação foi bolsista do programa PET Medicina Veterinária. Especializou-se em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais pelo Programa de Aprimoramento na Universidade de Rio Preto, UNIRP, Hospital Veterinário Dr. Halim Atique em janeiro de 2011. Ingressou no mestrado em Cirurgia Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Câmpus de Jaboticabal, em março de 2011.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas ...
Que já têm a forma do nosso corpo ...
E esquecer os nossos caminhos que nos levam sempre aos
mesmos lugares ...

É o tempo da travessia ...
E se não ousarmos fazê-la ...
Teremos ficado ... para sempre ...
À margem de nós mesmos...”

Fernando Pessoa

Dedico este trabalho à minha família

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por me proporcionarem condições, estrutura e tranquilidade para a minha formação humana e profissional.

À minha avó pela dedicação, apoio e incentivos dispensados durante toda a minha vida.

Ao meu orientador, professor Carlos Roberto Daleck, pela oportunidade, responsabilidade, apoio e amizade ao longo de todos esses anos.

Ao Cnpq pelo apoio financeiro.

Aos professores Andrigo Barboza De Nardi e Mirela Tinucci Costa pela paciência, ensinamentos, confiança e oportunidades oferecidas durante esse período. Assim como pelas valiosas considerações apontadas no exame geral de qualificação.

À minha irmã por me aconselhar e orientar durante a escrita da dissertação.

Ao Eugênio de Campos Filho pela prontidão, profissionalismo e incomensurável ajuda para o desenvolvimento do estudo.

À equipe da patologia veterinária, especialmente à Geórgia Modé Magalhães e Mayara Caroline Resolem, sobretudo, pela nossa amizade.

Ao grupo de profissionais da Oncologia Veterinária da FCAV-Unesp (SOV), Sofia Borin Crivellenti, Rafael Hupples, Érika Maria Terra, Rosana da Cruz Lino Salvador, Livia Maria Sousa Semolin, Paulo Jark, Talita Mariana Moratta Raposo, Marília Ferreira, Josiane Pazzini e Reinaldo Garrido pelo convívio e ajuda durante todo o processo.

Ao Bruno Roque Lima por me ajudar e a organizar as pacientes atendidas no Instituto Veterinário Dr. Daleck.

Aos funcionários e residentes do Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da FCAV-Unesp, os quais participaram através da avaliação laboratorial dos pacientes.

Aos residentes do setor de Cirurgia, Obstetrícia e Diagnóstico por imagem do Hospital Veterinário da FCAV-Unesp, os quais sempre se mostraram aptos e interessados nas suas funções.

A todos os estagiários que passaram pelo SOV e ajudaram muito durante consultas e seguimentos das pacientes.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da FCAV-Unesp, pela colaboração.

Aos proprietários das pacientes pela confiança e colaboração.

Às minhas queridas pacientes que, de forma involuntária, participaram desse projeto, e que, mesmo diante das adversidades, mostraram-se felizes em nos encontrar para as avaliações, ou quimioterapias.

Ainda, gostaria de agradecer a Deus, por guiar meus passos, ouvir minhas preces e por colocar as pessoas certas nas horas certas nessa minha jornada.

SUMÁRIO

	Página
Resumo.....	x
Palavras – chave.....	x
Summary.....	xi
Key words.....	xi
Lista de abreviaturas.....	xii
Lista de tabelas.....	xiii
Lista de figuras.....	xiv
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS	
1.1 Introdução.....	1
1.2 Revisão de Literatura.....	3
1.3 Referências Bibliográficas.....	12
CAPÍTULO 2 - DIAGNÓSTICO COMPARATIVO ENTRE A HISTOPATOLOGIA E A CITOLOGIA POR CAPILARIDADE COM AGULHA DE INSULINA NAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS CANINAS	
Resumo.....	18
Summary.....	19
2.1 Introdução.....	20
2.2 Material e Método.....	22
2.2.1 Descrição das pacientes.....	22
2.2.2 Avaliação das pacientes.....	22
2.2.2.1 Pacientes.....	22
2.2.2.2 Questionário.....	23
2.2.2.3 Exame citológico.....	23
2.2.2.4 Exame histopatológico.....	24
2.2.2.5 Análise estatística.....	24
2.3 Resultados.....	25
2.4 Discussão.....	34
2.5 Conclusão.....	37
2.6 Referências Bibliográficas.....	38
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	
3.1 Discussão.....	41
3.2 Conclusão.....	48
3.3 Referências Bibliográficas.....	49

**Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)
da FCAV-Unesp (protocolo nº 024833/12)**

DIAGNÓSTICO COMPARATIVO ENTRE A HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA POR CAPILARIDADE COM AGULHA DE INSULINA NAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS CANINAS

RESUMO –

A glândula mamária é o sítio neoplásico primário mais frequente em cadelas. A apresentação clássica da doença é caracterizada por pacientes idosas não castradas ou castradas tardiamente e com múltiplas nodulações. O diagnóstico definitivo das lesões é dado pelo exame histopatológico. Nos dias atuais, especialmente em oncologia veterinária, a determinação precoce de um estado neoplásico pode alterar o curso da doença. Nesse âmbito, a citologia com agulha fina possui grande valia, pois permite a diferenciação entre processos inflamatórios, formações neoplásicas benignas e malignas de forma rápida, precisa e segura. Entretanto, a aplicação nos tumores mamários, em medicina veterinária, possui inúmeras controvérsias, em virtude da diversidade histológica. O presente estudo teve como objetivo comparar os exames citológicos e histopatológicos em cadelas e, assim, avaliar a acurácia da citologia por capilaridade com agulha de insulina nas lesões neoplásicas de mama. Para tanto, estudou-se 69 lesões mamárias obtidas de pacientes atendidas no Setor de Oncologia Veterinária da Unesp, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário Dr. Daleck. A punção por capilaridade foi realizada em quatro áreas diferentes do tumor com agulhas de insulina. Os esfregaços citológicos foram corados com May Grünwald Giemsa. Já os fragmentos tumorais colhidos para o exame histopatológico foram fixados imediatamente em formol tamponado a 10% durante 48 horas e, após o processamento, foram corados com hematoxilina - eosina e classificados segundo Cassali et al., 2011. Os resultados obtidos revelaram 83,9% de sensibilidade, 100% de especificidade, 100% de valor preditivo positivo (VPP), 9,1 % de valor preditivo negativo (VPN) e 84,1% de acurácia da técnica citológica em detectar neoplasias mamárias malignas. A citologia por capilaridade com agulha de insulina, no presente ensaio, mostrou ser uma técnica superior à aspirativa para o diagnóstico de neoplasias mamárias malignas em cadelas, pois permitiu poucos diagnósticos inconclusivos. Constatou-se, ainda, que esse procedimento não apresentou limitações para a aplicação no universo estudado.

Palavras-chave: cadelas, citologia, histologia, neoplasia mamária.

COMPARISON OF DIAGNOSTIC HISTOPATHOLOGY AND CYTOLOGY NEEDLE CAPILLARY INSULIN IN CANINE MAMMARY NEOPLASMS

SUMMARY –

The mammary gland is the most common primary neoplasm site in female dogs. The classic presentation of the disease is characterized by elderly patients not spayed or later neutered with multiple nodules. Definitive diagnosis of lesions is given by histopathological examination. Nowadays, especially in veterinary oncology, the early detection of a neoplastic state can alter the course of disease. In this context, fine-needle cytology has great value because it allows differentiation between inflammatory processes, benign and malignant neoplastic formations quickly, accurately and safely. However, the application mammary tumors in veterinary medicine has several controversies, due to the diverse histology. The present study aimed to compare the cytological and histological bitches and thus evaluate the accuracy of cytology by capillarity with insulin needle in neoplastic lesions of the mammary glands. Therefore, we studied 69 breast lesions obtained from patients treated at the Service of Oncology Veterinary, Unesp Jaboticabal, and Veterinary Institute Dr. Daleck. The capillary puncture was performed in four different areas of the tumor with insulin needles. The cytology smears were stained with May Grünwald Giemsa. Already tumor fragments harvested for histologic examination were fixed immediately in 10% buffered formalin for 48 hours and, after processing, were stained with hematoxylin - eosin and classified according Cassali et al., 2011. The results showed 83.9% sensitivity, 100% specificity, 100% positive predictive value (PPV), 9.1% negative predictive value (NPV) of 84.1% and accuracy of cytological technique to detect cancers malignant breast. Cytology by capillarity with insulin needle, in this test, proved to be a superior technique to aspiration for diagnosis of malignant mammary gland tumors in female dogs because it allowed a few inconclusive diagnoses. It was found also that this procedure showed no limitations to the application studied in the universe.

Keywords: cytology, female dogs, histology, mammary tumours.

LISTA DE ABREVIATURAS

AC: acurácia

ALT: alanina aminotransferase

CAF: citologia com agulha fina

CAAF: citologia aspirativa com agulha fina

E: especificidade

EDTA: ácido etilenodiaminotetracético

EUA: Estados Unidos da América

M1: mama torácica cranial

M2: mama torácica caudal

M3: mama abdominal cranial

M4: mama abdominal caudal

M5: mama inguinal

MMG: May Grünwald Giemsa

OH: ovário-histerectomia

OMS: Organização Mundial da Saúde

S: sensibilidade

TNM: tumor, linfonodo e metástase

VPN: valor preditivo negativo

VPP: valor preditivo positivo

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1	Página
Tabela 1: Sistema TNM para o estadiamento de neoplasias mamárias em cadelas – modificada.....	9
Capítulo 2	
Tabela 1: Relação entre os diagnósticos citológicos e histopatológicos de tumores mamários de cadelas atendidas no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	25
Tabela 2: Incidência racial observada em cadelas com neoplasia mamária atendidas no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	26
Tabela 3: Localização das neoplasias mamárias quanto à cadeia e à glândula envolvida, em cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	28
Tabela 4: Incidência dos tipos histológicos das lesões mamárias em cadelas diagnosticadas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	29
Tabela 5: Relação entre os diagnósticos citológicos e histopatológicos para a determinação de neoplasias mamárias de cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	30
Tabela 6: Diagnósticos dos exames citológicos das lesões mamárias de cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	31

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2	Página
Figura 1: Relação do número de casos de neoplasia mamária com a idade diagnosticada no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	27
Figura 2: Relação entre as mamas acometidas e o lado da cadeia mamária em cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	28
Figura 3: Frequência do diagnóstico citológico das lesões mamárias de cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.....	31
Figura 4: Fotomicrografia de células epiteliais de um carcinoma mamário canino (objetiva 40x). Observa-se relação núcleo (seta laranja)-citoplasma (seta verde) alta, macro e multi nucléolos (seta vermelha), anisocariose (seta laranja), cromatina densa (seta preta) e baixa coesão entre as células neoplásicas.....	32
Figura 5: Fotomicrografia de um carcinoma mamário canino (objetiva 20x). Nota-se a presença de clusters (blocos) de células epiteliais neoplásicas coesas (seta preta).....	33

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

A mama é uma glândula sudorípara apócrina modificada constituída por uma rede de alvéolos, ductos, estroma fibrovascular e nervos. Nas mulheres, o desenvolvimento completo dessa estrutura ocorre no período da gestação e da lactação (SORENMO et al., 2011). Nas cadelas, é o sítio primário neoplásico mais comum, correspondendo a mais de 50% de todos os neoplasmas que as acometem (AL-DISSI et al., 2010).

É uma doença de etiologia multifatorial, sendo que os principais fatores de risco envolvidos no seu desenvolvimento são: idade, raça, hormônios, dieta, obesidade e ciclooxigenase-2; além de aspectos moleculares também atribuídos ao processo carcinogênico (BETZ et al., 2012). As vias moleculares envolvidas na tumorigênese mamária são complexas e não estão totalmente elucidadas. Basicamente, relacionam-se ao favorecimento do crescimento neoplásico por meio da ativação de oncogenes, da perda da inibição dos genes supressores tumorais e da diminuição da coesão entre as células neoplásicas; ao aumento do tempo de meia vida ou à imortalidade das células neoplásicas (fuga ou resistência à apoptose); à falhas na detecção e/ou no reparo de anormalidade no DNA nos checkpoints; bem como à angiogênese (KLOPFLEISCH et al., 2011)

O perfil das pacientes portadoras de tumor de mama é representado por cadelas idosas, não castradas e com múltiplas nodulações (VARALLO et al., 2012). Acomete qualquer raça, porém observa-se maior incidência nos Poodles, Cockers Spaniels, Pastores Alemães e nos sem raça definida (DE NARDI et al., 2009).

O diagnóstico precoce por métodos confiáveis e rápidos possibilitam o aumento da sobrevida dos pacientes, pois é possível agilizar a instituição de protocolos terapêuticos (SIMON et al. 2009).

Nesse âmbito, o papel da citologia como uma ferramenta diagnóstica em medicina veterinária está em ampla expansão (MEINKOTH et al., 2009). O exame citopatológico é um método confiável que visa a análise de possíveis alterações na morfologia celular de um tecido para, assim, estabelecer um diagnóstico definitivo ou presuntivo (ZAGORIANAKOU et al., 2005). As amostras celulares são obtidas através de escovados, raspados, *imprints* e punções, as quais podem ser aspirativas ou por capilaridade, com o uso de agulhas finas (SANTANA et al., 2009). Portanto, trata-se de um procedimento de fácil aplicação, pouco invasivo, muito bem tolerado pelos pacientes, de baixo custo, e, sobretudo, rápido (CASSALI et al, 2007). E, na oncologia, permite estabelecer uma conduta terapêutica adequada, além de auxiliar na presunção do prognóstico através da neoplasia diagnosticada (POLTON, 2009).

O presente estudo teve como objetivo comparar os resultados dos exames citológicos e histopatológicos de cadelas portadoras de neoplasias mamárias e, assim, avaliar a acurácia da citologia por capilaridade com agulha de insulina na detecção de neoplasias mamárias malignas, bem como a sensibilidade e a especificidade do método para sua aplicação em medicina veterinária.

1.2 Revisão de Literatura

Os tumores mamários são as neoplasias mais comuns que acometem as cadelas não castradas, ou castradas tardiamente (EGENVAL, et al, 2010). Estudos europeus documentam uma taxa de incidência aproximada de 200 casos por ano para cada 100.000 cães (VASCELLARI et al., 2009). Nesse âmbito, por ser muito frequente na rotina clínica dos animais de companhia, a importância dos estudos acerca desse tema é crescente (FONSECA; DALECK, 2000). Outrossim, compreendem 52% de todas as neoplasias que acometem tais pacientes (BRODY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1985; AL-DISSI et al, 2010), e, destes 41% a 53 % são malignos (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007; ALL-DISSI et al, 2010). Entretanto, pesquisas brasileiras mostram que os tumores malignos compreendem 60% a 82% dos diagnósticos histopatológicos das neoplasias mamárias (VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012). Oliveira Filho et al. (2010) realizaram um estudo que contemplou 1.647 tumores mamários de cães e estabeleceram uma relação entre as formas benignas e malignas de 1: 2,75. Sorenmø et al. (2009) relataram a capacidade das células tumorais benignas sofrerem o fenômeno da transformação maligna e, assim, adquirirem fenótipos agressivos. Esse processo, portanto, explica as evidências dos estudos nacionais, visto que o tempo de evolução tumoral observado nas pacientes é longo (VARALLO et al., 2012).

Diferentes fatores de risco podem coexistir e influenciar no desenvolvimento dos tumores de mama. A idade é um dos mais importantes eventos para o surgimento das neoplasias mamárias em cadelas (SORENMO et al., 2011). A partir dos oito anos o risco começa a ser significativo e, após essa idade, aumenta de forma linear (CHANG et al., 2005). Além disso, verificou-se que a incidência das formas malignas aumenta com a idade; um estudo constatou que pacientes com média de 8,5 anos apresentavam mais neoplasia benigna, enquanto que as com média de 9,5 anos maligna (SORENMO et al, 2009). Varallo et al. (2012) observaram que cadelas com nove, dez, 11 e 12 anos de idade desenvolveram

neoplasias mamárias malignas com maior incidência e, em relação aos benignos, 3% tinham nove anos, 3% oito anos e 1% 10 anos.

Também são considerados fatores de risco a dieta, a obesidade e a ciclooxigenase-2 (COX-2). Dietas inadequadas induzem o depósito de gordura no tecido subcutâneo e o aumento da conversão dos andrógenos em estrógenos; a dieta rica em proteína oriunda de carne vermelha e a obesidade no primeiro ano de vida e um ano antes do diagnóstico do tumor aumentam as chances para o aparecimento da enfermidade (PERES ALENZA et al., 1998). Neoplasias mamárias que apresentam receptores para COX-2 possuem pior prognóstico, bem como menor tempo de sobrevida (LAVALLE et al, 2009). A maior expressão de COX-2 foi observada nos tumores simples e complexos, bem como naqueles graduados no terceiro grau de malignidade histológica. Além disso, foi possível correlacionar que neoplasmas com superexpressão de COX-2 possuíam um valor médio elevado do índice mitótico (BADOWSKA-KOZAKIEWICZ; MALICKA, 2010).

Além destes fatores, a influência hormonal é incriminada como a principal causa para a origem da doença. Os hormônios ovarianos, estrógeno e progesterona, promovem alterações fisiológicas nas glândulas mamárias durante o ciclo estral e seus receptores estão presentes em tecidos normais e neoplásicos (GAMA; ALVES; SCHMITT, 2008). Nas fêmeas canídeas, os receptores de estrógenos (RE) estão em maior quantidade nos tumores benignos e a expressão dos receptores de progesterona (RP) diminui progressivamente a partir de lesões hiperplásicas/displásicas, tumores benignos e malignos (CHANG et al., 2009). Assim, a diminuição da expressão de RE e RP correlacionam a um pior prognóstico (DE NARDI et al, 2009).

A apresentação clássica da enfermidade inclui fêmeas de meia idade a idosas, entre sete a doze anos de idade, e com o envolvimento de mais de uma glândula (VARALLO et al., 2012). A afecção pode ocorrer em fêmeas caninas de qualquer raça, não obstante, estudos epidemiológicos mostram maior incidência em pacientes de porte pequeno - miniatura e toy (SLEECKX et al., 2011). As principais raças acometidas são Poodles, Pastores Alemães, Cocker Spaniels, bem como animais sem raça definida (DE NARDI et al., 2009).

Nesse âmbito, diferentes apresentações clínicas podem ser observadas. As formações neoplásicas podem ser únicas ou múltiplas, sésseis, móveis, císticas, ulceradas, inflamadas, com uma ampla variação de mensuração (milímetros a centímetros) (DE NARDI et al, 2009). Sinais inespecíficos como letargia, apatia, perda de peso, dispnéia, tosse e linfadenomegalia podem sugerir metástases (SORENMO, 2003).

O diagnóstico fundamenta-se na caracterização da paciente (raça, idade, status reprodutivo), na história pregressa (ciclo estral, terapias com progestágenos, lactações, falsas gestações, mastites, partos, duração de sinais clínicos) no exame físico (condição geral da paciente, palpação correta das glândulas mamárias para a identificação e mapeamento das lesões, avaliação dos linfonodos), sobretudo, nos exames citológico e histopatológico (SORENMO, 2003; CASSALI et al 2011).

A punção biópsia aspirativa (PBA) ou citologia com agulha fina (CAF) surgiu na década de 1930 com o objetivo de diagnosticar tumores malignos em humanos (MAGALHÃES et al. 2001; TEIXEIRA et al., 2010). É uma adaptação da citologia esfoliativa, preconizada por Papanicolau na metade do século XIX (HATAKA, 2004). Entretanto as técnicas de aspiração só se tornaram populares nos anos 60 através das publicações do Instituto Karolinska na Suécia (CORRÊA; MARCON, 2001). Em animais, essa técnica começou a ser utilizada na década de 80, auxiliando na distinção de hiperplasias, inflamações, neoplasias e degenerações (MAGALHÃES et al. 2001; TEIXEIRA et al., 2010).

A CAF é um procedimento de amostragem de células de uma lesão-alvo com agulha de calibre situado entre 22 e 25G, ou menos, acoplada ou não a uma seringa de 10 a 20 mL, sempre estéril e descartável (SANTANA et al., 2009). Trata-se de um procedimento rápido, barato e que requer equipamentos simples, logo, tem sido bem estabelecida para a prática de diagnósticos neoplásicos e não neoplásicos (GHISLENI et al., 2006). Um aspecto importante ao procedimento é a baixa ou inexistente morbidade, o que o torna um método seguro para os pacientes (ROCHA, 1998). É amplamente utilizada em diagnóstico de tumor de mama em mulheres, mas pouco estudada e avaliada em medicina veterinária (CASSALI et al, 2007). As complicações relacionadas à CAF são irrisórias e estão relacionadas a pequenos sangramentos e hematomas no local da punção (ROCHA, 1998). Dessa forma, o

objetivo da CAF é fornecer ao clínico, ao cirurgião, ou ao oncologista informações sobre a natureza do tecido amostrado para se firmar o diagnóstico seguro e apropriado, notadamente entre processos inflamatórios e neoplásicos (SANTANA et al., 2009). Atua, portanto, como uma ferramenta adicional no que se concerne ao estabelecimento da conduta terapêutica (BETZ et al. 2012).

Nesse contexto, para obter amostras de qualidade, bem como resultados favoráveis, a CAF depende da execução da técnica de colheita adequada e do processamento correto do material obtido (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001). Entre as causas de insucesso no uso da CAF para o diagnóstico das doenças mamárias, a frequência de material insatisfatório, o número de resultados falso-negativos e o número de resultados falso-positivos são os fatores mais importantes (REIS et al., 1998). Dessa forma, torna-se necessário puncionar o mesmo nódulo em, pelo menos, quatro áreas distintas (POLTON, 2009).

Não obstante, o uso da citologia para o diagnóstico de neoplasia mamária apresenta um ponto de grande controvérsia entre os veterinários oncologistas (POLTON, 2009). A principal razão para tal é a grande heterogeneidade que pode ser observada histologicamente dentro de um único tumor, bem como a diversidade de tipos celulares que podem estar envolvidos e da frequente presença de populações celulares que se sobrepõem nas lesões hiperplásicas, displásicas, benignas e malignas (ALLISON; MADDUX, 2009).

Segundo Santana et al. (2009) a CAF pode ser realizada pelas técnicas aspirativa (CAAF) e não aspirativa ou por capilaridade. A técnica aspirativa consiste no isolamento manual do campo a ser puncionado e na introdução de uma agulha fina (calibre 20, 23 ou 25) acoplada a uma seringa estéril de 10 a 20 ml. Esta é introduzida três a quatro vezes, em pontos diversos do nódulo ou massa tumoral, mantendo pressão negativa de seis a oito mL, no interior da seringa (MAGALHÃES et al., 2001). Antes de ser removida, deve-se liberar a pressão de dentro da seringa, retornando o êmbolo à posição inicial (HAHN, 2003). O espécime é, então, colocado sobre lâmina seca e limpa, confeccionando-se o esfregaço em no mínimo três lâminas (MAGALHÃES, et al., 2001).

A técnica não aspirativa ou por capilaridade é semelhante à anterior, porém não se aplica pressão negativa durante o procedimento, sendo que as células são

colhidas por capilaridade, através de movimentos de “vai-vem” (SANTANA. et al., 2009).

Os esfregaços com as amostras citológicas são secos a temperatura ambiente e corados com corantes do tipo Romanowsky, coloração de Papanicolau, bem como May-Grunwald e Giemsa (MGG) (SANTANA. et al., 2009).

A caracterização das células neoplásicas dos tumores de mama em cadelas, conforme Zuccari, Santana e Rocha (2001), na CAAF, as formas benignas de origem epitelial retratam-se por grupos celulares homogêneos, bem aderidos entre si e com o formato das estruturas das quais foram aspiradas, alveolares ou ductulares. As massas mamárias quando puncionadas podem demonstrar apenas a presença do componente fibrocístico, que são as células espumosas ou "*foam cells*", relacionadas à atividade secretória da glândula mamária, as quais podem coexistir com células cancerígenas. Já a caracterização maligna do componente epitelial é observada pela intensa variabilidade de tamanhos e formas celulares, bem como pouca coesão celular, com células pleomórficas soltas no esfregaço. Cassali et al. (2007) descreveram, ainda, que os carcinomas mamários podem ser caracterizados pela presença de grande celularidade, clusters de células tridimensionais, células isoladas ou pouco coesas, anisocariose e nucléolo evidente. O componente mesenquimal é caracterizado por amostras com presença frequente da matriz óssea, representando o mucopolissacarídeo secretado pelas células mioepiteliais para formação de tecido ósseo e/ou cartilaginoso (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001).

Ainda segundo Zuccari, Santana e Rocha, (2001), a CAAF é um procedimento pouco sensível (73%), assim, não deve ser utilizada isoladamente, mas sim como um método auxiliar, de utilização simples e imediata, proporcionando ao clínico uma conduta rápida e objetiva com relação ao prognóstico e tratamento do paciente; não obstante, devido à alta especificidade (83%), é aplicável para o diagnóstico de malignidade de tumores mamários. Cassali et al. (2007) obteve 88,6% de sensibilidade e 100% de especificidade para o diagnóstico de lesões tumorais malignas e uma sensibilidade de 100% e especificidade de 88,6% para o diagnóstico de lesões benignas; entretanto, não deve ser utilizada para diagnóstico definitivo. Reis et al. (1998), em mulheres, verificou que a sensibilidade do método

foi de 70,87%, a especificidade de 70,58%, o valor preditivo positivo de 92,40%, o valor preditivo negativo de 89,36% e a acurácia de 70,67%. Com estes resultados concluíram que a utilização da CAAF, no atendimento primário das pacientes com patologias da mama, ao invés de biópsias, apresenta a vantagem de não alterar os parâmetros para estadiamento de tumores maligno, pois não causa metástases. No que se concerne à citologia por capilaridade, não há relatos na literatura veterinária e humana.

Já o exame histopatológico é o de eleição para a identificação das características de uma neoplasia, pois permite verificar o grau do tumor, a presença de necrose, a invasão linfática e vascular. (DE NARDI et al. 2009). Ou seja, permite o exame da arquitetura e dos padrões de crescimento da neoplasia (invasividade), visto que analisa um fragmento do tecido neoplásico. Desta forma, proporciona o diagnóstico conclusivo na maioria das situações neoplásicas. (HAHN. 2003)

A classificação histológica das neoplasias representa uma tentativa de quantificar as características tumorais (REZAIER, 2009) e, assim, estabelecer o comportamento biológico do tumor e o prognóstico (CASSALI et al., 2011).

Além da determinação do diagnóstico, a avaliação da extensão da doença é de suma importância. O estadiamento permite a obtenção de informações sobre o comportamento biológico do tumor, a seleção da terapêutica, a previsão das complicações, a obtenção de informações sobre o prognóstico do caso, a avaliação dos resultados do tratamento e a investigação em oncologia, o que possibilita e viabilizam as pesquisas clínicas, publicações de resultados e troca de informações (BETZ et al., 2012). Em animais, o TNM (tumor, linfonodo e metástase) é o sistema utilizado para estadiar a doença, o qual foi caracterizado na: Tabela 1 (SORENMO et al., 2011). Além disso, exames de imagens, tais como, as radiografias torácicas em três projeções e a ultrassonografia abdominal ajudam no rastreamento e na detecção de possíveis metástases em pulmões, fígado e baço (CASSALI et al., 2011).

Tabela 1: Sistema TNM para o estadiamento de neoplasias mamárias em cadelas – modificada.

Estágio	T	N	M
I	1	0	0
II	2	0	0
III	3	0	0
IV	qqT	1	0
V	qqT	qqN	1

T: tumor primário (T1: < 3 cm de diâmetro, T2: 3-5 cm de diâmetro, T3: > 5 cm de diâmetro); **N: condição do linfonodo regional** (N0: sem metástase, N1: com metástase); **M: metástase à distância** (M0: ausente, M1 : presente). Fonte: DE NARDI et al. (2009).

A conduta terapêutica de eleição para as neoplasias mamárias em cadelas é a ressecção cirúrgica, especialmente para pacientes que não apresentam metástases à distância (LANA et al., 2007). A ressecção dos tumores permite o diagnóstico histopatológico e, em alguns casos, pode ser curativa, quando as margens cirúrgicas não estão comprometidas e não há evidências de focos neoplásicos secundários (HEDLUND, 2005). A escolha da técnica cirúrgica baseia-se na localização e tamanho da lesão, na anatomia da drenagem linfática das cadeias mamárias, bem como na extensão da doença (CASSALI et al., 2011). Dessa forma, a lumpectomia ou nodulectomia é indicada para nódulos com mensurações diminutas, móveis e localizados na periferia da glândula; a mastectomia regional para lesões em M1 ou M2, M4 ou M5, entre M1 e M2 e entre M4 e M5; a mastectomia unilateral para múltiplas lesões em uma única cadeia e a mastectomia bilateral para múltiplas lesões em ambas as cadeias mamárias (HEDLUND, 2005). Na tentativa de definir a melhor opção cirúrgica, MacEwen et al. (1995) avaliaram a taxa de recorrência tumoral e o tempo livre de doença em cadelas submetidas à

diferentes tipos de mastectomias (regional e radical). Os autores não observaram diferença significativa em relação às variáveis testadas nos grupos avaliados. Todavia, em contraste com tais resultados, um estudo prospectivo com 99 pacientes mostrou que 58% das cadelas desenvolveram um novo tumor nas glândulas mamárias remanescentes da cadeia ipsilateral após a mastectomia regional, o que evidencia a necessidade de uma abordagem cirúrgica ampla (STRATMANN et al., 2008).

A quimioterapia antineoplásica é considerada uma ferramenta importante para o tratamento das neoplasias mamárias em cadelas. É indicada quando há a invasão das células neoplásicas nos vasos linfáticos e/ou sanguíneos, metástases nos linfonodos regionais e em tumores com prognósticos desfavoráveis (DE NARDI et al., 2009). É amplamente utilizada como terapia adjuvante, ou seja, após o procedimento cirúrgico, para o controle da forma microscópica da doença quando presente (SORENMO et al., 2011). Entretanto, há informações limitadas sobre a eficácia dessa modalidade na literatura veterinária (CASSALI et al., 2011). Além disso, pacientes com metástases à distância podem se beneficiar com o uso da quimioterapia, apesar de ser considerada uma medida paliativa, ao proporcionar o aumento da sobrevida (SLEECKX et al., (2011). Cassali et al. (2011) concentraram e publicaram os protocolos quimioterápicos indicados para o tratamento das neoplasias mamárias em cadelas, sendo que os principais fármacos envolvidos são doxorrubicina, carboplatina, ciclofosfamida, gencitabina e paclitaxel.

Recentemente, a COX-2 foi incriminada como um agente importante na oncogênese (BADOWSKA-KOZAKIEWICZ; MALICKA, 2010). Estudos demonstram que essa enzima pode mediar vários mecanismos, como a proliferação celular, apoptose, modulação do sistema imune e a angiogênese (KLOPFLEISCH,et al., 2011). É sabido, ainda, que tumores mamários que expressam receptores para COX-2 possuem piores prognósticos (LAVALLE et al, 2009). Dessa forma, o uso dos inibidores seletivos de COX-2 tem se mostrado uma terapia útil para o tratamento de tumores de mamas em cadelas que expressam tais receptores (KLOPFLEISCH,et al., 2011).

Segundo Sorenmo et al. (2011) o prognóstico baseado nos achados clínicos das neoplasias mamárias depende do tamanho do tumor, do tempo de progressão

tumoral, do status dos linfonodos regionais, da presença de metástase à distância, da graduação histológica da neoplasia mamária e da presença ou não de ulceração dos nódulos. Dessa forma, neoplasmas com mensurações acima de cinco centímetros de diâmetro, ou com progressão superior a seis meses, ou ulcerados, possuem pior prognóstico. Indícios de metástases em linfonodos e/ou outros órgãos deflagram prognóstico reservado a ruim. Outros fatores prognósticos relacionam-se aos receptores de estrógeno, progesterona e COX-2. Neoplasias que pouco expressam RE e RP, bem como as que superexpressam COX-2 apresentam prognóstico ruim (CHANG et al., 2009; KLOPFLEISCH et al., 2011).

1.3 Referências Bibliográficas

AL-DISSI, A. N.; HAINES, D. M.; SINGH, B.; KIDNEY, B. A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 in canine simple mammary gland adenocarcinomas. **The Canadian Veterinary Journal**, v.5, n.10, 2010.

ALLISON, R. W.; MADDUXR., J. M. Tecido glandular subcutâneo: mamário, salivar tireoide e paratireoide. In: COWELL, R. L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J. M.; DENICOLA, D. B. (Eds). **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. cap 6, p.112-121.

BADOWSKA-KOZAKIEWICZ, A. M.; MALICKA, E. Expression of cyclooxygenase-2 in neoplasms of the mammary gland in bitches. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 13, n. 2, p. 337-342, 2010.

BETZ, D.; SCHOENROCK, D.; MISCHKEL, R.; BAUMGÄRTNER, W.; NOLTE, I. Postoperative treatment outcome in canine mammary tumors Multivariate analysis of the prognostic value of pre- and postoperatively available information. **Tierärztliche Praxis Kleintiere**, v.40, p. 235–242, 2012.

BRODY, R. S.; GOLDSCHMIDT, M. H.; ROSZEL, J. Canine mammary gland neoplasia. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.19, p. 61–90, 1985.

CASSALI G. D.; GOBBI, H.; MALM, C.; SCHMITT, F. C. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. **Cytopathology**, v. 18, p. 191–196 , 2007.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; DE NARDI, A. B.; FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; ESTRELA-LIMA, A.; ALESSI, A. C.; DALECK, C. R.; SALGADO, B. S.; FERNANDES, C. G.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; AULER, P. A.; MAGALHÃES, G. M.; SILVA, J. O.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, L. O.; MALM, C.; ZUCCARI, D. A. P. C.; TANAKA, N. M.; RIBEIRO, L. R.; CAMPOS, L. C.; SOUZA, C. M.; LEITE, J. S.;

SOARES, L. M. C.; CAVALCANTO, M. F.; FONTELES, Z. G. C.; SCHUCH, I. D.; PANIAGO, J.; OLIVEIRA, T. S.; TERRA, E. M.; CASTANHEIRA, T. L. L.; FELIZ, A. O. C.; CARVALHO, G. D.; GUIM, T. N.; GUIM, T. N.; GARRIDO, E.; FERNANDES, S. .C.; MAIA, F. C. L ; DAGLI, M. L. Z., ROCHA, N. S.; FUKUMASU, H.; GRANDI, F.; MACHADO, J. P.; SILVA, S. M. M.; BEZERRIL, J. E.; FREHSE, M. S.; ALMEIDA, E. C. P.; CAMPOS, C. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.4, n.2, p. 153-180, 2011.

CHANG, C. C.; TSAI, M. H.; LIAO, J. W.; CHAN, J. P. WONG, M. L.; CHANG, S. C. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 235, n. 4, p. 391–396, 2009.

CHANG, S. C.; CHANG, C.C.; CHANG, T. J.; WONG, M. L. Prognostic factors associated with survival two years after surgery in dogs with malignant mammary tumors: 79 cases (1998–2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 10, p.1625–1629, 2005.

CORRÊA, Z.M.S.; MARCON, I.M. O uso da biópsia aspirativa com agulha fina (BAAF) no diagnóstico de lesão iriana suspeita - relato de caso. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**,v. 64. n. 4, 2001.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap 25, p. 372-383.

EGENVALL, A.; BONNETT, B. N.; OHAGEN.P.; OLSON, P.; HEDHAMMAR, A.; EULER, H. V. Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 69, n.1-2, p. 109-127, 2009.

FELICIANO, M. A. R.; SILVA, A. S.; PEIXOTO, R. V. R.; GALERA, P. D.; VICENTE, W. R. R. Estudo clínico, histopatológico e imunoistoquímico de neoplasias mamárias em cadelas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p. 1094-1100, 2012.

FONSECA, C. S; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias em cadelas: influência hormonal e efeitos da ovariectomia como terapia adjuvante. **Ciência Rural**, v. 30, n.4, p.731-735. 2000.

HEDLUND, C.S. Cirurgias do sistema reprodutivo e genital. In: Fossum, T. W. (Ed). **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 610- 672.

GAMA, A.; ALVES, A.; SCHMITT, F. Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. **Virchows Archive**, v. 453, n.2, p. 123–132, 2008.

GHISLENI, G.; ROCCABIANCA, P.; STEFANELLO, D.; BERTAZZOLO, W.; BONFANTI, U.; CANIATTO, M. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 35, n. 1, p.24-30, 2006.

HAHN, K. A. Diagnóstico de neoplasia. In. SLATTER, (ED). **Manual de Cirurgia de Pequenos Animais**. 3 ed Manole: Barueri, 2006. v.2, p. 2313-2324.

HATAKA, A. **Citologia aspirativa com agulha fina e histopatologia: valor e significado para o diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cadelas**. 2004. 96f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2004.

KLOPFLEISCH, R.; VON EULER, H.; SARLI, G.; PINHO, S. S.; GÄRTNER, F.; GRUBER, A. D. Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: news from an old disease. **Veterinary Pathology**, v.48, n.1, p. 98-116, 2011.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: Withrow, S.J.; MacEwen, E.G.,(Ed). **Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Missouri : WB Saunders, 2007. p. 619–633.

LAVALLE G. E.; BERTAGNOLLI, A. C.; TAVARES, W. L.; CASSALI, G. D. Cox-2 expression in canine mammary carcinomas: correlation with angiogenesis and overall survival. **Veterinary Pathology**, v. 46, n. 6, p. 1275–1280, 2009.

MACEWEN, E. G.; HARVEY, H. J.; PATNAIK, A. K.; MOONEY, S.; HAYES, A.; KURZMAN, I.; HARDY, W. D. JR. Evaluation of effects of levamisole and surgery on canine mammary cancer. **Journal of Biological Response Modifiers**, v.4, n.4, p. 418-426, 1985.

MAGALHÃES, A. M.; RAMADINHA, R. R.; BARROS, C. S. L.; PEIXOTO, P. V. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p.23-32, 2001.

MEINKOTH, J. M.; COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MORTON, R. J. Coleta e preparo de amostras. In: COWELL, R. L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J. M.; DENICOLA, D. B. (Eds). **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. cap 1, p.1-18.

OLIVEIRA FILHO, J. C.; KOMMERS, G. D.; MASUDA, E. K.; MARQUES, M. F. P. P.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

POLTON, G. Mammary tumours in dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 50-56, 2009.

PEREZ ALENZA, D.; RUTTEMAN, G. R.; PENA, L.; BEYNEN, A. C.; CUESTA, P. Relation between habitual diet and canine mammary tumors in a case-control study. **Journal of the Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 3, p.132–139, 1998.

REIS, F. J. C.; ANDRADE, J. M.; VELLUDO, M. A. S. L.; OLIVEIRA, S. A; FEITOSA, R. B.; MARANA, H. R. C.; BIGHETTI, S. Punção Biópsia Aspirativa (PBA) com Agulha Fina no Diagnóstico Diferencial de Patologias da Mama. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 20, nº.4, p.209-213, 1998.

REZAIE, A.; TAVASOILE, A.; BAHONAR, A.; MEHRAZMA, M. Grading in canine mammary carcinoma. **Journal of Biological Sciences**, v. 4, n.9, p. 333-338, 2009.

ROCHA, N. S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, n.75, p.14-6, 1998.

SANTANA, A. E. ; SIKI, M. C. ; GAMA, F. G. V. ; SOBREIRA, M. F. R. ; CAESIN, A. P. M. N. Citologia aspirativa com agulha fina aplicada ao estudo das neoplasias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap. 4, p. 76-91.

SIMON, D.; SCHOENROCK, D.; NOLTE, I.; BAUMGÄRTNER, W.; BARRON, R.; MISCHKE, R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n.4, p. 521-528, 2009.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. **The Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v.33, n.3, p. 573- 596, 2003.

SORENMO, K. U.; KRISTIANSEN, V. M.; COFONE, M. A.; SHOFER, F. S.; BREEN, A. M.; LANGELAND, M.; MONGIL, C. M.; GRONDAHL, A. M.; TEIGE, J.; GOLDSCHMIDT, M. H. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 3, p. 162–172, 2009.

SORENMO, K. U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V.; GOLDSCHMIDT, M. H.; Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 48, n.1, p. 85-97, 2011.

SLEECKX, N.; DE ROOSTER, H.; VELDHUIS KROEZE, E. J. B.; VAN GINNEKEN, C.; VAN BRANTEGEM, L. Canine mammary tumours, an overview. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 1112-1131, 2011.

STRATMANN, N.; FAILING, K.; RICHTER, A.; WEHREND, A. Mammary tumor recurrence in bitches after regional mastectomy. **Veterinary Surgery**, v. 37, n. 1, p. 82-86, 2008.

TEIXEIRA, L. V.; LOPES, S. T. A.; MARTINS, D. B.; FRANÇA, R. T.; FIGHERA, R. A. Punção aspirativa por agulha fina como método de coleta de material para a histopatologia no osteossarcoma canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p. 145-248, 2010.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias: idade ao diagnóstico, raça e cadeia mamária mais acometida em cadelas atendidas no HV da UNESP, Jaboticabal, SP. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais do VII Oncovet**, 2012. p. 20-22.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Associação do diagnóstico dos tumores de mama em cadelas com a mama acometida e a presença de metástase nos linfonodos inguinais. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais do VII Oncovet**, 2012. p. 20-22.

VASCELLARI, M.; BAIONI, E.; RU, G.; CARMINATO, A.; MUTINELLI, F. Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. **BioMed Center Veterinary Research**, v.5, p. 39, 2009.

ZAGORIANAKOU, P.; FIACCAVENTO, S.; ZAGORIANAKOU, N.; MAKRYDIMAS, G.; STEFANOU, D.; AGNANTIS, N. J. FNAC: its role, limitations and perspective in the preoperative diagnosis of breast cancer. **European Journal of Gynaecological Oncology**, v. 26, n. 2, p. 143-149, 2005.

ZUCCARI, D. C. P. C; SANTANA, A. S.; ROCHA, N. S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 38-41, 2001.

CAPÍTULO 2 – DIAGNÓSTICO COMPARATIVO ENTRE A HISTOPATOLOGIA E CITOLOGIA POR CAPILARIDADE COM AGULHA DE INSULINA NAS NEOPLASIAS MAMÁRIAS CANINAS.

RESUMO –

As neoplasias mamárias constituem uma das afecções oncológicas mais frequentes em cadelas. Na maioria das vezes, são pacientes idosas e com múltiplas nodulações. O diagnóstico das lesões consiste nas informações obtidas durante a resenha, a anamnese, nos achados dos exames físico, laboratoriais e de imagem (radiografias torácicas e ultrassonografia abdominal). Nesse âmbito, a citologia com agulha fina possui grande valia, pois permite a diferenciação entre processos inflamatórios, formações neoplásicas benignas e malignas. Entretanto, a aplicação nos tumores mamários, em medicina veterinária, possui inúmeras controvérsias. Por isso, a histopatologia é definitiva para a determinação do diagnóstico. O presente estudo teve como objetivo comparar os exames citológicos e histopatológicos em cadelas e, assim, avaliar a acurácia da citologia por capilaridade com agulha de insulina nas lesões neoplásicas de mama. Para tanto, estudou-se 69 lesões mamárias obtidas de 57 pacientes atendidas no setor de Oncologia Veterinária da UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário Dr. Daleck no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012. A punção por capilaridade foi realizada em quatro áreas do tumor com agulhas de insulina. Os esfregaços citológicos foram corados com May Grünwald Giemsa. Já os fragmentos tumorais colhidos para o exame histopatológico foram fixados imediatamente em formol tamponado a 10% durante 48 horas e, após o processamento, foram corados com hematoxilina - eosina e classificados segundo Cassali et al., 2011. Os resultados obtidos revelaram 83,9% de sensibilidade, 100% de especificidade, 100% de valor preditivo positivo (VPP), 9,1 % de valor preditivo negativo (VPN) e 84,1% de acurácia da técnica citológica em detectar neoplasias mamárias malignas. Isso mostra que a citologia por capilaridade com agulha de insulina é uma excelente ferramenta para a detecção de neoplasias, não obstante, não caracteriza o diagnóstico definitivo, pois, no referido estudo, não foi capaz de prever e graduar os subtipos histológicos.

Palavras-chave: cadelas, citologia, histologia, neoplasia mamária.

COMPARISON OF DIAGNOSTIC HISTOPATHOLOGY AND CYTOLOGY NEEDLE CAPILLARY INSULIN IN CANINE MAMMARY NEOPLASMS

SUMMARY -

The mammary neoplasms are one of the most frequent oncological diseases in female dogs. Most often, patients are elderly with multiple nodules. The diagnosis of lesions is the information obtained during the review, the history, the findings of physical examination, laboratory and imaging (chest radiographs and abdominal ultrasound). In this context, fine needle cytology has great value because it allows differentiation between inflammatory processes, benign and malignant neoplastic formations. However, the application in mammary tumors, in veterinary medicine, has numerous controversies. Therefore, histopathology is definitive for determining the diagnosis. The present study aimed to compare cytological and histological examinations in mammary tumors in female dogs using capillary cytology with needle insulin. Therefore, we studied 69 breast lesions obtained from 57 patients treated at the oncology Veterinary UNESP, Jaboticabal, and Dr. Daleck Veterinary Institute from May 2011 to February 2012. The capillary puncture was performed in four areas of the tumor with insulin needles. The cytology smears were stained with May Grünwald Giemsa. Already tumor fragments harvested for histologic examination were fixed immediately in 10% buffered formalin for 48 hours and, after processing, were stained with hematoxylin - eosin and classified according Cassali et al., 2011. The results showed 83.9% sensitivity, 100% specificity, 100% positive predictive value (PPV), 9.1% negative predictive value (NPV) of 84.1% and accuracy of cytological technique to detect cancers malignant breast. This shows that capillary cytology with needle insulin is an excellent tool for detecting tumors, however, does not define a conclusive diagnosis because, in this study, was not able to predict and grade histological subtypes.

Keywords: cytology, female dogs, histology, mammary tumours.

2.1 Introdução

Os estudos sobre neoplasias mamárias em cadelas, em virtude da alta incidência e da heterogeneidade histológica a fenotípica dos tumores, são imprescindíveis e abundantes na literatura (KLOPFLEISCH et al., 2011). Mas, mesmo assim, dificuldades e controvérsias sobre prevenção, diagnóstico e tratamento da doença existem (BEAUVAIS; CARDWELL; BRODBELT, 2012). No Brasil, numa tentativa de padronizar a conduta dos médicos veterinários frente aos tumores de mama, elaborou-se um consenso para auxiliar clínicos e cirurgiões a manejarem a doença da forma mais adequada e, assim, melhorar e maximizar a qualidade e o tempo de sobrevivência das pacientes (CASSALI et al., 2011).

A etiologia das neoplasias mamárias é multifatorial (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007). Idade, raça, dieta, obesidade, influência hormonal e estímulo da ciclooxigenase-2 estão diretamente envolvidos no processo carcinogênico (SLEECKX et al., 2011). As cadelas idosas não castradas, ou ovario-histerectomizadas tardiamente são as mais acometidas e pesquisas mostram que a malignidade do tumor aumenta com o avanço da idade (VARALLO et al., 2012, SORENMO et al., 2011). A maior incidência ocorre nos Poodle, Cocker Spaniel, Pastor Alemão e nos animais sem raça definida (DE NARDI et al., 2009).

Os nódulos podem ser únicos ou múltiplos, sésseis, móveis, inflamados, ulcerados e com ampla variação de tamanho (DE NARDI et al., 2009). Alterações sistêmicas como letargia, apatia, perda de peso, dispnéia, tosse e linfadenomegalia podem indicar presença de metástases (SORENMO, 2003). Nos carcinomas, usualmente, a metástase ocorre pelos vasos linfáticos e, nos sarcomas, pelos vasos sanguíneos (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007).

O diagnóstico precoce das neoplasias mamárias pode alterar o curso da doença. Nesse âmbito, a citologia com agulha fina (CAF) é uma ferramenta diagnóstica que viabiliza a identificação de processos neoplásicos e não neoplásicos de forma rápida e segura (GHISLENI et al., 2006; SANTANA et al., 2009). Todavia, a sua aplicação em tumores de mamas nas cadelas é questionável devido, principalmente, à variação histológica existente entre os neoplasmas e, até mesmo,

a coexistência de diferentes subtipos histológicos em um mesmo nódulo (POLTON, 2009).

A análise citopatológica baseia-se na avaliação da morfologia celular da lesão. A CAF é feita utilizando-se seringa e agulha com ou sem aspiração, esta também é denominada como técnica da capilaridade ou de perfuração e gera amostras de qualidade igual ou superior à aspirativa, principalmente em neoplasias vascularizadas (MEINKOTH et al., 2009).

Além disso, é um procedimento ambulatorial bem tolerado pelas pacientes, que não requer anestesia, com baixo custo operacional e isento de complicações. É comum observar discreta hemorragia local no momento da punção, a qual é facilmente controlada com pressão digital, e a formação de pequenos hematomas (HATAKA, 2004). É importante salientar que a morbidade induzida pelo exame é rara (ROCHA, 1998).

Para a obtenção de um diagnóstico confiável, a CAF requer que a colheita das amostras seja feita por um profissional habilitado, sobretudo durante a confecção do esfregaço na lâmina de microscopia, bem como um patologista ou patologista clínico experiente e criterioso para a identificação e quantificação das alterações celulares para, assim, caracterizar o processo envolvido (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001).

Em mulheres, é amplamente utilizada em associação com a mamografia e radiografias torácicas (SMITH et al, 2012; YU; WEI; LIU, 2012). Determina um diagnóstico preciso e seguro das lesões mamárias, principalmente em nódulos com mensurações pequenas ou não palpáveis (MASSOD, 2005; NASSAR, 2010). Entretanto, em veterinária, há poucos relatos acerca da eficiência da CAF na detecção de tumores de mama em cadelas (CASSALI et al., 2007; SONTAS et al., 2012;).

O presente estudo teve como objetivo comparar os resultados dos exames citológicos e histopatológicos de cadelas portadoras de neoplasias mamárias e, assim, avaliar a acurácia da citologia por capilaridade com agulha de insulina na detecção de neoplasias mamárias malignas, bem como a sensibilidade e a especificidade do método para sua aplicação em medicina veterinária.

2.2 Material e Método

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FCAV-Unesp (protocolo nº 024833/12).

2.2.1 Grupo experimental

Foram utilizadas 57 pacientes caninas fêmeas, adultas, de diferentes raças, e idades, acometidas por neoplasia mamária e atendidas no setor de Oncologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel” da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, SP, bem como ao Instituto Veterinário Dr. Daleck, Ribeirão Preto, SP. A partir destas, obteve-se 69 lesões mamárias. O diagnóstico do câncer de mama foi obtido através dos achados clínicos, citologia não aspirativa, ou por capilaridade e, sobretudo através da análise histopatológica da lesão, segundo a classificação de Cassali et al., (2011).

2.2.2 Avaliação do grupo experimental

2.2.2.1 Pacientes

As pacientes foram submetidas a exame físico e de imagem para, dessa forma, possibilitar o estadiamento da enfermidade. Em todas se realizou o hemograma completo, as provas bioquímicas séricas (creatinina e ALT), bem como as radiografias torácicas em três projeções no momento da avaliação clínica.

Os estágios da doença foram definidos através do sistema TNM (tumor, linfonodo e metástase), modificado por Lana et al., 2007, conforme preconizado pela Organização Mundial de Saúde (OMS).

2.2.2.2 Questionário

Um questionário foi elaborado para avaliar os fatores de risco e caracterizar o perfil epidemiológico das cadelas com neoplasias mamárias atendidas nos Hospital Veterinário Governador Laudo Natel e no Instituto Veterinário Dr. Daleck. (ANEXO 1).

2.2.2.3 Exame Citológico

As amostras celulares das neoplasias mamárias foram obtidas através da CAF. A formação tumoral foi estabilizada em uma das mãos e, com a outra, introduziu-se uma agulha de insulina (0,45 X 13 mm). As amostras celulares foram obtidas pela técnica não aspirativa ou por capilaridade, como movimentos de “vai-vem” e em formato de leque, em quatro ou cinco áreas da mesma formação tumoral.

Com o auxílio de uma seringa de 10 mL, a amostra obtida foi depositada na extremidade de uma lâmina de microscopia. O “squash” foi feito com a ajuda de outra lâmina, por meio da compressão leve e do deslocamento das células para a extremidade oposta. A secagem do material ocorreu em temperatura ambiente e, após cinco minutos, a preparação foi corada com May Grunwald Giemsa (MMG).

As amostras foram interpretadas por um patologista clínico do Laboratório HEMATOVET, Jaboticabal, SP. Critérios citomorfológicos gerais e nucleares foram estabelecidos para a classificação de lesões neoplásicas malignas citados por Santana et al. (2009). Os gerais fundamentaram-se na presença de anisocitose, hipercelularidade, pleomorfismo e grau de coesão intercelular. Já os nucleares basearam-se no aumento da relação núcleo citoplasma, anisocariose, multinucleação, aumento das figuras de mitose, mitoses anormais, deformações nucleares, padrão de cromatina grosseira, macronúcléolo, angulação e variação no tamanho do nucléolo. Acima de três critérios nucleares diagnosticava-se neoplasia maligna.

2.2.2.4 Exame histopatológico

As cadelas foram submetidas à exérese da neoplasia empregando a técnica de mastectomia unilateral. As pacientes que apresentavam comprometimento de ambas as cadeias mamárias foram submetidas a dois procedimentos cirúrgicos em diferentes tempos. Assim, para padronizar, o lado com maior número de mamas acometidas, bem como com tumores maiores e/ou ulcerados foram estabelecidos como critérios para selecionar a cadeia a ser removida no primeiro ato cirúrgico. Após a remoção, evitou-se a colheita dos fragmentos em regiões com presença de secreções e necrose do tecido glandular. Uma vez realizada a colheita, os fragmentos foram imediatamente fixados em formol tamponado a 10% por 24 a 48 horas. Após, houve a desidratação, o clareamento e a deposição dos tecidos neoplásicos em parafina para a confecção dos blocos. Os cortes histológicos foram corados com hematoxilina e eosina. A interpretação das amostras foi feita no Laboratório de Patologia do Hospital Veterinário “Governador Laudo Natel”, FCAV-UNESP, Câmpus de Jaboticabal, segundo a classificação de Cassali et al. (2011)

2.2.2.5 Análise estatística

A análise estatística foi realizada através da comparação entre os diagnósticos citológico e histopatológico das lesões mamárias em cadelas. O valor da citologia como um teste diagnóstico para a determinação de neoplasias mamárias foi realizado pela determinação da sensibilidade (S: probabilidade do teste dar positivo na presença de doença), da especificidade (E: probabilidade do teste dar negativo na ausência de doença), bem como dos valores preditivos positivo (VPP: proporção de verdadeiros positivos entre todos os indivíduos com teste positivo) e negativo (VPN: expressa a probabilidade de um paciente com teste negativo não ter a doença). A Tabela 1 mostra a relação entre os diagnósticos citológicos e histopatológicos dos tumores mamários e, a partir desta, a elaboração

das fórmulas para o cálculo da S, E, VPP, VPN. Considerou-se o diagnóstico histopatológico como o padrão ouro.

Tabela 1: Relação entre os diagnósticos citológicos e histopatológicos de tumores mamários de cadelas atendidas no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Citologia	Histopatologia	
	Positiva	Negativa
Positiva	a	b
Negativa	c	d
Sensibilidade (= $a/(a+c)$)		
Especificidade= $d/(b+d)$		
Valor preditivo positivo= $a/(a+b)$		
Valor preditivo negativo= $d/(c+d)$		
Acurácia= $(a+d)/(a+b+c+d)$		

Os diagnósticos provenientes dos exames citológicos podem concordar ou não com os exames histopatológicos. Assim, é possível obter resultados verdadeiros positivos e verdadeiros negativos (quando houve concordância entre os testes), bem como resultados falsos positivos e falsos negativos (quando não houve concordância entre os testes).

2.3 Resultados

Evidenciou-se que 24 animais do grupo experimental não possuía raça definida, seguida pelos pacientes das raças Poodles, Daschund, Cocker Spaniel, Boxer, Pinscher, Rottweiler, Bealge, Labrador, Pastor Alemão e Pastor Belga conforme identificados na Tabela 2.

Tabela 2: Incidência racial observada em cadelas com neoplasia mamária atendidas no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Raça	Número de casos	Porcentagem
SRD	24	42 %
Poodle	13	22.9%
Daschund	5	9%
Cocker Spaniel	4	7%
Boxer	3	5,3%
Pinscher	2	3,5%
Rottweiler	2	3,5%
Beagle	1	1,7%
Labrador	1	1,7%
Pastor Alemão	1	1,7%
Pastor Belga	1	1,7%
Total	57	100%

A faixa etária compreendeu idades entre quatro a dezoito anos (média 11,07 anos). As pacientes idosas (acima de 7 anos) foram as mais acometidas, totalizando 54 casos. A Figura 1 mostra a relação dos casos de neoplasia mamária com a idade do diagnóstico.

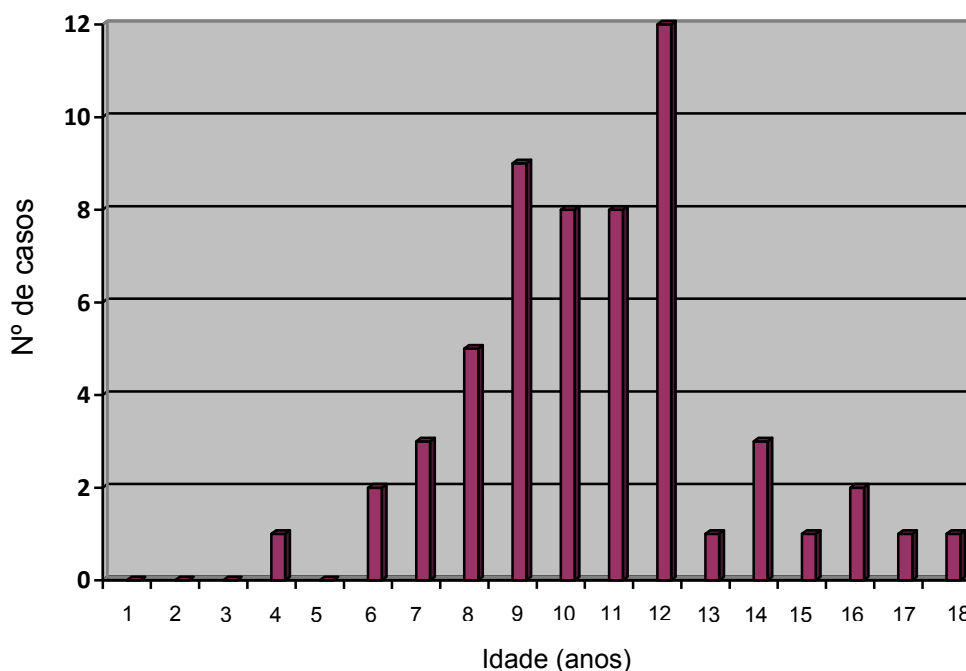


Figura 1: Relação do número de casos de neoplasia mamária com a idade diagnosticada no setor de Oncologia Veterinária da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Quanto ao estado reprodutivo, 16 (28%) pacientes eram castradas e 41 (72%) não eram esterilizadas até o momento do diagnóstico físico e citológico das neoplasias mamárias. Destas, seis (10,5%) foram submetidas à aplicação de progestágenos. A administração de anticoncepcionais não foi realizada em 46 (80,7%) cadelas e, em cinco (8,8%), os proprietários não souberam informar sobre o uso dessas medicações. Além disso, a falsa gravidez com galactorrêia foi observada em 27 (47,4%) cadelas. Essa alteração não foi apresentada por 25 (43,8%) pacientes e, também em cinco (8,8%), os proprietários não souberam referir a ocorrência.

O tempo de evolução tumoral, compreendido desde o surgimento da neoplasia até o momento do diagnóstico, abrangeu um intervalo entre 15 a 2555 dias (média 265,72 dias).

A cadeia mamária direita apresentou maior ocorrência de lesões neoplásicas, com 40 (58%) tumores, assim como as mamas abdominais caudais (25 tumores - (36,2%) e inguinais (27- 39,1%), A tabela 3 documenta a localização dos neoplasmas em relação à cadeia e à glândula envolvida. Foi evidenciado, ainda, o acometimento de 1 (1,5%) mama torácica cranial, 8 (11,6%) torácicas caudais e 8 (11,6%) abdominais craniais (Figura 2).

Tabela 3: Localização das neoplasias mamárias quanto à cadeia e à glândula envolvida, em cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Cadeia	Glândula Mamária (M)				
	M1	M2	M3	M4	M5
Direita	0	5	6	17	12
Esquerda	1	3	2	8	15

M1: mama torácica cranial; M2: mama torácica caudal; M3: mama abdominal cranial; M4: mama abdominal caudal; M5: mama inguinal.

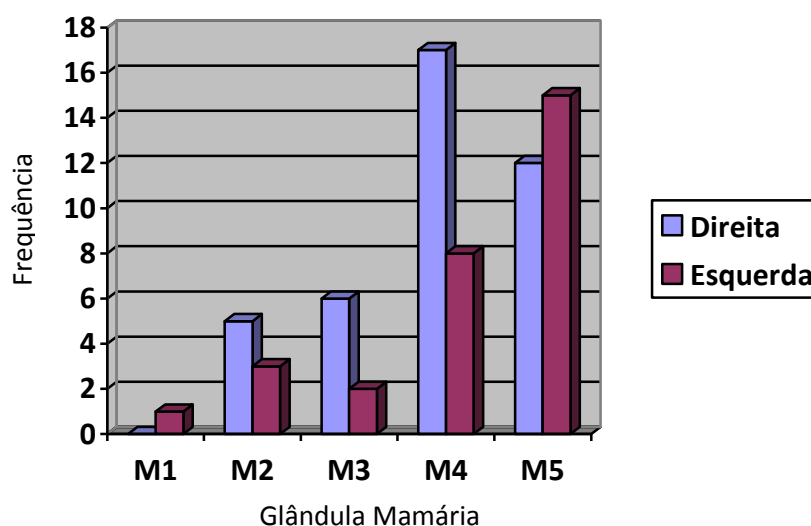


Figura 2: Relação entre as mamas acometidas e o lado da cadeia mamária em cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

A realização do exame histopatológico proporcionou o resultado de 62 (90%) neoplasias malignas, 6 (9%) benignas e 1 (1%) hiperplasia da glândula mamária. A incidência de cada subtipo histológico está na Tabela 4.

Tabela 4: Incidência dos tipos histológicos das lesões mamárias em cadelas diagnosticadas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Subtipo Histológico	Nº de casos	Porcentagem
Lesões não neoplásicas		
Hiperplasia epitelial ductal	1	1,6%
Tumores Benignos		
Adenoma	1	1,6%
Tumor misto benigno	4	6,0%
Condroma	1	1,6%
Tumores Malignos		
Carcinoma in situ	3	4,4%
Carcinoma ductal in situ	1	1,6%
Carcinoma em tumor misto	14	20,3%
Carcinoma complexo	8	11,6%
Carcinoma papilar	5	7,3%
Carcinoma tubular	14	20,3%
Carcinoma sólido	6	8,7%
<i>Especiais</i>		
Carcinoma micropapilar	1	1,6%
Carcinoma mucinoso	3	4,4%
Carcinoma rico em lipídios	1	1,6%
Sarcomas		
Sarcoma indiferenciado	2	3,0%
Carcinossarcoma	3	4,4%
Total	69	100%

O diagnóstico da CAF coincidiu com a histopatologia em 53 casos. Os resultados verdadeiro-positivos e verdadeiro-negativos, bem como os falso-positivos e falso-negativos foram registrados na Tabela 5. Seis amostras (8,7%) citológicas foram inadequadas e excluídas da análise estatística. Os resultados falso-negativos ocorreram em 10 casos.

Tabela 5: Relação entre os diagnósticos citológicos e histopatológicos para a determinação de neoplasias mamárias em cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Citologia	Histopatologia		
	Positiva	Negativa	Total
Positiva	52	0	52
Negativa	10	1	11
Total	62	1	63

Os diagnósticos da CAF estão listados na Tabela 6 e a frequência dos resultados na Figura 3. A Figura 4 caracteriza as características citomorfológicas de um carcinoma mamário de cadela. A Figura 5 mostra o padrão de esfoliação das células neoplásicas epiteliais de um carcinoma mamário de cadela.

Nesse contexto, detectou-se 83,9% de sensibilidade (S), 100% de especificidade (E), 100% de valor preditivo positivo (VPP), 9,1 % de valor preditivo negativo (VPN) e 84,1% de acurácia da técnica citológica em detectar processos neoplásicos malignos nas mamas de cadelas. A análise estatística pelo teste exato de Fisher não mostrou diferença estatística entre a citologia e a histopatologia ($p=0,841$), ou seja há concordância entre os diagnósticos citológico e histopatológico.

Tabela 6: Diagnósticos dos exames citológicos das lesões mamárias de cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

Diagnóstico	Nº de casos	Porcentagem
Carcinoma	30	43,5%
Neoplasia*	22	31,9%
Inflamação	8	11,6%
Cisto	3	4,3%
Inconclusiva	6	8,7%
Total	69	100%

(*) Amostras com critérios de malignidade, os quais indicavam processo neoplásico em curso, mas que não apresentavam as características típicas dos carcinomas ou sarcomas mamários.

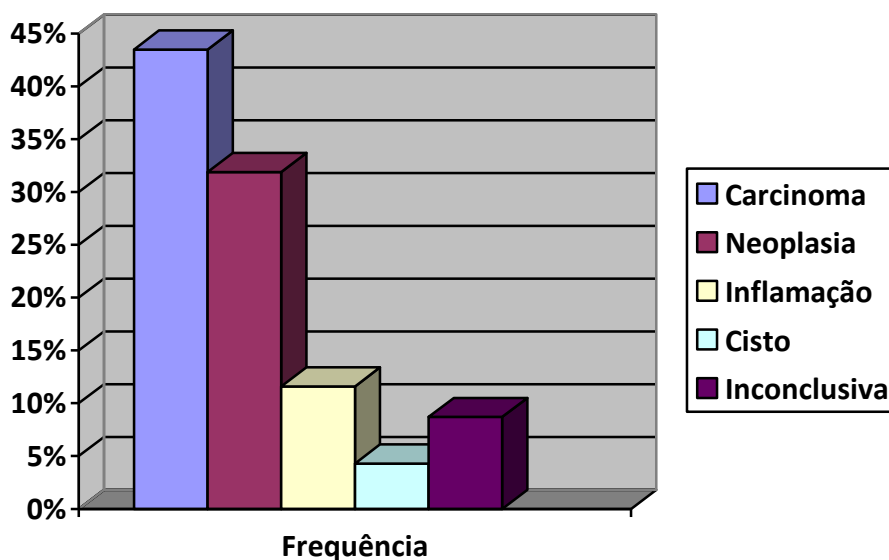


Figura 3: Frequência do diagnóstico citológico das lesões mamárias de cadelas atendidas na FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal, e no Instituto Veterinário “Dr.Daleck”, no período de maio de 2011 a fevereiro de 2012.

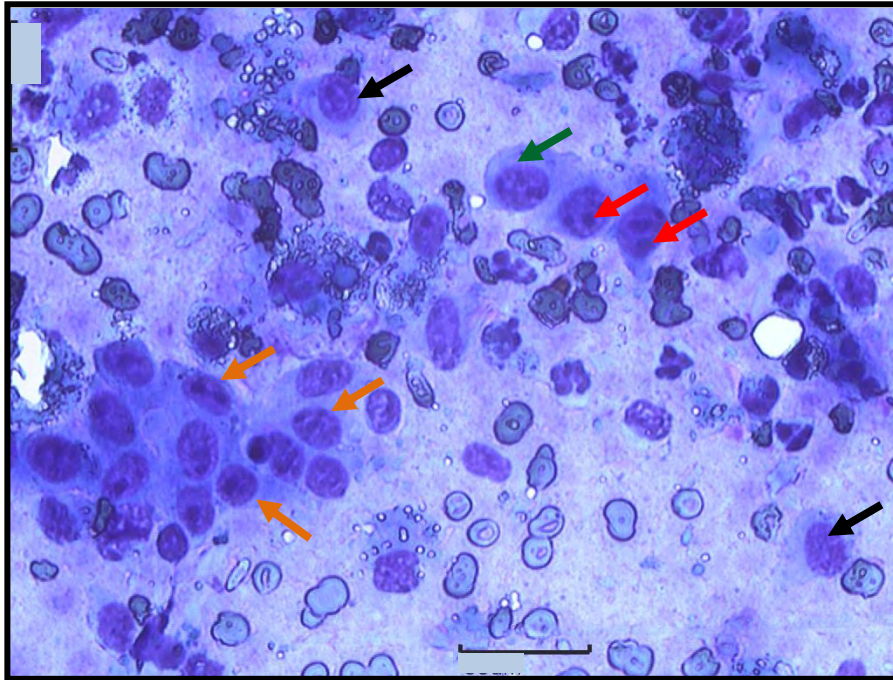


Figura 4: Fotomicrografia de células epiteliais de um carcinoma mamário canino (objetiva 40x). Observa-se relação núcleo (seta laranja)-citoplasma (seta verde) alta, macro e multi nucléolos (seta vermelha), anisocariose (seta laranja), cromatina densa (seta preta) e baixa coesão entre as células neoplásicas.

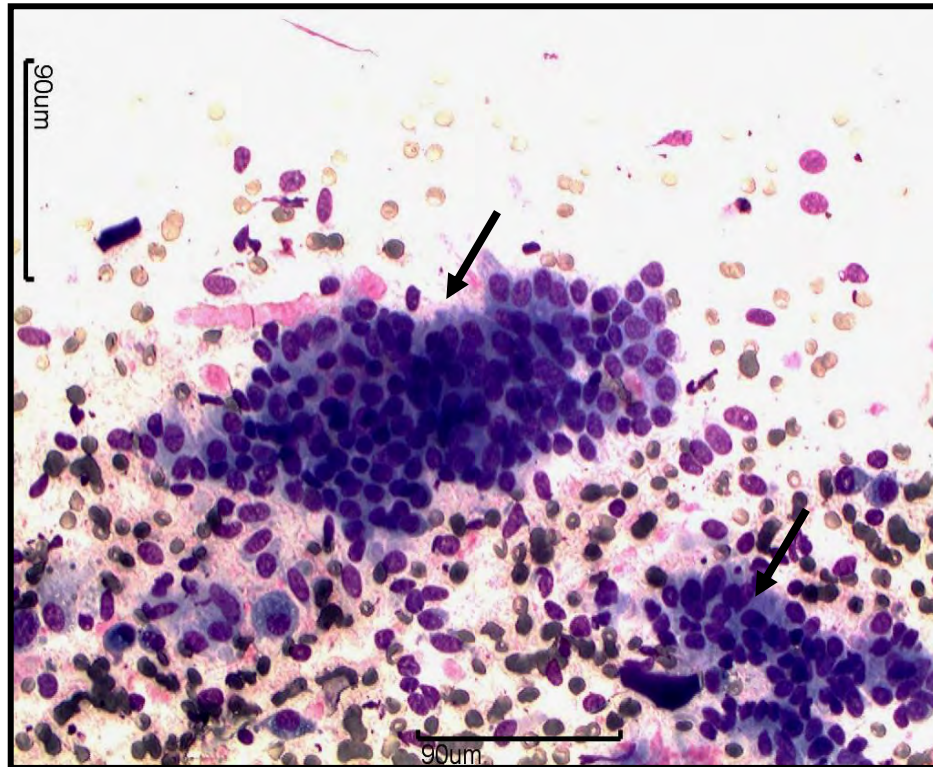


Figura 5: Fotomicrografia de um carcinoma mamário canino (objetiva 20x). Nota-se a presença de clusters (blocos) de células epiteliais neoplásicas coesas (seta preta).

2.4 Discussão

A neoplasia mamária é a afecção oncológica que mais acomete as cadelas (ALL-DISSI et al., 2010). No Brasil, a taxa de incidência varia entre 46,2% a 51,3% (RIBAS et al. 2012; DE NARDI et al., 2002). E, provavelmente, em virtude do tempo de evolução tumoral prolongado observado nessas pacientes, as formas malignas somam 70% a 90% (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al. 2012). Os achados do presente estudo corroboram as estatísticas nacionais. Os tumores malignos representaram 90% das neoplasias diagnosticadas. Além disso, em relação à progressão tumoral, a média observada foi 265,72 dias, o que compreendeu um intervalo entre 15 a 2555 dias. Sorenmo et al. (2009) relataram que as neoplasias mamárias malignas podem surgir a partir de lesões neoplásicas benignas pré-existentes. Assim, esse fato pode explicar a alta incidência das neoplasias mamárias malignas nas cadelas.

Pacientes acima de sete anos (91,5%), não castradas (72%) e sem raça definida (42%) caracterizaram o perfil do grupo experimental no estudo. Os levantamentos epidemiológicos brasileiros constata tais achados ao caracterizarem que as fêmeas geriátricas, com raça indeterminada e não castradas, ou castradas tardiamente, são as mais suscetíveis para o desenvolvimento da doença (VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012; DE NARDI et al., 2009 OLIVEIRA FILHO et al., 2010).

Constatou-se ainda que as mamas abdominais caudais e as inguinais foram as mais acometidas respectivamente com 27 (39,1%) e 25 (36,2%) neoplasias. Este resultado pode ser explicado pelo fato destas glândulas apresentarem maior quantidade de parênquima o que favorece o surgimento de tumores (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007).

A citologia com agulha fina (CAF) é um método diagnóstico considerado barato, rápido, pouco invasivo, pouco traumático e bem tolerado pelas pacientes (NASSAR, 2010). Além disso, a morbidez é muito baixa, cerca de 0,003-0,009% (ROCHA, 1998). Também é uma alternativa eficaz para a triagem de pacientes, para

a avaliação da recorrência de tumores e para a detecção de metástases em linfonodos (MASSOD, 2005).

Na literatura veterinária há poucos relatos que avaliam a acurácia da CAAF no diagnóstico de neoplasias de mamas em cadelas (CASSALI et al. 2007; SONTAS et al., 2012). Na medicina, várias pesquisas atestaram o procedimento como um exame preciso e confiável, notadamente em neoformações mamárias pequenas (SMITH et al, 2012). Todavia, no que se concerne à técnica por capilaridade com agulha de insulina não existe relato na literatura médica.

No presente estudo, foram detectados 83,9% de sensibilidade, 100% de especificidade e 84,1% de acurácia da técnica citológica por capilaridade com agulha de insulina em acertar o diagnóstico. Em 78% (55/69) dos tumores estudados houve concordância nos diagnósticos citológicos e histopatológicos. Trabalhos nessa área, com a técnica aspirativa, mostram que a citologia é uma ferramenta precisa e segura para a identificação das neoplasias mamárias em cadelas (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001; HATAKA, 2004; CASSALI et al., 2007, SIMON et al., 2009, SONTAS et al., 2012). Em relação à interpretação da histogênese da neoplasia mamária, não se determinou o subtipo e a graduação do tumor pelo exame citológico, pois a variedade histológica, até mesmo em partes diferentes do mesmo nódulo, inviabiliza tal diagnóstico, uma vez que se avalia a morfologia celular e não a arquitetura tecidual.

Os resultados falso-negativos, neste experimento foram diagnosticados como processos inflamatórios e císticos. As dificuldades de interpretação dos exames citológicos nas neoplasias mamárias, em mulheres, frequentemente, são maiores que em outros tecidos, pois a mama é um órgão responsivo a hormônios, as lesões benignas de baixo grau apresentam atipias celulares tênues e sutis, além da possibilidade da variação histológica no mesmo tumor (ORELL; MILIAUSKAS, 2005). Tais dificuldades de interpretação também podem ser atribuídas para as cadelas, visto que é possível determinar a influência hormonal em eventos fisiológicos (puberdade, gestação e lactação) e patológicos (falsa gravidez, tumores); neoplasias benignas com baixos critérios de atipias celular, a ampla variedade de subtipos histológicos e um mesmo nódulo com áreas histológicas diferentes (POLTON, 2009; CASSALI et al., 2011; SORENMO et al., 2011).

A baixa taxa de amostras inconclusivas aqui obtidas (8,7%) difere dos trabalhos citados na literatura veterinária (14% a 26%). A escolha apropriada da agulha usada para o procedimento interfere na qualidade dos espécimes (SANTANA et al., 2009). Observou-se, nesse ensaio, que as agulhas muito calibrosas (25X7, 25X8), possibilitavam maior quantidade de material, mas, também aumentavam a contaminação com sangue. Além disso, no momento da deposição da amostra colhida para a lâmina de microscopia, a gota ficava grande e dificultava a confecção do esfregaço, o qual ficava espesso. Outra complicação enfrentada foi, muitas vezes, a falta de controle para a transferência do material da agulha para a lâmina. Pequenos coágulos, tumores com alta capacidade esfoliativa obstruíam parcialmente o lúmen dessas agulhas e, assim, a aplicação de uma pressão maior era necessária para a eliminação do conteúdo, o qual, então, era despejado de forma abrupta. Em algumas situações, ocorria a perda material, ou os esfregaços ficavam de péssima qualidade. Dessa forma, a agulha de insulina (13X4,5) mostrou-se a mais apropriada para o procedimento da CAF nesse ensaio. Além de reduzir a diluição das amostras com sangue, favoreceu a expulsão destas com mais delicadeza, preservando, assim, a integridade celular. Ainda, ao proporcionar esse controle, foi possível gerar gotas de tamanhos apropriados para a confecção do esfregaço considerado ideal para a leitura. Além disso, associado com o uso adequado do calibre da agulha, a técnica não aspirativa também contribuiu para o baixo índice de diagnósticos inconclusivos, visto que ao se eliminar a pressão negativa exercida para aspirar as células do tecido, houve redução do risco da ruptura de vasos sanguíneos, o qual é comum acontecer se a força da pressão for grande e o tempo de aplicação prolongado (MEINKOTH et al., 2009).

Ademais, não foram observadas complicações relacionadas à CAF em nenhuma paciente. Em alguns casos houve discreta hemorragia no local da punção, facilmente contida com pressão digital, e formação de hematomas. Rocha et al. (1998) descreveu as mesmas situações e, salientou, ainda, que o procedimento provoca muito baixa ou nenhuma morbidez (0,003-0,009%). Dessa forma, trata-se de um exame seguro para a paciente e preciso para o diagnóstico de neoplasias malignas da glândula mamária de cadelas.

Isso é comprovado pelos valores de S, E, VPP e VPN obtidos no referido estudo. A citologia por capilaridade com agulha de insulina foi uma ferramenta diagnóstica precisa para o diagnóstico de processos neoplásicos malignos provenientes das mamas de cadelas. Todavia, não deve ser usada como método único, visto que, no presente ensaio, o procedimento não foi hábil em classificar as lesões conforme os subtipos histológicos classificados por Cassali et al. (2011).

2.5 Conclusão

Conclui-se que a citologia por capilaridade com agulha de insulina (26 G) é um método preciso, rápido, seguro e barato para o diagnóstico dos tumores mamários malignos em cadelas. Ainda, mostrou ser uma técnica superior à padrão, ou seja, a aspirativa com agulhas entre calibres de 22 a 25 G, fato comprovado pela menor frequência de laudos inconclusivos observados. Sobretudo, constatou-se que tal procedimento não apresenta limitações para a aplicação no universo estudado, uma vez que foi possível a obtenção de amostras citológicas em todas as pacientes e em todos os tumores. Portanto, é uma ferramenta diagnóstica precisa e segura. Mas, o diagnóstico histopatológico é fundamental para a caracterização e graduação da neoplasia de mama.

2.6 Referências bibliográficas

AL-DISSI, A. N.; HAINES, D. M.; SINGH, B.; KIDNEY, B. A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 in canine simple mammary gland adenocarcinomas. **The Canadian Veterinary Journal**, v.5, n.10, 2010.

CASSALI G. D.; GOBBI, H.; MALM, C.; SCHMITT, F. C. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. **Cytopathology**, v. 18, p. 191–196, 2007.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; DE NARDI, A. B.; FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; ESTRELA-LIMA, A.; ALESSI, A. C.; DALECK, C. R.; SALGADO, B. S.; FERNANDES, C. G.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; AULER, P. A.; MAGALHÃES, G. M.; SILVA, J. O.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, L. O.; MALM, C.; ZUCCARI, D. A. P. C.; TANAKA, N. M.; RIBEIRO, L. R.; CAMPOS, L. C.; SOUZA, C. M.; LEITE, J. S.; SOARES, L. M. C.; CAVALCANTO, M. F.; FONTELES, Z. G. C.; SCHUCH, I. D.; PANIAGO, J.; OLIVEIRA, T. S.; TERRA, E. M.; CASTANHEIRA, T. L. L.; FELIZ, A. O. C.; CARVALHO, G. D.; GUIM, T. N.; GUIM, T. N.; GARRIDO, E.; FERNANDES, S. .C.; MAIA, F. C. L ; DAGLI, M. L. Z., ROCHA, N. S.; FUKUMASU, H.; GRANDI, F.; MACHADO, J. P.; SILVA, S. M. M.; BEZERRIL, J. E.; FREHSE, M. S.; ALMEIDA, E. C. P.; CAMPOS, C. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Mammary Tumors. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v.4, n.2, p. 153-180, 2011.

DE NARDI, A.B; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.; RODIGHERI, S.M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C.H. prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da universidade federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

FELICIANO, M. A. R.; SILVA, A. S.; PEIXOTO, R. V. R.; GALERA, P. D.; VICENTE, W. R. R. Estudo clínico, histopatológico e imunoistoquímico de neoplasias mamárias em cadelas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p. 1094-1100, 2012.

HATAKA, A. **Citologia aspirativa com agulha fina e histopatologia: valor e significado para o diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cadelas.**

2004. 96f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2004.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: Withrow, S.J.; MacEwen, E.G.,(Ed). **Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Missouri : WB Saunders, 2007. p. 619–633.

MASOOD, S. Core needle biopsy versus fine needle aspiration biopsy: are there similar sampling and diagnostic issues? **Clinics in Laboratory Medicine**, v.25, n. 4, p. 679–688, 2005.

MEINKOTH, J. M.; COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MORTON, R. J. Coleta e preparo de amostras. In: COWELL, R. L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J. M.; DENICOLA, D. B. (Eds). **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. cap 1, p.1-18.

OLIVEIRA FILHO, J. C.; KOMMERS, G. D.; MASUDA, E. K.; MARQUES, M. F. P. P.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

ORELL, S. R.; MILIAUSKAS, J. Fine needle biopsy cytology of breast lesions: a review of interpretative difficulties. **Advances in Anatomyc Pathology**, v. 12, n.5, p. 233-245, 2005.

POLTON, G. Mammary tumours in dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 50-56, 2009.

ROCHA, N. S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, n.75, p.14-6, 1998.

SIMON, D.; SCHOENROCK, D.; NOLTE, I.; BAUMGÄ RTNER, W.; BARRON, R.; MISCHKE, R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and

association with postoperative outcome. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n.4, p. 521-528, 2009.

SMITH, M. J.; HEFFRON, C. C.; ROTHWELL, J. R.; LOFTUS, B. M.; JEFFERS, M.; GERAGHTY, J. G. Fine needle aspiration cytology in symptomatic breast lesions: still an important diagnostic modality? **The Breast Journal**, v. 18, n.2, p103-110, 2012.

SORENMO, K. U.; KRISTIANSEN, V. M.; COFONE, M. A.; SHOFER, F. S.; BREEN, A. M.; LANGELAND, M.; MONGIL, C. M.; GRONDAHL, A. M.; TEIGE, J.; GOLDSCHMIDT, M. H. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 3, p. 162–172, 2009.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias: idade ao diagnóstico, raça e cadeia mamária mais acometida em cadelas atendidas no HV da UNESP, Jaboticabal, SP. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais** do VII Oncovet, 2012. p. 20-22.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Associação do diagnóstico dos tumores de mama em cadelas com a mama acometida e a presença de metástase nos linfonodos inguinais. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais** do VII Oncovet , 2012. p. 20-22.

ZUCCARI, D. C. P. C; SANTANA, A. S.; ROCHA, N. S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 38-41, 2001.

Capítulo 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

3.1 Discussão

Os tumores mamários representam 52% de todas as neoplasias que acometem as cadelas (BRODY; GOLDSCHMIDT; ROSZEL, 1985; AL-DISSI et al, 2010). Estudos brasileiros constataam que a incidência da doença varia entre 46,2% a 51, 3% (RIBAS et al. 2012; DE NARDI et al., 2002), sendo que as formas malignas predominantes são os tumores epiteliais representados pelos carcinomas com seus diferentes subtipos histológicos e graduações (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012; TORÍBIO et al., 2012). O presente estudo constatou e corroborou tais achados, pois as lesões com critérios de malignidade abrangeram 90% dos diagnósticos. Os carcinomas foram os mais diagnosticados, totalizando 57 tumores (82,6%). Dentre estes, o carcinoma em tumor misto e o tubular foram os mais frequentes, os quais apareceram 14 vezes cada um (20,3%). O longo tempo de evolução tumoral observado, o qual compreendeu o período entre o surgimento do tumor até o momento do diagnóstico, pode ter influenciado nas estatísticas nacionais, pois as neoplasias malignas podem surgir a partir de lesões neoplásicas benignas pré-existentes, o que, portanto, elucida os relatos dos proprietários de crescimento acelerado recente após um tempo de evolução considerável (SORENMO et al., 2009). A média observada foi 265,72 dias de progressão, o que compreendeu um intervalo entre 15 a 2555 dias.

Nesse contexto, apesar da enfermidade poder ocorrer em quaisquer raças, observa-se que os animais de pequeno porte correspondem à maioria das pacientes, o que sugere a participação do componente genético na carcinogênese dos tumores de mama (SLEECKX et al., 2011). Os dados do presente estudo corroboram com os achados do trabalho desenvolvido por De Nardi et al. (2009), os quais verificaram que as principais raças acometidas pela patologia são os Poodles, Pastores Alemães, Cocker Spaniels e os sem raça definida (SRD).

Outro aspecto importante e que caracteriza o perfil epidemiológico das cadelas com neoplasias mamárias é a idade, a qual é considerada um dos fatores de riscos mais importantes (SORENMO et al., 2011). As fêmeas geriátricas são as

que apresentam maior ocorrência (BETZ et al., 2012). De Nardi et al. (2002) encontraram maior prevalência das neoplasias mamárias em cadelas com nove e dez anos de idade. VARALLO et al. (2012) na faixa etária entre nove a 12 anos. Toríbio et al. (2012) também observaram maior frequência em pacientes entre nove a 11 anos. O que é condizente com os resultados obtidos no presente trabalho, o qual constatou que as pacientes com nove e 12 anos foram as mais propensas a desenvolver a enfermidade.

Ainda sob a ótica dos aspectos etiológicos, a influência hormonal é considerada a principal causa para o desenvolvimento das neoplasias mamárias na espécie canina (SORENMO et al., 2011). Os hormônios estrógeno e progesterona exercem influência através de receptores específicos, os quais estão presentes nos tecidos mamários normais e neoplásicos (CHANG et al., 2009). Quanto maior a graduação de malignidade do subtipo histológico da neoplasia, menor é a quantidade desses receptores (DE NARDI et al., 2009).

Assim, inúmeros estudiosos inferiram que a neutralização das fêmeas antes da puberdade reduz o risco do desenvolvimento do câncer de mama, bem como o uso de progestágenos, uma alternativa equivocada para a neutralização química, aumenta a incidência das neoplasias benignas (SILVA; SERAKIDES; CASSALI, 2004). Pesquisas realizadas na Califórnia (EUA) revelaram que as cadelas não esterilizadas cirurgicamente apresentaram incidência de tumores mamários quatro a sete vezes maior quando comparadas às submetidas à ovário-histerectomia (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001).

Schneider et al. (1969) observaram o efeito protetor da castração quando tal procedimento era feito antes do primeiro ciclo estral, apontando um risco 0,5% para o surgimento da enfermidade, o qual aumenta para 8% entre o primeiro e o segundo cio e para 26% após o segundo. Não obstante, Beauvais, Cardwell e Brodbelt (2012) não encontraram a correlação protetora da idade da castração e seu efeito preventivo, pois ao analisarem a literatura alicerçada nessa hipótese, evidenciaram que as pesquisas não eram padronizadas, bem como consideradas, pelos autores, de pouco impacto.

Quanto à ocorrência de falsa gravidez, não há comprovação acerca da sua influência na gênese da doença (SORENMO et al., 2011). O presente estudo

denota, então, a íntima relação hormonal na carcinogênese dos tumores mamários, pois, 72% das pacientes não eram castradas e, no restante (28%), a ovariectomia (OH) foi realizada enquanto adultas, ou seja, após dois anos de idade. Ademais, 10,5% foram submetidas à administração de anticoncepcionais e 47,4% desenvolveram falsa gravidez.

Já no que se concerne aos sítios das lesões, constatou-se que as M5 e as M4 foram os principais alvos, respectivamente com 27 (39,1%) e 25 (36,2%) neoplasias. Vários estudos brasileiros confirmam e demonstram que a ocorrência das neoplasias nas mamas mais caudais é maior (DE NARDI et al., 2009; OLIVEIRA FILHO et al., 2010; VARALLO et al., 2012; FELICIANO et al., 2012). O parênquima destas glândulas é mais abundante e, assim, por possuir maior quantidade de células, torna-se mais suscetível ao surgimento de tumores (LANA; RUTTEMAN; WITHROW, 2007).

A CAF foi introduzida na medicina humana por Martin e Ellis em 1930 nos EUA (Nova York) e, na veterinária, passou a ser utilizada como uma ferramenta diagnóstica para a diferenciação entre processos hiperplásicos, inflamatórios, neoplásicos e degenerativos a partir dos anos 80 (MAGALHÃES et al. 2001; TEIXEIRA et al., 2010).

A interpretação adequada do exame citopatológico depende da experiência e da habilidade do patologista clínico, ou do patologista, em identificar as alterações morfológicas das células e discriminá-las em processos neoplásicos e não neoplásicos; bem como da qualidade das amostras no momento da confecção, notadamente quanto ao esfregaço e a coloração, o que pode ser determinante para a definição do diagnóstico (PARK et al., 2009).

Assim, a técnica adequada para a obtenção do tecido amostrado é importante e o procedimento sem aspiração, por capilaridade ou perfuração, fornece amostras de qualidade igual ou superior àquelas colhidas pela técnica padrão com aspiração, especialmente em neoplasias com intensa vascularização (MEINKOTH et al., 2009).

Os processos carcinomatosos diagnosticados no presente estudo caracterizaram-se pela presença de hiperplasia celular, pleomorfismo celular e nuclear, cluster de células e baixa coesão entre as células. Tais características assemelham-se às descrições dos diagnósticos citológicos de carcinomas mamários

em cadelas presentes na literatura veterinária (ZUCCARI; SANTANA; ROCHA 2001; CASSALI et al., 2007).

Os resultados citológicos inconclusivos, nesse ensaio, ocorreram em seis amostras (8,7%). Estas foram consideradas inadequadas para a determinação precisa do diagnóstico, pois eram hipocelulares, ou contaminadas com muitas hemácias. O que condiz com as implicações descritas por ISHIKAWA et al. (2007), os quais relataram que a falha na obtenção de amostras representativas e adequadas é uma das causas mais comuns para a falha do diagnóstico. Dentre as causas citam a hipocelularidade, a qual está relacionada à neoformações pequenas e/ou com baixa capacidade esfoliativa, diluição com hemácias, notadamente em tumores vascularizados e inflamados, pois durante o procedimento pode ocorrer a hemorragia e a inflamação pode alterar a morfologia celular. Além disso, nas lesões císticas, o fluido presente também pode promover a diluição da amostra colhida pela citologia e impedir a determinação do diagnóstico.

Os resultados falso-negativos, neste projeto, foram diagnosticados como processos inflamatórios e císticos. As dificuldades de interpretação dos exames citológicos provenientes de neoplasias mamárias, em mulheres, frequentemente, são maiores que em outros tecidos, pois a mama é um órgão responsivo a hormônios, os quais podem provocar a hiperplasia da glândula e anisocariose, sem a presença de neoplasia; lesões benignas de baixo grau apresentam atipias celulares tênues e sutis, o que dificulta a avaliação das amostras, uma vez que não se observa a arquitetura tecidual. Ainda, muitas lesões são classificadas histologicamente como complexas, além da possibilidade da variação histológica no mesmo tumor (ORELL; MILIAUSKAS, 2005). Tais dificuldades de interpretação também podem ser atribuídas aos exames citológicos dos tumores de mama em cadelas, visto que é possível determinar a influência hormonal em eventos fisiológicos (puberdade, gestação e lactação) e patológicos (falsa gravidez, tumores); neoplasias benignas com baixos critérios de atipias celular, a presença de tumores mistos e complexos, a ampla variedade de subtipos histológicos, bem como um mesmo nódulo com áreas histológicas diferentes (POLTON, 2009; CASSALI et al., 2011; SORENMO et al., 2011). Portanto, a experiência e a cautela do

examinador são de suma importância para minimizar os erros, especialmente nas formas neoplásicas benignas e com discretas alterações celulares.

Existem poucos trabalhos na literatura veterinária que avaliam a acurácia da CAAF no diagnóstico de neoplasias de mamas em cadelas (SONTAS et al., 2012). Na medicina humana, várias pesquisas atestaram o procedimento como um exame preciso e confiável, notadamente em neoformações mamárias pequenas (SMITH et al, 2012). Yu, Wei e Liu (2012) realizaram uma meta- análise de 46 publicações que avaliavam a acurácia do exame citológico na detecção da doença. Foram avaliados 7.207 pacientes, resultando em 92,7% de sensibilidade e 94,8% de especificidade. Tais índices demonstraram que a CAAF como uma ferramenta diagnóstica precisa, desde que usada com critério.

Sontas et al. (2012) determinaram a acurácia CAAF no diagnóstico de tumores mamários em cadelas, bem como a viabilidade dessa técnica em diferenciá-los nos tipos simples, complexos e mistos. Obtiveram 25 (27,7%) amostras citológicas consideradas inadequadas para o diagnóstico em virtude da hipocelularidade, contaminação com hemácias e células inflamatórias, bem como morfologias celulares bizarras. A acurácia do método foi 96,5%, a sensibilidade 96,2% e a especificidade 100%. Com a inclusão das amostras inadequadas e suspeitas, a acurácia diminuiu para 63,3%, a sensibilidade para 60,7%, enquanto que a especificidade manteve o valor anterior. Dessa forma, afirmaram que a CAAF é um método auxiliar confiável para o diagnóstico de neoplasias mamárias.

Simon et al. (2009) avaliaram os diagnósticos dos exames cito e histopatológico de 50 neoplasias mamárias em 50 cães. As amostras citológicas consideradas adequadas para a interpretação foram obtidas de 43 tumores e, dos sete restantes, em virtude da hipocelularidade, da contaminação excessiva com sangue, de esfregaços espessos e dos artefatos que alteraram a morfologia celular, as amostras foram inconclusivas. A CAAF diagnosticou 24 (56%) neoplasias mamárias benignas, três (7%) benignas com baixo grau de atipia e 16 (37%) malignas. A análise histopatológica dos tumores revelou 26 (60%) neoplasmas benignos e 17 (40%) malignos. A acurácia do método em diagnosticar lesões malignas foi 93% e o tipo específico de tumor em 81%. A sensibilidade e a especificidade do exame citológico para o diagnóstico de doenças malignas, usando

a histopatologia como o método de referência foram, respectivamente, 88% e 96%. Concluíram, assim, que exame citológico de tumores mamários em cães tem precisão, sensibilidade e especificidade satisfatória para o diagnóstico da doença.

Cassali et al. (2007) compararam os diagnósticos cito e histopatológico de 77 tumores colhidos de 73 cadelas. A concordância entre os exames foi de 67,5% mas, quando as amostras suspeitas e inadequadas/inconcluivas foram excluídas da estatística, aumentou para 92,9%. A sensibilidade e a especificidade foram encontradas para o diagnóstico de tumores malignos e benignos. Para estes, os valores obtidos, respectivamente, foram 100 e 88,6%. Já para os malignos foram 88,6% e 100%. A equipe concluiu que a CAAF com aspiração é uma ferramenta auxiliar precisa e rápida para o diagnóstico de neoplasias mamárias, entretanto, o exame histopatológico é fundamental para determinar o subtipo e a graduação tumoral.

Zuccari, Santana e Rocha (2001) testaram a eficiência da CAAF como método diagnóstico para tumores mamários em cadelas. Para isso, avaliaram 35 neoplasias de 35 cadelas. Observaram poucos diagnósticos citológicos inconclusivos (12%), sensibilidade de 73% e especificidade de 83%. Pela baixa sensibilidade, julgaram que a CAAF não deve ser utilizada para o diagnóstico definitivo dos neoplasmas de mama.

A baixa taxa de amostras inconclusivas obtidas neste estudo (8,7%) difere dos trabalhos acima citados (14% a 26%). A escolha apropriada da agulha usada para o procedimento interfere na qualidade dos espécimes (SANTANA et al., 2009). Observou-se, nesse ensaio, que as agulhas muito calibrosas (25X7, 25X8), possibilitavam maior quantidade de material, mas, também aumentavam a contaminação com sangue. Além disso, no momento da deposição da amostra colhida para a lâmina de microscopia, a gota ficava grande e dificultava a confecção do esfregaço, o qual ficava espesso. Outra complicação enfrentada foi, muitas vezes, a falta de controle para a expulsão do material da agulha para a lâmina. Pequenos coágulos, tumores com alta capacidade esfoliativa obstruíam parcialmente o lúmen dessas agulhas e, assim, a aplicação de uma pressão maior era necessária para a eliminação do conteúdo, o qual, então, era despejado de forma abrupta. Em algumas situações, ocorria a perda material, ou os esfregaços

ficavam de péssima qualidade. Dessa forma, a agulha de insulina (13X4,5) mostrou-se a mais apropriada para o procedimento da CAF nesse ensaio. Além de reduzir a diluição das amostras com sangue, favoreceu a expulsão destas com mais delicadeza, preservando, assim, a integridade celular. Ainda, ao proporcionar esse controle, foi possível gerar gotas de tamanhos apropriados para a confecção do esfregaço considerado ideal para a leitura. Além disso, associado com o uso adequado do calibre da agulha, a técnica não aspirativa também contribuiu para o baixo índice de diagnósticos inconclusivos, visto que ao se eliminar a pressão negativa exercida para aspirar as células do tecido, extirpou-se o risco da ruptura de vasos sanguíneos, o qual é comum acontecer se a força da pressão for grande e o tempo de aplicação prolongado (MEINKOTH et al., 2009).

Ademais, não foram observadas complicações relacionadas à CAF em nenhuma paciente. Em alguns casos houve discreta hemorragia no local da punção, facilmente contida com pressão digital, e formação de hematomas. Rocha et al. (1998) descreveu as mesmas situações e, salientou, ainda, que o procedimento provoca muito baixa ou nenhuma morbidez. Dessa forma, trata-se de um exame seguro para a paciente e preciso para o diagnóstico de neoplasias malignas da glândula mamária de cadelas.

Isso é comprovado pelos valores de S, E, VPP e VPN obtidos no referido estudo. A CAF foi uma ferramenta diagnóstica precisa para o diagnóstico de processos neoplásicos malignos provenientes das mamas de cadelas. Todavia, não deve ser usada como método único, visto que, no presente ensaio, o procedimento não foi hábil em classificar as lesões conforme os subtipos histológicos classificados por Cassali et al. (2011). Pesquisas anteriores corroboram os resultados aqui encontrados ao concluírem que o exame citológico é preciso, rápido e seguro para o diagnóstico dos tumores mamários em cadelas, porém a confirmação histopatológica é fundamental para determinar o tipo e a graduação histológica (MAGALHÃES et al., 2001; ZUCCARI; SANTANA; ROCHA, 2001; HATAKA, 2004; CASSALI et al. 2007; SIMON et al. 2009; SONTAS et al., 2012).

3.2 Conclusão

Tendo em vista o número de lesões mamárias avaliadas neste trabalho e, considerando as variações com relação à classificação histopatológica dos tumores mamários em cadelas, conclui-se que a citologia por capilaridade com agulha de insulina é um método preciso, rápido, seguro e barato para o diagnóstico dos tumores malignos. Além disso, é facilmente exequível, gerando, dessa forma, material de excelente qualidade. Entretanto, em virtude da variedade histológica da doença, o exame histopatológico é fundamental para a classificação e graduação do tipo tumoral da lesão.

.

3.3 Referências Bibliográficas

AL-DISSI, A. N.; HAINES, D. M.; SINGH, B.; KIDNEY, B. A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor-2 in canine simple mammary gland adenocarcinomas. **The Canadian Veterinary Journal**, v.5, n.10, 2010.

BEAUVAIS, W.; CARDWELL, J. M.; BRODBELT, D.C. The effect of neutering on the risk of mammary tumours in dogs – a systematic review. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 6, p. 314–322, 2012.

BETZ, D.; SCHOENROCK, D.; MISCHKEL, R.; BAUMGÄRTNER, W.; NOLTE, I. Postoperative treatment outcome in canine mammary tumors Multivariate analysis of the prognostic value of pre- and postoperatively available information. **Tierärztliche Praxis Kleintiere**, v.40, p. 235–242, 2012.

BRODY, R. S.; GOLDSCHMIDT, M. H.; ROSZEL, J. Canine mammary gland neoplasia. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v.19, p. 61–90, 1985.

CASSALI G. D.; GOBBI, H.; MALM, C.; SCHMITT, F. C. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. **Cytopathology**, v. 18, p. 191–196 , 2007.

CASSALI, G. D.; LAVALLE, G. E.; DE NARDI, A. B.; FERREIRA, E.; BERTAGNOLLI, A. C.; ESTRELA-LIMA, A.; ALESSI, A. C.; DALECK, C. R.; SALGADO, B. S.; FERNANDES, C. G.; SOBRAL, R. A.; AMORIM, R. L.; GAMBA, C. O.; DAMASCENO, K. A.; AULER, P. A.; MAGALHÃES, G. M.; SILVA, J. O.; RAPOSO, J. B.; FERREIRA, A. M. R.; OLIVEIRA, L. O.; MALM, C.; ZUCCARI, D. A. P. C.; TANAKA, N. M.; RIBEIRO, L. R.; CAMPOS, L. C.; SOUZA, C. M.; LEITE, J. S.; SOARES, L. M. C.; CAVALCANTO, M. F.; FONTELES, Z. G. C.; SCHUCH, I. D.; PANIAGO, J.; OLIVEIRA, T. S.; TERRA, E. M.; CASTANHEIRA, T. L. L.; FELIZ, A. O. C.; CARVALHO, G. D.; GUIM, T. N.; GUIM, T. N.; GARRIDO, E.; FERNANDES, S. .C.; MAIA, F. C. L ; DAGLI, M. L. Z., ROCHA, N. S.; FUKUMASU, H.; GRANDI, F.; MACHADO, J. P.; SILVA, S. M. M.; BEZERRIL, J. E.; FREHSE, M. S.; ALMEIDA, E. C. P.; CAMPOS, C. Consensus for the Diagnosis, Prognosis and Treatment of

Canine Mammary Tumors. Brazilian **Journal of Veterinary Pathology**, v.4, n.2, p. 153-180, 2011.

CHANG, C. C.; TSAI, M. H.; LIAO, J. W.; CHAN, J. P. WONG, M. L.; CHANG, S. C. Evaluation of hormone receptor expression for use in predicting survival of female dogs with malignant mammary gland tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 235, n. 4, p. 391–396, 2009.

DE NARDI, A. B.; RODASKI, S.; ROCHA, N. S.; FERNANDES, S. C. Neoplasias mamárias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap 25, p. 372-383.

DE NARDI, A.B; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.; RODIGHIERI, S.M.; RIOS, A.; PIEKARZ, C.H. prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da universidade federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v.7, n.2, p.15-26, 2002.

FELICIANO, M. A. R.; SILVA, A. S.; PEIXOTO, R. V. R.; GALERA, P. D.; VICENTE, W. R. R. Estudo clínico, histopatológico e imunoistoquímico de neoplasias mamárias em cadelas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p. 1094-1100, 2012.

HATAKA, A. **Citologia aspirativa com agulha fina e histopatologia: valor e significado para o diagnóstico e prognóstico do câncer de mama em cadelas**. 2004. 96f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2004.

ISHIKAWA, T.; HAMAGUCHI, Y.; TANABE, M.; MOMIYAMA, N.; CHISHIMA, T.; NAKATANI, Y.; NOZAWA, A.; SASAKI, T.; KITAMURA, H.; SHIMADA, H. False-positive and false-negative cases of fine-needle aspiration cytology for palpable breast lesions. **Breast Cancer**, v. 14, n.4, p.388-392, 2007.

KLOPFLEISCH, R.; VON EULER, H.; SARLI, G.; PINHO, S. S.; GAËRTNER, F.; GRUBER, A. D. Molecular carcinogenesis of canine mammary tumors: news from an old disease. **Veterinary Pathology**, v.48, n.1, p. 98-116, 2011.

LANA, S. E.; RUTTEMAN, G. R.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: Withrow, S.J.; MacEwen, E.G.,(Ed). **Small Animal Clinical Oncology**. 4 ed. Missouri : WB Saunders, 2007. p. 619–633.

MAGALHÃES, A. M.; RAMADINHA, R. R.; BARROS, C. S. L.; PEIXOTO, P. V. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p.23-32, 2001.

MASOOD, S. Core needle biopsy versus fine needle aspiration biopsy: are there similar sampling and diagnostic issues? **Clinics in Laboratory Medicine**, v.25, n. 4, p. 679–688, 2005.

MEINKOTH, J. M.; COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MORTON, R. J. Coleta e prepare de amostras. In: COWELL, R. L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J. M.; DENICOLA, D. B. (Eds). **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3 ed. São Paulo: MedVet, 2009. cap 1, p.1-18.

NASSAR, A. Core needle biopsy versus fine needle aspiration biopsy in breast – a historical perspective and opportunities in the modern era. **Diagnostic Cytopathology**, v. 39, n.5, p. 380-388, 2010.

OLIVEIRA FILHO, J. C.; KOMMERS, G. D.; MASUDA, E. K.; MARQUES, M. F. P. P.; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. L. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.177-185, 2010.

ORELL, S. R.; MILIAUSKAS, J. Fine needle biopsy cytology of breast lesions: a review of interpretative difficulties. **Advances in Anatomyc Pathology**, v. 12, n.5, p. 233-245, 2005.

PARK, S. M.; LEE, D. M.; JIN, S. Y.; KIM, D. W.; JEEN, Y. M.; CHOI, I. H. Fine needle aspiration cytology as the first pathological diagnostic modality in breast lesions: a comparison with core needle biopsy. **Basic and Applied Pathology**, v.3, p: 1-6, 2010.

POLTON, G. Mammary tumours in dogs. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 50-56, 2009.

RIBAS, C. R.; DORNBUSCH, P. T.; FARIA, M. R.; WOUK, A. F. P. F.; CIRIO, S. .M. Alterações clínicas relevantes em cadelas com neoplasias mamárias estadiadas. **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.1, p.60-68, 2012.

ROCHA, N. S. Citologia aspirativa por agulhas finas (CAAF). **Cães & Gatos**, n.75, p.14-6, 1998.

SANTANA, A. E.; SIKI, M. C. ; GAMA, F. G. V. ; SOBREIRA, M. F. R. ; CAESIN, A. P. M. N. Citologia aspirativa com agulha fina aplicada ao estudo das neoplasias. In: DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B.; RODASKI, S. (Eds). **Oncologia em Cães e Gatos**. São Paulo: Rocca, 2009. cap. 4, p. 76-91.

SCHNEIDER, R.; DORN, C. R.; TAYLOR, D. O. Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 43, n. 6, p. 1249–1261, 1969.

SILVA, A. E.; SERAKIDES, R.; CASSALI, G. D. Carcinogênese hormonal e Neoplasias hormônio-dependentes. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.625-633, 2004.

SIMON, D.; SCHOENROCK, D.; NOLTE, I.; BAUMGÄ RTNER, W.; BARRON, R.; MISCHKE, R. Cytologic examination of fine-needle aspirates from mammary gland tumors in the dog: diagnostic accuracy with comparison to histopathology and association with postoperative outcome. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n.4, p. 521-528, 2009.

SMITH, M. J.; HEFFRON, C. C.; ROTHWELL, J. R.; LOFTUS, B. M.; JEFFERS, M.; GERAGHTY, J. G. Fine needle aspiration cytology in symptomatic breast lesions: still an important diagnostic modality? **The Breast Journal**, v. 18, n.2, p103-110, 2012.

SONTAS, B. H.; YÜZBASOGLU ÖZTÜRK, G.; TOYDEMİR, T. F. S.; ARUN.S. S.; EKICI, H. Fine-needle aspiration biopsy of canine mammary gland tumours: a comparison between cytology and Histopathology. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n.1, 125–130, 2012.

SORENMO, K. U.; KRISTIANSEN, V. M.; COFONE, M. A.; SHOFER, F. S.; BREEN, A. M.; LANGELAND, M.; MONGIL, C. M.; GRONDAHL, A. M.; TEIGE, J.; GOLDSCHMIDT, M. H. Canine mammary gland tumours; a histological continuum from benign to malignant; clinical and histopathological evidence. **Veterinary and Comparative Oncology**, v. 7, n. 3, p. 162–172, 2009.

SORENMO, K. U.; RASOTTO, R.; ZAPPULLI, V.; GOLDSCHMIDT, M. H.; Development, anatomy, histology, lymphatic drainage, clinical features, and cell differentiation markers of canine mammary gland neoplasms. **Veterinary Pathology**, v. 48, n.1, p. 85-97, 2011.

SLEECKX, N.; DE ROOSTER, H.; VELDHUIS KROEZE, E. J. B.; VAN GINNEKEN, C.; VAN BRANTEGEM, L. Canine mammary tumours, an overview. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 46, p. 1112-1131, 2011.

TEIXEIRA, L. V.; LOPES, S. T. A.; MARTINS, D. B.; FRANÇA, R. T.; FIGHERA, R. A. Punção aspirativa por agulha fina como método de coleta de material para a histopatologia no osteossarcoma canino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p. 145-248, 2010.

TORÍBIO, J. M. M. L.; LIMA, A. E.; MARTINS FILHO, E. F.; RIBEIRO, L. G. R.; D'ASSIS, M. J. M. H.; TEIXEIRA, R. G.; DAMASCENO, K. A.; CASSALI, G. D.; COSTA NETO, J. M. Caracterização clínica, diagnóstico histopatológico e distribuição geográfica das neoplasias mamárias em cadelas de Salvador, Bahia. **Revista Ceres**, v. 59, n.4, p 427-433, 2012.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Neoplasias mamárias: idade ao diagnóstico, raça e cadeia mamária mais acometida em cadelas atendidas no HV da UNESP, Jaboticabal, SP. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais do VII Oncovet**, 2012. p. 20-22.

VARALLO, G. R.; RAPOSO, T. M. M.; TERRA, E. M.; COSTA, M. T.; DE NARDI, A. B.; DALECK, C. R. Associação do diagnóstico dos tumores de mama em cadelas com a mama acometida e a presença de metástase nos linfonodos inguinais. In: Oncovet, 7, 2012, João Pessoa. **Anais** do VII Oncovet , 2012. p. 20-22.

ZAGORIANAKOU, P.; FIACCAVENTO, S.; ZAGORIANAKOU, N.; MAKRYDIMAS, G.; STEFANO, D.; AGNANTIS, N. J. FNAC: its role, limitations and perspective in the preoperative diagnosis of breast cancer. **European Journal of Gynaecological Oncology**, v. 26, n. 2, p. 143-149, 2005.

ZUCCARI, D. C. P. C; SANTANA, A. S.; ROCHA, N. S. Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 38-41, 2001.

YU, Y. H.; WEI, W.; LIU, J. L. Diagnostic value of fine-needle aspiration biopsy for breast mass: a systematic review and meta-analysis. **BioMed Central Cancer**, v.12, p. 41-54, 2012.

APÊNDICE

QUESTIONÁRIO – PROJETO MESTRADO

Paciente:	RGHV:
Raça:	Idade:
Proprietário:	Tel:

Aspectos gerais:

Tempo de evolução tumoral:

Mamas acometidas:

Presença de ulceração: () sim () não

Presença de metástase: () sim () não Onde:

Presença de secreção nas mamas: () sim () não

Tipo de secreção: () purulenta () galactorréica () serosanguinolenta () enegrecida () outra

Instituído tratamento prévio: () sim () não

Qual: () cirúrgico – tipo de mastectomia:

() quimioterápico – protocolo:

nº ciclos/sessões:

() outro – qual:

Presença de outros nódulos pelo corpo: () sim () não Onde:

Possui diagnóstico histopatológico: () sim () não Laudo:

Histórico familiar acerca de neoplasias: () não sabe informar

() ausente

() presente Quem:

Tumor:

Relação Hormonal:

Castrada: () sim () não Quando:

Administração de anticoncepcionais: () sim () não Qual:

Ciclo estral: () não sabe informar () regular () irregular () não observa

Se regular → frequência:

duração:

Nº de gestações:

Falsa gravidez: () sim () não

Se sim → frequência:

secreção: () sim () não tipo:

Dieta / Escore Corporal

Alimentação: () ração () comida caseira () ambas

Escore corporal: () caquético () magro () normal () sobrepeso () obeso

Mapeamento e Caracterizações das Lesões (mensurações e descrições dos tumores)

Cadeia Mamária Direita	Cadeia Mamária Esquerda
M1:	M1:
M2:	M2:
M3:	M3:
M4:	M4:
M5:	M5:

Mastectomia: () cadeia direita () cadeia esquerda

Data da coleta citológica e histopatológica: