

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**NECRÓPSIAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA –
CASUÍSTICA E DESCRIÇÃO DE CASOS**

Joana Raquel Cardoso Marques

Orientador(es)

Professora Doutora Patrícia Carla Araújo de Faria Dias Pereira

Co-Orientador(es)

Dra. Ana Maria Canadas Pereira de Sousa

Porto 2019

Relatório Final de Estágio
Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**NECRÓPSIAS EM ANIMAIS DE COMPANHIA –
CASUÍSTICA E DESCRIÇÃO DE CASOS**

Joana Raquel Cardoso Marques

Orientador(es)

Professora Doutora Patrícia Carla Araújo de Faria Dias Pereira

Co-Orientador(es)

Dra. Ana Maria Canadas Pereira de Sousa

Porto 2019

Resumo

A realização deste estágio teve como principal objetivo reforçar a minha formação prática na área da Patologia Veterinária, destacando a sua ligação à prática clínica. Nesse sentido, tive oportunidade de participar nas necrópsias realizadas no âmbito das aulas práticas de Anatomia Patológica I e respetiva recolha de material, para análise histopatológica, processamento macroscópico e observação histológica do mesmo, com posterior discussão e redação de relatórios. Paralelamente foi possível acompanhar o serviço de diagnóstico histopatológico do Laboratório de Patologia Veterinária do ICBAS-UP.

Durante este estágio curricular foram realizadas 74 necrópsias, tendo sido registadas informações relativas à espécie, raça, sexo e idade do animal, alterações lesionais, patologia dominante e sua etiologia. Posteriormente, foi feita a análise estatística destes dados. Da totalidade das necrópsias, foram selecionados cinco casos para descrição pormenorizada. Nesta descrição abordam-se as alterações lesionais e histológicas observadas e faz-se uma breve revisão bibliográfica da patologia diagnosticada. O primeiro caso descrito refere-se a um linfoma. Este caso foi selecionado, porque o linfoma é a neoplasia mais frequente, representando 29% (n=12) dos casos analisados. O segundo caso refere-se a um carcinoma mamário inflamatório. Este caso foi selecionado, dado que os tumores mamários são a segunda neoplasia mais frequente, representando 22% (n=9) dos casos. Além disso, o carcinoma mamário inflamatório é uma patologia complexa, recentemente reconhecida por patologistas e médicos veterinários da área clínica. O terceiro caso refere-se a um adenocarcinoma pulmonar. Este caso foi selecionado, porque os tumores pulmonares primários são incomuns, no entanto representavam 5% (n=2) dos casos analisados. O quarto caso refere-se a um carcinoma colangiocelular. O caso foi selecionado devido à exuberância do quadro lesional, que não se coadunava com a história clínica apresentada. O quinto caso refere-se a um melanoma oral. Este caso foi selecionado, por se tratar de uma neoplasia agressiva com elevada importância na prática clínica.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer à Professora Patrícia Dias Pereira, pela disponibilidade demonstrada. Por me ter transmitido preciosos ensinamentos e por me ter feito gostar ainda mais da Patologia Veterinária. Obrigada por incentivar o meu espírito crítico e pela confiança que depositou em mim. Pela excelente professora e patologista que é. Obrigada por toda a ajuda na realização deste relatório.

À Dra. Ana Canadas, pela simpatia, pela honestidade, por me transmitir que o mais importante é ter confiança em nós e que não há impossíveis, por me lembrar que a organização é extremamente importante. Por estar sempre disponível para esclarecer as minhas dúvidas e corrigir as minhas tentativas de descrição histológica. Pela pessoa e patologista excelente que é e por me inculcar o gosto pela área.

Às técnicas Alexandra e Fátima, por me receberem no Laboratório de Patologia Veterinária.

Ao Professor Carlos Pinto, à Dra. Carla Lima e à Dra. Cristina Ochôa por me terem ensinado a dar os primeiros passos na Patologia Veterinária.

Aos meus pais, por me terem sempre apoiado no meu percurso académico, por me terem incentivado a dar o meu melhor mesmo quando parecia não ter forças para tal e pelos valores que me transmitiram e continuam a transmitir.

Ao Lukasz, por ser um pilar na minha vida, por me fazer ver que não devo duvidar das minhas capacidades, nem das minhas decisões, porque tudo dará certo, por me acompanhar par a par na vida académica.

Ao meu amigo Filipe, pelo companheirismo, pela partilha de experiências e ideias ao longo dos anos de academia.

Às “Bananas”, Mariana, Carla, Maria Carolina, Rita, Raquel, por serem simplesmente bananas, por me fazerem rir com tantas parvoíces, pelos momentos de sofrimento partilhados, pelo apoio mútuo e por serem tão aleatórias e autênticas.

À Elena, pela companhia durante o estágio.

A todos os animais, porque sem eles não estaria aqui.

*“Não há ideia mais consoladora do que esta – que eu, e tu, e aquele monte, e o Sol que, agora, se esconde
são moléculas do mesmo Todo, governadas pela mesma Lei, rolando para o mesmo Fim.”*

Eça de Queirós - **Contos**

Lista de abreviaturas

OMS: Organização Mundial de Saúde

FeLV: Feline Leukemia Virus

OVH: Ovário-histerectomia

Rácio N:C: Rácio Núcleo:Citoplasma

CI: Carcinoma Inflamatório

NHG: Nottingham Histological Grading

ca-NHG: canine adapted – Nottingham Histological Grading

TPP: Tumor Pulmonar Primário

THP: Tumor Hepático Primário

CH: Carcinoma Hepatocelular

CC: Carcinoma Colangiocelular

HE: Hematoxilina-Eosina

TRP: Tyrosine Related Protein

Índice

Resumo	iii
Agradecimentos	iv
Lista de abreviaturas	v
Introdução	1
Casuística das Necrópsias.....	2
Descrição de casos.....	8
Caso 1	8
Identificação do animal	8
História clínica.....	8
Alterações macroscópicas.....	8
Alterações histológicas	8
Linfoma	9
Caso 2	12
Identificação do animal	12
História clínica.....	12
Alterações macroscópicas.....	12
Alterações histológicas	13
Carcinoma mamário inflamatório.....	13
Caso 3	17
Identificação do animal	17
História clínica.....	17
Alterações macroscópicas.....	17
Alterações histológicas	18
Adenocarcinoma pulmonar	18
Caso 4	21
Identificação do animal	21

História clínica.....	21
Alterações macroscópicas.....	21
Alterações histológicas	21
Carcinoma colangiocelular	22
Caso 5	25
Identificação do animal	25
História clínica.....	25
Alterações macroscópicas.....	25
Alterações histológicas	25
Melanoma oral.....	26
Considerações gerais	28
Bibliografia.....	30
Anexo I – Fotografias caso 1.....	35
Anexo II – Fotografias caso 2.....	37
Anexo III – Fotografias caso 3	39
Anexo IV – Fotografias caso 4.....	41
Anexo V – Fotografias caso 5	42

Introdução

A patologia (*pathos*: doença + *logia*: estudo) ocupa-se do estudo das doenças, sendo dividida em patologia geral e em patologia sistemática. A primeira ocupa-se do estudo da reação e mecanismos de adaptação das células ou tecidos às agressões. A segunda refere-se ao estudo da reação sistémica às doenças (Zachary 2017). Esta divisão é, porém, artificial, uma vez que não é possível separar a célula ou o tecido do seu todo que é o sistema e, em última análise, o organismo.

Uma das partes centrais da patologia é a necrópsia, que se trata de um conjunto de observações e de exames que se realizam a um cadáver de um animal (Peleteiro *et al.* 2016). Durante a necrópsia é importante fazer uma descrição factual e objetiva das lesões macroscópicas observadas, de forma a obter um diagnóstico morfológico que é um constituinte importante do diagnóstico definitivo (Jubb, Kennedy & Palmer 2013). Posteriormente, deve feita a observação e descrição das alterações histológicas observadas, para se obter um diagnóstico definitivo fiável.

Na prática, o objetivo da patologia é transmitir um diagnóstico. Num exame de necrópsia o diagnóstico corresponde à causa de morte do animal. Por sua vez, na patologia cirúrgica o diagnóstico corresponde à descrição e classificação da lesão, permitindo a gestão mais eficaz da atitude médica perante o animal. Assim, o diagnóstico, na sua generalidade, consiste na integração da história clínica, lesões macroscópicas, alterações histológicas e resultados de outros testes complementares, tais como toxicologia, microbiologia, virologia, entre outros (Jubb, Kennedy & Palmer 2013).

Durante o estágio curricular tive oportunidade de acompanhar as necrópsias realizadas no âmbito das aulas práticas de Anatomia Patológica I. Nestas necrópsias, para além de proceder à avaliação do cadáver e à caracterização macroscópica das lesões, participei na recolha de material para análise histopatológica, no seu processamento macroscópico, na observação histológica e redação dos respetivos relatórios de necrópsia. Foi também acompanhado o serviço de diagnóstico histopatológico do Laboratório de Patologia Veterinária do ICBAS-UP, onde pude participar no processamento macroscópico e observação histológica do material enviado.

Este relatório pretende assim descrever as atividades desenvolvidas durante o período de estágio, sendo que numa primeira fase, será apresentada a casuística geral das necrópsias, e numa segunda fase, será feita a descrição pormenorizada de cinco casos representativos de patologias diagnosticadas ao longo do estágio.

Casuística das Necrópsias

Durante o período de estágio foram realizadas 74 necrópsias de animais de companhia, provenientes de diversos Centros de Atendimento Médico-Veterinário. Da totalidade dos animais necropsiados 57% (n=42) eram canídeos e 43% (n=32) eram felídeos (Gráfico 1A). Relativamente ao sexo, 53% (n=39) dos animais eram machos e 47% (n=35) eram fêmeas (Gráfico 1B).

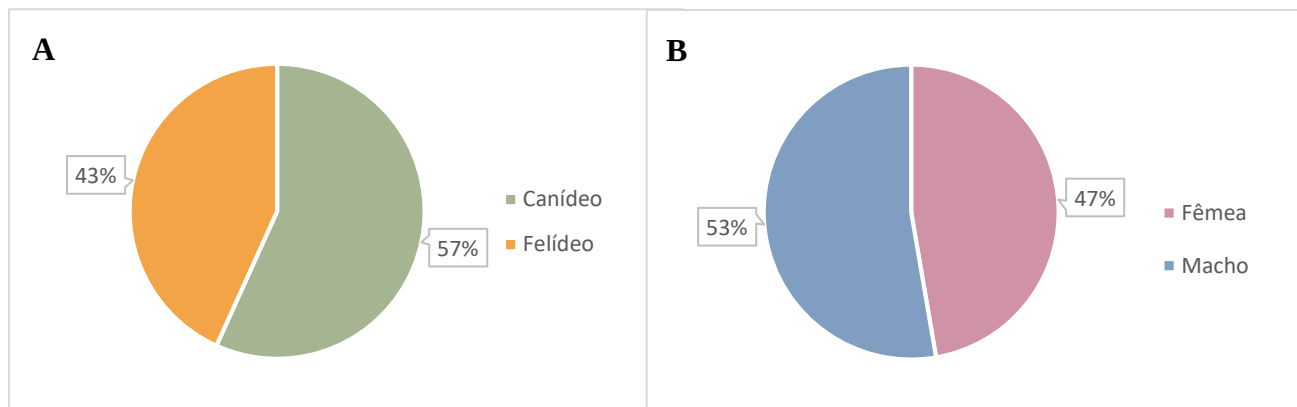


Gráfico 1: A- Percentagem de canídeos e felídeos submetidos para exame de necrópsia. B- Percentagem de machos e fêmeas submetidos para exame de necrópsia.

No que diz respeito às raças, os felídeos eram, na sua maioria (97%; n=31), de raça Europeu Comum. Apenas um animal (n=1) era de raça Siamesa (Gráfico 2).

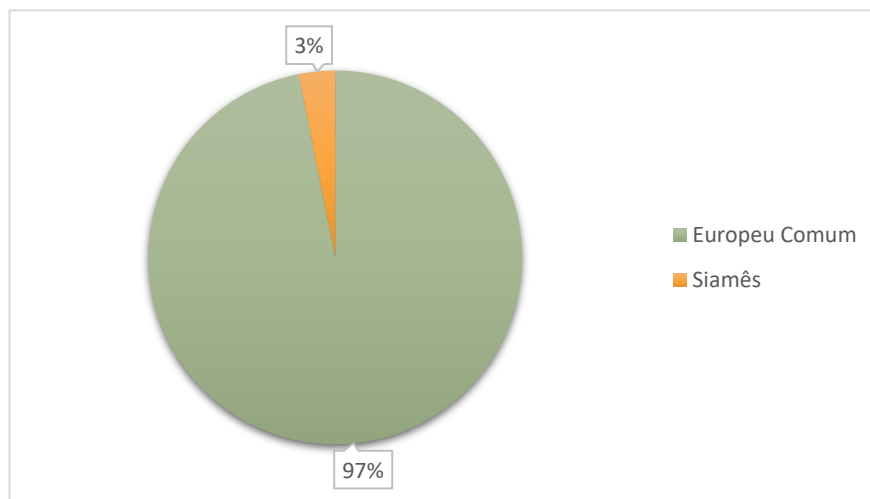


Gráfico 2: Percentagem de raças de felídeos submetidos para exame de necrópsia.

Relativamente aos canídeos verificou-se uma maior variedade de raças, sendo que 62% (n=26) dos animais eram de raça indeterminada, 10% de raça Cocker Spaniel e 5% de raça Pitbull, Pastor Alemão e Boxer, respetivamente (Gráfico 3).

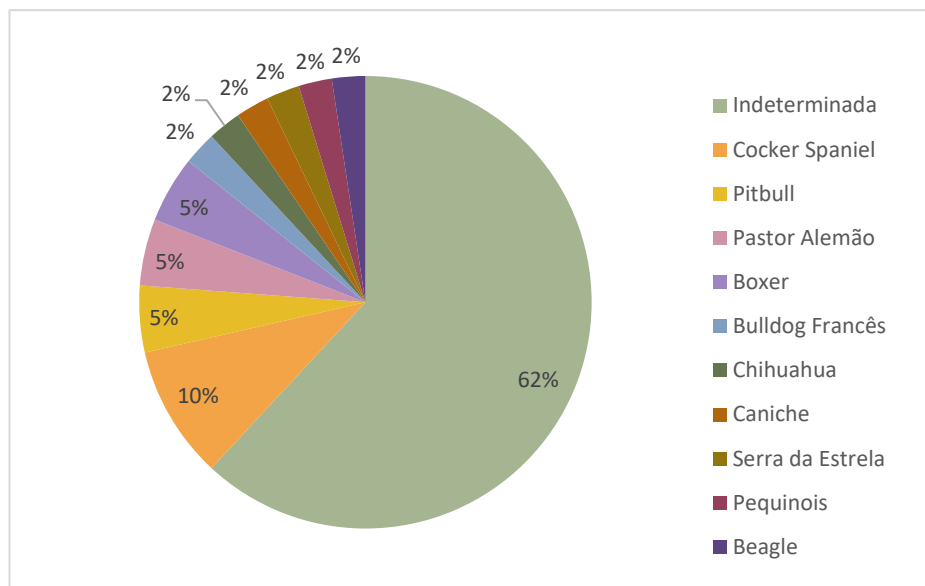


Gráfico 3: Percentagem de raças de canídeos submetidos para exame de necrópsia.

As idades dos animais submetidos ao exame de necrópsia variaram entre os 2 meses e os 21 anos. Para facilitar a sua análise estatística, procedeu-se à distribuição etária por intervalos de 5 anos. A maioria dos animais inserem-se nos intervalos de 10 a 15 anos (36%; n=27) e de 15 a 20 anos de idade (26%; n=19). Cerca de 25% dos animais (n=18) têm menos de 5 anos de idade (Gráfico 4).

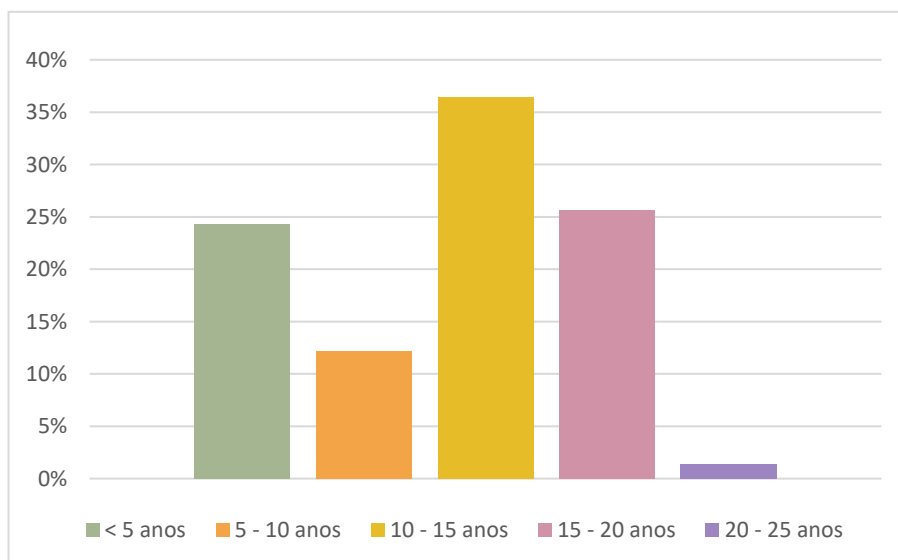


Gráfico 4: Distribuição de idades dos animais submetidos para exame de necrópsia.

Os animais submetidos a exame de necrópsia vinham acompanhados de uma breve história, sendo o procedimento de necrópsia adaptado à respectiva suspeita clínica. O objetivo da necrópsia é determinar a causa de morte do animal, contudo em determinados casos isso não foi possível, devido à ausência de informação ou à ausência de um quadro lesional consistente, evidenciando sinais objetivos de doença. Apesar disso, foi possível classificar as alterações patológicas encontradas em cinco grandes categorias, em função da sua etiologia: neoplásica, compreendendo todas as neoplasias com origem em células epiteliais, mesenquimatosas ou células redondas, benignas ou malignas; inflamatória, compreendendo lesões inflamatórias com origem infecciosa ou não infecciosa; traumática, compreendendo as lesões causadas por atropelamentos, quedas ou queimaduras; degenerativa, compreendendo todas as lesões que resultam da perda gradual da função de um órgão ou sistema de órgãos e outras, onde se inserem as patologias que não se enquadram em nenhuma das categorias anteriores. A maioria das patologias (55%; n=41) era de natureza neoplásica, 14% (n=10) eram patologias degenerativas, 8% (n=6) eram patologias de origem inflamatória, 8% (n=6) eram patologias de origem traumática, enquanto que 15% (n=11) das patologias se incluíam na categoria “outras” (Gráfico 5).

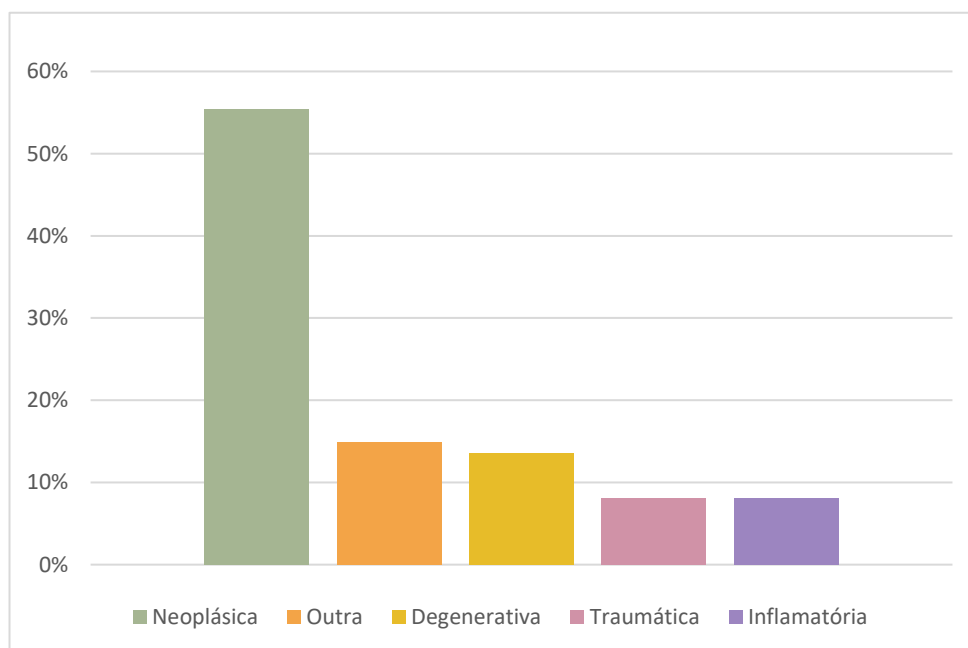


Gráfico 5: Percentagem de patologias identificadas no exame de necrópsia.

A patologia neoplásica é mais comum em animais entre os 10 a 15 anos (41%; n=17) e entre os 15 a 20 anos; (32%; n=13) (Gráfico 6A). De forma similar, as lesões degenerativas, foram identificadas em 80% (n=8) dos animais com idades compreendidas entre os 10 e 20 anos (Gráfico 6B).

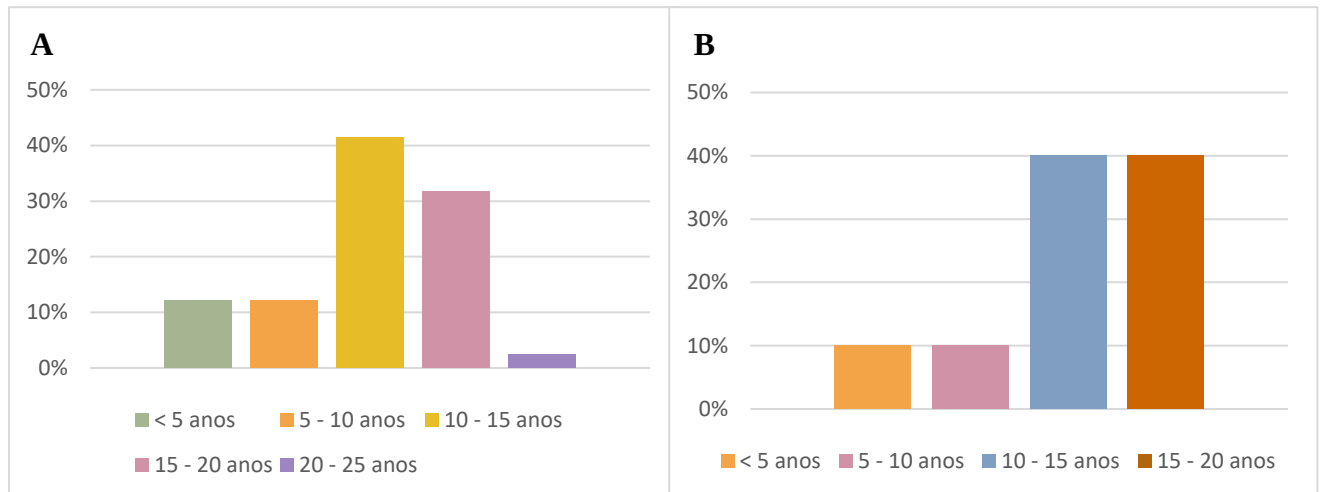


Gráfico 6: A- Distribuição das lesões de natureza neoplásica de acordo com a idade. B- Distribuição das lesões de natureza degenerativa de acordo com a idade.

A patologia inflamatória é mais comum em cães e gatos com menos de 5 anos (33%; n=2) e entre os 15 e 20 anos; (33%; n=2) (Gráfico 7A). As lesões de carácter traumático são mais comuns em animais com menos de 5 anos, representando 50% (n=3) da população (Gráfico 7B).

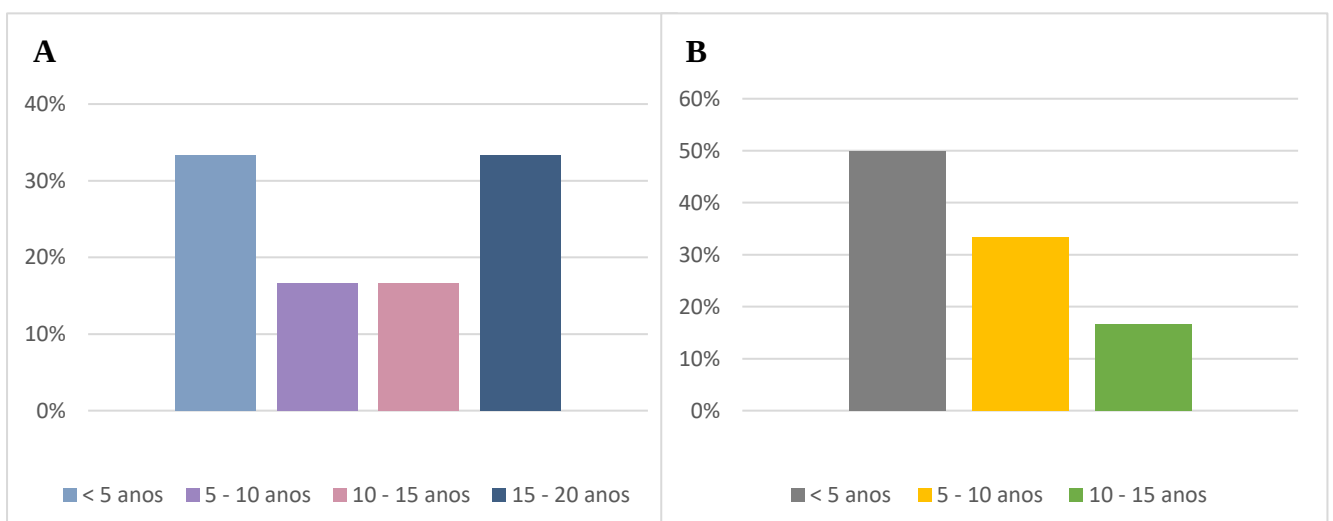


Gráfico 7: A- Distribuição das lesões de etiologia inflamatória de acordo com a idade. B- Distribuição das lesões de natureza traumática de acordo com a idade.

Uma vez que as patologias de natureza neoplásica revelaram ser as mais comuns em toda a população, procedeu-se a uma análise mais detalhada, para clarificar quais seriam as neoplasias mais frequentes nos animais necropsiados. Verificou-se assim, que os linfomas foram a neoplasia mais frequente, contabilizando 29% (n=12) dos casos, seguidos pelas neoplasias mamárias com 22% (n=9) dos casos e neoplasias testiculares com 7% (n=3) dos casos. Apesar de raras, foram diagnosticadas 5% (n=2) de neoplasias pulmonares primárias (Zachary 2017) (Gráfico 8).

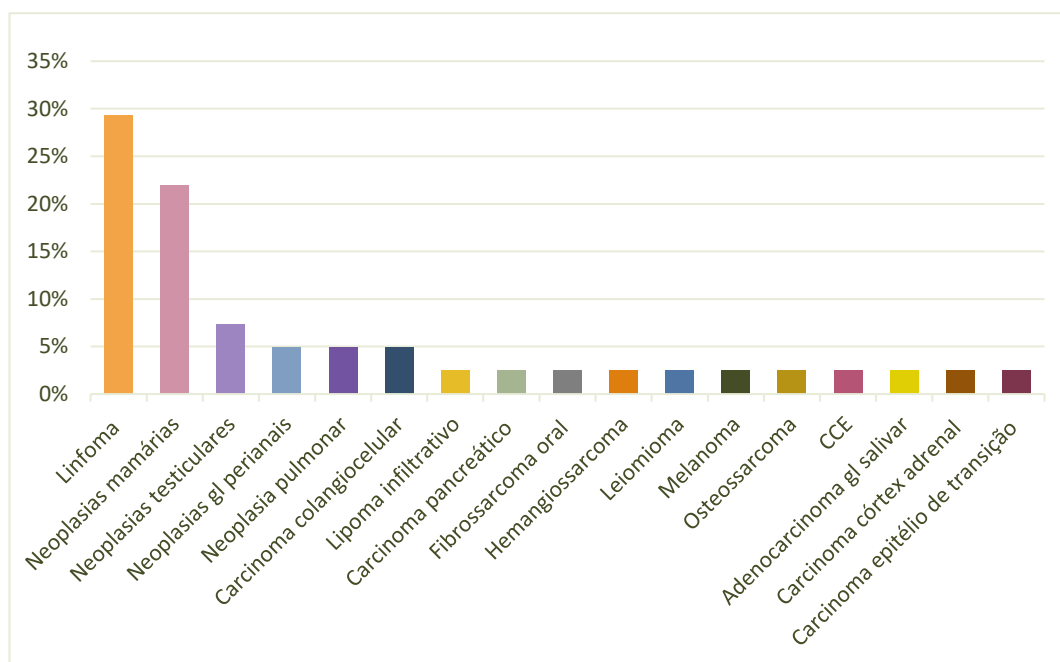


Gráfico 8: Percentagem de neoplasias diagnosticadas nos animais submetidos a exame de necrópsia.

Neste trabalho, a maior parte dos linfomas foi observada em felinos (67%; n=8) (Gráfico 9), corroborando a informação de vários autores, segundo os quais, o linfoma constitui neoplasia de origem hematopoiética mais comum nos felinos (Beatty 2014; Sato *et al.* 2014; Fabrizio *et al.* 2014; Gieger 2011). Apesar de haver uma associação reconhecida entre a infeção pelo Vírus da Leucemia Felina (FeLV) e o aumento do risco de desenvolvimento de linfoma (Beatty 2014; Louwerens *et al.* 2005), nos felinos recebidos para necrópsia apenas um animal tinha sido testado para FeLV, sendo positivo, enquanto que sobre os restantes não havia qualquer informação.

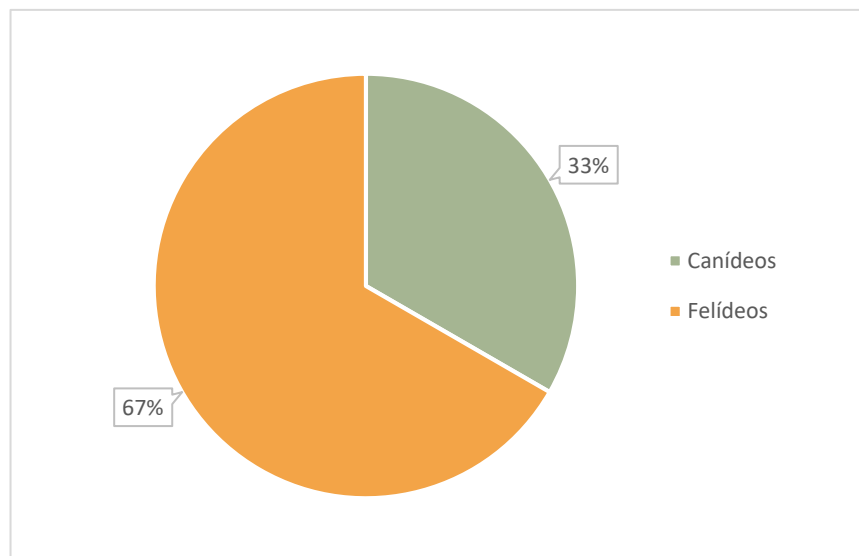


Gráfico 9: Frequência do diagnóstico de linfoma em canídeos e felídeos.

Apesar de o linfoma ser mais frequentemente diagnosticado em animais com mais de 10 anos de idade (Louwerens *et al.* 2005; Zandvliet 2016), neste trabalho metade dos animais afetados (n=6) tinham menos de 5 anos (Gráfico 10).

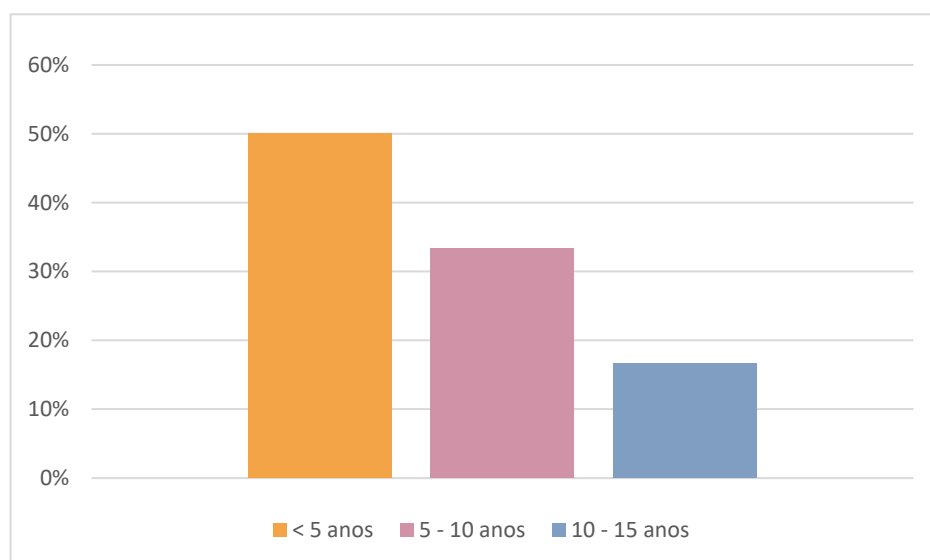


Gráfico 10: Distribuição dos casos de linfoma de acordo com a idade.

Descrição de casos

Caso 1

Identificação do animal: canídeo de nome “Becas”, fêmea ovário-histerectomizada de raça Bulldog Francês, 2 anos de idade. Peso: 12,1 kg. Condição corporal: magra.

História clínica: Anorexia total, vômito frequente e febre. Analítica evidenciou pancitopenia afetando maioritariamente a linha eritrocitária e plaquetária. O exame ecográfico revelou esplenomegalia. Citologia aspirativa realizada aos gânglios linfáticos sub-mandibulares compatível com reatividade ganglionar. Citologia aspirativa de medula óssea compatível com leucemia. Morte por eutanásia.

Alterações macroscópicas

Ao exame de necrópsia o animal apresentava linfadenomegalia generalizada periférica. Os gânglios linfáticos, ao corte, apresentavam consistência de “borracha mole”, sendo constituídos por tecidos brilhantes e homogêneos de cor creme. O gânglio linfático sub-mandibular esquerdo media 2,0x2,0x0,7cm e o gânglio linfático sub-mandibular direito media 3,0x2,5x1,0 cm (Anexo I, Figura 2). O baço evidenciou esplenomegalia, com superfície lisa, brilhante e bordos arredondados, medindo 25,5x6,5x1,5 cm (anexo I, figura 1). Ao corte observou-se a presença de lesões brancas, dispersas pelo parênquima, com cerca de 1 mm de diâmetro, de distribuição miliar. Verificou-se o aumento do tamanho de ambas as glândulas da tiróide. Ao corte, apresentavam consistência de “borracha mole”, sendo constituídas por tecidos brilhantes e homogêneos de cor creme.

Alterações histológicas

Aquando do exame histopatológico dos gânglios linfáticos verificou-se a presença de população de células neoplásicas, de morfologia redonda, que se organizavam em toalha, alterando a arquitetura típica do órgão, com perda de distinção entre o córtex, paracórtex e medula. As células neoplásicas apresentavam elevado rácio N:C e índice mitótico elevado (Anexo I, Figura 3A e B). Esta população celular está também presente no baço, preenchendo de forma difusa a polpa vermelha e concentrando-se em redor das arteríolas esplénicas (Anexo I, Figura 4). O tecido glandular da tiróide encontrava-se invadido por uma população de células neoplásicas, cujo fenótipo era semelhante ao das células identificadas nas estruturas ganglionares e no baço, observando-se uma alteração muito marcada da sua arquitetura.

No conjunto, o quadro macroscópico e microscópico permitiram identificar uma neoplasia de origem linfóide (linfoma multicêntrico), com metastização bilateral das glândulas da tiróide.

Linfoma

O linfoma é uma neoplasia hematopoiética maligna caracterizada pela proliferação descontrolada de linfócitos em diferentes fases de diferenciação (Jubb, Kennedy & Palmer 2013a). Compreende um grupo heterogêneo de neoplasias que exibem um comportamento biológico distinto dependente do seu subtipo histológico e da sua localização anatômica (Marconato *et al.* 2017; Sayag, Fournel-Fleury & Ponce 2018). É a neoplasia hematopoiética mais comum nos canídeos (Valli *et al.* 2013; Zandvliet 2016), representado 12 a 18% de todas as neoplasias diagnosticadas, nesta espécie (Sayag, Fournel-Fleury & Ponce 2018). Algumas raças como o Basset Hound, Cocker Spaniel, Boxer, Bulldog, Pastor Alemão, Golden Retriever, Galgo Irlandês e Rottweiler têm uma maior predisposição para desenvolver linfoma (Zandvliet 2016; Jagielski *et al.* 2002). Alguns autores referem que raças como o Galgo Irlandês e o Boxer têm maior de risco de desenvolver linfoma das células T, enquanto que o Basset Hound, Cocker Spaniel e Golden Retriever possuem maior risco de desenvolver linfoma das células B (Modiano *et al.* 2005). O linfoma pode ser diagnosticado em qualquer idade, no entanto é mais comum em animais entre os 10 e 11 anos (Zandvliet 2016; Modiano *et al.* 2005).

Os linfomas são classificados de acordo com a sua localização anatômica em: multicêntrico, mediastínico ou tímico, gastrointestinal, cutâneo, ocular e nervoso (Jubb, Kennedy & Palmer 2013c; Cora *et al.* 2016). O linfoma multicêntrico é o mais comum, representando mais de 75% dos casos (Cora *et al.* 2016; Zandvliet 2016). O linfoma do tipo gastrointestinal e do tipo cutâneo representam, respetivamente cerca de 6% dos casos e o linfoma medianístico representa 3% dos casos (Cora *et al.* 2016). Sendo assim, na necrópsia o linfoma pode possuir diferentes apresentações. O quadro lesional típico do linfoma multicêntrico caracteriza-se por linfadenomegalia focal ou generalizada, ao corte os gânglios estão ocupados por tecidos creme, homogêneos, brilhantes de consistência mole. Pode existir hepatoesplenomegalia, ao corte do fígado e do baço é possível observar infiltração neoplásica que se visualiza como lesões brancas circulares de distribuição difusa no parênquima dos órgãos (Jubb, Kennedy & Palmer 2013a). No linfoma gastrointestinal pode-se observar ansas intestinais espessadas, massas intestinais e linfadenomegalia dos gânglios mesentéricos (Gieger 2011). O linfoma cutâneo afeta mais comumente as junções muco-cutâneas (lábios, nariz e pálpebras), observando-se áreas de eritema,

alopécia, hipopigmentação e ulceração (Fontaine, Heimann & Day 2010). O linfoma mediastínico caracteriza-se por linfadenomegalia ao nível dos gânglios mediastínicos, sendo que, ao corte, estes possuem as características macroscópicas já referidas no linfoma multicêntrico (Zachary 2017). Ao nível histológico, em todos os tipos de linfoma, os gânglios linfáticos afetados apresentam arquitetura ganglionar profundamente alterada, não sendo possível distinguir o córtex da medula. São ocupados por células neoplásicas redondas, organizadas em toalha, com atividade mitótica variável (Zachary 2017). No linfoma gastrointestinal, ao exame histopatológico do intestino pode-se observar infiltração difusa da mucosa, submucosa, das camadas musculares e até da serosa intestinal por uma população linfócitos neoplásicos (Gieger 2011). No linfoma cutâneo, ao exame da pele observam-se pústulas intradérmicas constituídas por linfócitos neoplásicos - microabcessos de Pautrier. Pode-se observar moderada acantose, discreta a moderada hiperqueratose e espongiose. Em casos mais avançados é possível observar erosão e ulceração da epiderme (Fontaine, Heimann & Day 2010).

O estadiamento do linfoma é uma importante ferramenta para tornar mais eficaz o seu tratamento e a predição do prognóstico. Em 1980, foi desenvolvida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) um método de estadiamento, que define 5 estádios diferentes, de acordo com a extensão da patologia (Owen 1980). Esses estádios são:

- Estádio I: envolvimento de um único gânglio linfático ou órgão;
- Estádio II: envolvimento dos gânglios linfáticos regionais;
- Estádio III: envolvimento generalizado dos gânglios linfáticos;
- Estádio IV: envolvimento do baço e fígado;
- Estádio V: envolvimento da medula óssea e/ou sangue.

A classificação histopatológica das neoplasias de origem hematopoiética é complexa e diferentes esquemas foram usados no passado (Sayag, Fournel-Fleury & Ponce 2018). A classificação da OMS, publicada em 2002 (Valli, Jacobs & Parodi 2002), categoriza as neoplasias linfóides de acordo com o nível de maturação celular. Foi demonstrado que tem um valor prognóstico significativo em canídeos (Valli *et al.* 2013; Sayag, Fournel-Fleury & Ponce 2018). Para além desta classificação, existe também a classificação de Kiel modificada. Esta classificação baseia-se na distinção entre células B e T (Fournel-Fleury *et al.* 2002) e revelou, igualmente, ter um valor prognóstico significativo em canídeos (Kiupel, Teske & Bostock 1999; Valli *et al.* 2011).

Para classificar o linfoma utilizam-se critérios como:

- Imunofenótipo, que permite a categorização em linfoma de células B ou T. Esta categorização é feita através de colorações imunohistoquímicas. Para identificar

linfomas de células B usam-se anticorpos como o CD20, CD21, CD79 α e PAX-5. Por sua vez, para identificar linfomas de células T usam-se anticorpos como o CD3, CD4 e CD8. Quando a imunofenotipagem é positiva para o anticorpo selecionado, observa-se uma marcação castanha clara no citoplasma celular (Caniatti *et al.* 1996; Zandvliet 2016).

- Padrão de organização celular, pode ser nodular, no qual agregados de células neoplásicas rodeiam folículos germinativos atróficos, formando pequenos nódulos. Pode ser também difuso, no qual as células se organizam em toalha, alterando profundamente a arquitetura do gânglio (Valli *et al.* 2011)
- Tamanho nuclear, que é determinado em comparação com o tamanho de um eritrócito. Desta forma, o núcleo é classificado como pequeno se for 1,5 vezes menor que um eritrócito. É classificado como intermédio se medir entre 1,5 a 2 vezes o tamanho de um eritrócito. E é classificado como grande se medir mais de 2 vezes o tamanho de um eritrócito (Valli *et al.* 2011)
- Morfologia nuclear, os linfócitos podem possuir núcleos de contornos regulares ou núcleos indentados ou até cribiformes (Fournel-Fleury *et al.* 2002)
- Atividade mitótica, a atividade mitótica é determinada pelo número médio de figuras mitóticas em 10 campos de alta ampliação (400x) (Jubb, Kennedy & Palmer 2013a).

Existem inúmeros subtipos de linfoma de acordo com os diferentes sistemas de classificação, o objetivo deste relatório é fazer uma abordagem geral dos mesmos. Os linfomas mais comuns nos canídeos são o linfoma difuso de células grandes do tipo B e o linfoma periférico de células T (Zachary 2017). Entre estes dois tipos de linfomas, os linfomas de células B são mais frequentemente diagnosticados na espécie canina que os de células T (Meuten 2017; Ponce *et al.* 2010; Modiano *et al.* 2005) e têm melhor prognóstico, com maiores taxas de remissão e de sobrevivência, comparativamente aos linfomas de células T (Zandvliet 2016; Kiupel, Teske & Bostock 1999).

Relativamente ao presente caso, a suspeita clínica era leucemia, no entanto o quadro lesional, após o exame de necrópsia e o exame histopatológico foi compatível com um linfoma. O linfoma é uma neoplasia com origem nos tecidos linfóides ganglionares ou extra-ganglionares (Meuten 2017). Apesar disso, como referido anteriormente, o linfoma pode invadir a medula óssea e o sangue, o que pode acontecer em cerca de 55% dos casos (Zandvliet 2016), desta forma a distinção entre leucemia e linfoma torna-se pouco concreta. Sendo assim, em casos de invasão secundária da medula óssea ou do sangue considera-se que o animal se encontra em fase leucémica da

neoplasia primária (Zachary 2017). Este animal poderia encontrar-se na fase leucêmica de um linfoma e, por esse motivo, a citologia realizada à medula óssea ser compatível com um quadro de leucemia. Além destes aspetos, estão reportados no linfoma sinais clínicos como a anemia leve a moderada e trombocitopenia assintomática (Jubb, Kennedy & Palmer 2013) (Zandvliet 2016), o que justificaria as alterações verificadas na analítica, assim como a anorexia e o vômito.

Caso 2

Identificação do animal: canídeo de nome “Cocas”, fêmea não ovário-histerectomizada de raça Cocker Spaniel, 15 anos de idade. Peso: 11,7kg. Condição corporal: magra.

História clínica: Animal com história de tumores da glândula mamária e alterações nos valores analíticos sanguíneos, nomeadamente aumento da ALT (alanina aminotransferase). Posteriormente, foi identificada, por ecografia, uma massa abdominal e lesão mamária envolvendo toda a cadeia mamária do lado esquerdo que foi removida numa mastectomia radical esquerda. Recentemente, iniciou um quadro clínico de anorexia, prostração e dispneia, associado a efusão pleural, por este motivo foi submetido a torcacocentese, tendo sido drenados cerca de 500 mL de líquido serosanguinolento. Dado o estado clínico e o prognóstico reservado procedeu-se à eutanásia.

Alterações macroscópicas

No exame de necrópsia, observou-se uma área de retração cicatricial, na região correspondente à cadeia mamária esquerda, à palpação existiam áreas de consistência semelhante a cartilagem. Na região axilar esquerda observou-se uma lesão ulcerada, de limites irregulares e contornos mal definidos medindo 5,0x4,0 cm. Aquando da exposição do tecido subcutâneo observou-se um hematoma na região axilar esquerda, assim como uma grande deposição de tecido fibroso desde desta região até à região abdominal caudal esquerda, com aderências aos músculos. No exame da glândula mamária direita, nomeadamente em M4, observou-se um massa esférica, de limites bem definidos, contornos regulares, ao corte tinha cor branca e aspeto multilobular.

Observou-se também, linfadenomegalia dos gânglios linfáticos pré-escapulares e axilar direito. Os gânglios linfáticos pré-escapulares apresentavam, ao corte, consistência firme, cor creme e aspeto uniforme. No gânglio linfático axilar direito, observou-se, após secção sagital, uma lesão nodular esférica, com aproximadamente 1,0 cm de diâmetro, constituída por tecidos densos e brancos.

À abertura da cavidade torácica verificou-se a presença de efusão pleural com cerca de 300 mL de volume, caracterizada por líquido serosanguinolento. Observou-se espessamento da pleura parietal, bem como a presença de cerca de 20 a 30 lesões nodulares, cada uma medindo cerca de 0,5 cm de diâmetro. Ao corte, apresentavam consistência firme, cor creme e aspeto homogêneo. No pulmão observou-se, igualmente a existência de lesões nodulares, medindo aproximadamente 0,5 cm de diâmetro.

Ao exame do fígado observou-se uma massa no lobo lateral esquerdo, de limites bem definidos, contornos regulares, medindo 9,0x8,0x2,5 cm. Ao corte, apresentava consistência e cor semelhante ao restante parênquima hepático. Ao exame do baço observou-se uma massa esplênica roturada com coágulo aderido à sua superfície. A massa tinha forma esférica, limites bem definidos e contornos regulares, medindo 9,0x9,0x5,0 cm.

Alterações histológicas

Ao exame histológico observaram-se as seguintes alterações:

Na lesão da glândula mamária verificou-se proliferação de população de células neoplásicas de origem epitelial, com organização tubulopapilar (Anexo II, Figura 5A). As células neoplásicas possuem abundante citoplasma eosinofílico, núcleos ovais, com nucléolos evidentes, e elevada atividade mitótica. As células neoplásicas adotam um comportamento infiltrativo e invadem a derme superficial (Anexo II, Figura 5B), sendo visíveis no interior de estruturas vasculares linfáticas (Anexo II, Figura 6). Na derme verifica-se extensa fibrose. Na epiderme observa-se uma área ulcerada.

Nos gânglios linfáticos (Anexo II, Figura 7A), no pulmão (Anexo II, Figura 7B) e no fígado (Anexo II, Figura 8) observaram-se áreas multifocais, caracterizadas por população de células com fenótipo idêntico às células neoplásicas identificadas na lesão da glândula mamária

Pelo quadro lesional macroscópico e as características histopatológicas identificadas, trata-se de um carcinoma mamário inflamatório com invasão vascular e metastização ganglionar, pulmonar, pleural e hepática.

Carcinoma mamário inflamatório

As neoplasias da glândula mamária são a entidade neoplásica mais comum nas cadelas inteiras (Schneider, Dorn & Taylor 1969), representando mais de 40% das neoplasias diagnosticadas nestes animais (Sorenmo 2003; Vascellari *et al.* 2016). Entre 30 a 50% destas

neoplasias são malignas (Vascellari *et al.* 2016). As glândulas mamárias caudais (M4 e M5) são mais frequentemente afetadas que as glândulas mamárias craniais (Sorenmo 2003).

São múltiplos os fatores que podem influenciar o desenvolvimento de neoplasias mamárias em cadelas inteiras, entre eles a idade e a exposição hormonal. A maioria das neoplasias mamárias são diagnosticadas entre os 8 e 11 anos de idade (Vascellari *et al.* 2016; Sorenmo 2003; Alenza *et al.* 2000), porém, podem ocorrer em cadelas mais jovens e, nestes casos, as neoplasias diagnosticadas são normalmente benignas (Alenza *et al.* 2000). O tipo de raça também está relacionado com o desenvolvimento de neoplasias mamárias. Deste modo, animais de raça pura como o Caniche, Cocker Spaniel e o Pastor Alemão possuem um maior risco de desenvolver neoplasia mamária. Contrariamente ao que sucede com os animais de raça indeterminada, que possuem um menor risco de desenvolvimento da doença (Vascellari *et al.* 2016; Sorenmo 2003; Alenza *et al.* 2000; Salas *et al.* 2015). Este facto suporta a hipótese de a componente genética ter um papel preponderante na patogénese das neoplasias mamárias. O papel da exposição hormonal na patogénese destas neoplasias é bem conhecido. Diversos estudos suportam a evidência que a ovário-histerectomia (OVH) realizada antes do primeiro cio reduz o risco de desenvolvimento de neoplasias mamárias para 0,5%, realizada entre o primeiro cio e o segundo cio para 8% e após de dois ou mais cios para 26% (Schneider, Dorn & Taylor 1969; Sorenmo 2003; Alenza *et al.* 2000). No entanto, a realização de OVH após o diagnóstico de neoplasia mamária não tem efeito na progressão da doença, nem na esperança média de vida do animal (Schneider, Dorn & Taylor 1969; Alenza *et al.* 2000). Ainda assim, alguns autores reportam que cadelas submetidas a OVH após o diagnóstico de neoplasia mamária têm maior esperança média de vida que as cadelas que não são submetidas a este procedimento cirúrgico (Sorenmo, Shofer & Goldschmidt 2000; Kristiansen *et al.* 2016). A administração de terapêuticas hormonais para prevenir o cio ou tratar pseudogestações aumenta o risco de desenvolvimento de neoplasias mamárias (Sorenmo 2003; Alenza *et al.* 2000). Outro fator que influencia o desenvolvimento de neoplasias mamárias é a obesidade. Sabe-se que cadelas obesas, principalmente em idade jovem, apresentam um maior risco de desenvolver neoplasia mamária (Alenza *et al.* 2000; Sorenmo 2003). O excesso de gordura corporal altera o metabolismo das hormonas sexuais esteróides, porque os adipócitos são uma fonte importante de testosterona, que irá contribuir para o aumento da síntese de estrogénio e, consequentemente para o aumento da sua concentração sérica (Salas *et al.* 2015). Dietas com elevado teor de proteína e baixo teor de gordura parecem diminuir o risco de desenvolvimento de neoplasia mamária (Sorenmo 2003). A origem da proteína consumida também parece ter uma relação com o desenvolvimento de neoplasias mamárias. Sendo que o consumo de dietas com

excesso de carnes de porco e de vaca aumenta o risco de desenvolver a patologia (Alenza *et al.* 2000; Sorenmo 2003). A pseudogestação, o número de partos e crias, assim como tamanho da ninhada parecem não afetar o risco de desenvolvimento de neoplasia mamária (Schneider, Dorn & Taylor 1969; Alenza *et al.* 2000).

Quanto ao prognóstico, os tumores mamários podem ser influenciados por múltiplos fatores tais como: a idade ao diagnóstico, tamanho do tumor, tipo de crescimento, invasão vascular e metástases ganglionares, tipo e grau histológico, grau de diferenciação tumoral, entre outros (Sorenmo 2003; Jubb, Kennedy & Palmer 2013c). Relativamente à idade, animais com maior idade ao diagnóstico têm uma menor esperança de vida (Sorenmo 2003; Alenza *et al.* 2000). Quanto ao tamanho dos tumores mamários, tumores com menos de 3 cm de diâmetro apresentam um melhor prognóstico do que os tumores que possuem mais de 3 cm de diâmetro (Sorenmo 2003). No que concerne o seu comportamento biológico, neoplasias com crescimento infiltrativo, mal delimitadas, assim como neoplasias com invasão vascular e ganglionar têm um prognóstico negativo (Jubb, Kennedy & Palmer 2013c; Alenza *et al.* 2000). Relativamente ao tipo histológico, sabe-se que os carcinomas sólidos e os carcinomas simples são os que possuem uma maior capacidade de metastização e uma maior taxa de recorrência, traduzindo-se num mau prognóstico (Peña *et al.* 2013).

As neoplasias mamárias constituem um grupo lesional heterogêneo, com apresentação e comportamento biológico diferente entre si. Os tumores mamários podem ser considerados benignos ou malignos. De uma forma geral, os critérios que se aplicam para esta diferenciação são: limites da lesão, margens da lesão, presença de áreas de necrose, pleomorfismo nuclear e celular, atividade mitótica, presença de imagens compatíveis com invasão vascular e ganglionar (Goldschmidt *et al.* 2011; Meuten 2017). A classificação dos tumores mamários compreende 4 categorias. Desta forma, os tumores simples, são caracterizados pela presença de pelo menos um componente epitelial ou mioepitelial. Já os tumores complexos, apresentam uma componente epitelial e outra mioepitelial. Os tumores mistos, além da componente epitelial e mioepitelial, são caracterizados por possuírem uma componente mesenquimatosa. Por fim, os tumores mamários podem apenas ser caracterizados pela presença de células com origem mesenquimatosa, sendo designados sarcomas (Misdorp *et al.* 1999; Goldschmidt *et al.* 2011). A classificação mais utilizada atualmente pelos patologistas veterinários, data de 1999, tendo sido publicada sob a égide da OMS (Misdorp *et al.* 1999). Em 2011, Goldschmidt e colegas propuseram um novo sistema de classificação, que contempla novos tumores, nomeadamente o carcinoma mamário inflamatório (Goldschmidt *et al.* 2011). A par da classificação dos tumores da glândula mamária, a utilização

de sistemas de gradação é essencial aquando do diagnóstico histopatológico, tendo em conta o potencial no prognóstico do animal. Assim, os dois principais sistemas de classificação ou gradação utilizados são o *Nottingham Histological Grade* (NHG) e o sistema baseado neste, mas adaptado aos tumores da glândula mamária da cadela - *canine adapted Nottingham Histological Grade* (ca-NHG) (Elston & Ellis 1991; Peña *et al.* 2013). Ambas as classificações se baseiam em três critérios: na formação de túbulos, pleomorfismo nuclear e na atividade mitótica (Misdorp *et al.* 1999; Goldschmidt *et al.* 2011).

O carcinoma inflamatório (CI) é uma entidade clínica rara, reconhecida recentemente, uma vez que não se encontra descrita na classificação da autoria de Misdorp e colaboradores (Misdorp *et al.* 1999). Esta neoplasia é caracterizada por um desenvolvimento rápido, com inflamação exuberante da glândula mamária, podendo haver ou não nódulos mamários (Goldschmidt *et al.* 2011). Esta entidade está descrita na mulher e tem um prognóstico extremamente negativo, a cadela é a única outra espécie animal em que está descrito o mesmo tipo neoplasia (Peña *et al.* 2003). Os sinais clínicos mais comuns incluem: eritema, aumento da temperatura e da consistência do tecido mamário, dor (91% dos casos), formação de massas cutâneas (70% dos casos), linfadenomegalia regional (63% dos casos), edema dos membros pélvicos (58% dos casos) e presença de massas mamárias (12% dos casos) (Marconato *et al.* 2009). A idade média ao diagnóstico é de 10,5 anos (Marconato *et al.* 2009), sendo que as cadelas diagnosticadas com o CI são significativamente mais velhas que as diagnosticadas com outras neoplasias mamárias (Pérez Alenza, Tabanera & Peña 2001). Ao diagnóstico, na radiografia torácica, observam-se metástases pulmonares em cerca de 32% dos animais. Enquanto que, nas restantes neoplasias mamárias apenas 12% dos animais apresentam metástases pulmonares, quando sujeitos a exame radiográfico do tórax (Pérez Alenza, Tabanera & Peña 2001). Ao exame dos gânglios linfáticos regionais, axilares e inguinais, verifica-se que 42% dos animais apresentam metástases nestes órgãos (Marconato *et al.* 2009). O CI é classificado em CI primário, no qual os sinais se desenvolvem sem existir história de neoplasia mamária primária e em CI secundário, no qual os sinais se desenvolvem após a excisão cirúrgica de uma lesão neoplásica prévia (Pérez Alenza, Tabanera & Peña 2001). O CI primário tem pior prognóstico que o secundário, no entanto o CI secundário é o mais comum (Marconato *et al.* 2009; Pérez Alenza, Tabanera & Peña 2001). Relativamente à esperança média de vida após o diagnóstico de CI, sabe-se que esta é muito baixa, apresentando um valor de cerca de 30 dias (Marconato *et al.* 2009). Ao nível do exame histopatológico a característica que confirma o diagnóstico de CI é a presença de êmbolos neoplásicos nos vasos linfáticos da derme superficial (Goldschmidt *et al.* 2011; Peña *et al.* 2003). O CI não é

caracterizado por um tipo exclusivo de neoplasia mamária. Portanto, no exame histopatológico, podem-se observar distintos tipos de carcinoma: sólido, tubular, adenoescamoso, carcinoma rico em lípidos e carcinoma anaplásico (Peña *et al.* 2003; Pérez Alenza, Tabanera & Peña 2001). Num estudo conduzido por Peña e colaboradores, todos os CI foram classificados como de grau III. Metade dos casos apresentavam pleomorfismo nuclear marcado. Relativamente à atividade mitótica, 70% dos casos apresentam elevada atividade mitótica, com presença de mitoses atípicas. Em cerca de 80% dos casos observava-se invasão da derme por células neoplásicas. A invasão vascular foi observada, em cerca de 74% dos casos (Peña *et al.* 2003). Estas características, típicas de uma neoplasia agressiva, são mais um fator que piora o prognóstico desta patologia.

O CI é uma patologia de evolução rápida e com prognóstico reservado, o facto de ser, diversas vezes, diagnosticado como dermatite ou mastite complica a eficácia dos tratamentos, uma vez que atrasa o diagnóstico e possíveis intervenções cirúrgicas (Marconato *et al.* 2009). O exame histopatológico é essencial para o seu diagnóstico e tratamento atempado.

Caso 3

Identificação do animal: felídeo, fêmea ovário-histerectomizada de raça Europeu Comum, sénior. Peso: 2,3kg. Condição corporal: normal.

História clínica: Animal submetido a cirurgia para tratamento de um abscesso dentário, que no período peri-operatório iniciou um quadro convulsivo e paragem cardiorrespiratória não reversível.

Alterações macroscópicas

Ao exame de necrópsia e após a abertura da cavidade torácica verificou-se efusão pleural, com cerca de 50mL de volume, caracterizada por líquido serosanguinolento. Identificou-se também uma massa mediastínica aderida à traqueia distal, esófago, pericárdio, ao brônquio esquerdo e lobo pulmonar cranial esquerdo. Ao corte, a massa apresentava consistência firme, aspeto multilobular e cor creme, medindo 6,5x4,5x2,0cm nas suas maiores dimensões (Anexo III, Figura 9).

Ao exame do sistema urinário verificou-se que os rins descapsulavam facilmente, após secção sagital observou-se que a pélvis renal estava hemorrágica. Observou-se, igualmente um halo de cor branca na transição entre a medula e a pélvis renal.

Ao exame do encéfalo observou-se congestão dos vasos.

Alterações histológicas

No exame histológico observaram-se as seguintes alterações: no pulmão identifica-se lesão neoplásica (Anexo III, Figura 10B) constituída por células epiteliais colunares que revestem os espaços alveolares, e se organizam predominantemente em ácinos e papilas, e noutras áreas em padrão sólido (Anexo III, Figura 11A). As células neoplásicas apresentam núcleos redondos a ovóides, vesiculados, marcada anisocariose e nucléolos evidentes e elevada atividade mitótica (Anexo III, Figura 11B). A massa tem limites indistintos, invadindo a mucosa traqueal (Anexo III, Figura 10A).

No córtex cerebral observou-se um foco de células com fenótipo idêntico às identificadas na massa pulmonar (Anexo III, Figura 12A e B). Observam-se, igualmente áreas focais de hemorragia.

O quadro lesional apresentado e as alterações histopatológicas permitiram diagnosticar um adenocarcinoma pulmonar pouco diferenciado com metastização aos gânglios linfáticos mediastínicos, traqueia e encéfalo. Foi igualmente possível diagnosticar, a nível renal, uma lesão compatível com necrose da crista medular.

Adenocarcinoma pulmonar

Os tumores pulmonares primários (TPP) são raros nas espécies domésticas, sendo mais comuns no cão e no gato, uma vez que são espécies que possuem maior longevidade (Moulton, Tscharner & Schneider 1981). Ainda assim, são neoplasias pouco comuns nos felídeos, reportando-se uma incidência anual de cerca 2,2 em 100 mil gatos (Barr *et al.* 1987; Goldfinch & Argyle 2012). Num estudo levado a cabo por D'Costa e colegas, em 2012, a incidência de TPP num hospital universitário era de 0,69% (D'Costa *et al.* 2012). Em 1981, Moulton e colaboradores, reportavam uma incidência de 0,50% na Europa e América do Norte (Moulton, Tscharner & Schneider 1981). Estes valores suportam a tese, defendida há cerca de 30 anos atrás, que a incidência de TPP tem vindo a aumentar (Moulton, Tscharner & Schneider 1981). Pensa-se que o aumento da esperança média de vida dos animais possa ser um dos principais fatores a influenciar este incremento (Barr *et al.* 1987; Goldfinch & Argyle 2012). Contudo, no Homem tem-se observado um aumento na incidência de TPP associado a poluentes atmosféricos e ao fumo do tabaco (Goldfinch & Argyle 2012). Alguns autores defendem que o aumento da incidência de TPP nos animais se deve aos mesmos fatores reportados no Homem (Moulton, Tscharner & Schneider 1981).

Aproximadamente 85% dos TPP são diagnosticados em animais com pelo menos 10 anos de idade (D'Costa *et al.* 2012), sendo que a idade média ao diagnóstico se situa nos 12 anos (Moulton, Tscharnier & Schneider 1981; Barr *et al.* 1987; Goldfinch & Argyle 2012).

Os sinais clínicos são muito variáveis incluindo perda de peso, letargia, dispneia, tosse, entre outros. Outros sinais apresentados podem estar relacionados com os órgãos alvo de metástases, como cegueira, vômitos, claudicação e ataxia (Goldfinch & Argyle 2012). Comumente, nos felídeos, os sinais de doença só são detectados no curso final da neoplasia, quando as metástases já são extensas, o que piora o prognóstico do TPP nestes animais (Maritato *et al.* 2014; Goldfinch & Argyle 2012). Relativamente à localização, o pulmão direito e os lobos pulmonares caudais são mais frequentemente afetados pelo TPP (Hahn & McEntee 1998; Maritato *et al.* 2014).

Em 1998, Hahn e McEntee, realizaram um estudo onde se procurou determinar a existência de uma associação entre vários fatores, tais como a raça, idade, sexo, peso, tipo de sinais clínicos e sua duração, achados radiográficos e tipo histológico e grau de diferenciação do tumor, com o tempo de sobrevivência. A conclusão obtida foi que o grau de diferenciação do tumor é o único fator prognóstico com associação significativa ao tempo de sobrevivência (Hahn & McEntee 1998). Esta conclusão é corroborada por Maritato e colaboradores. Deste modo, existe uma associação significativa entre o grau de diferenciação tumoral e o intervalo de sobrevivência sendo que felídeos que apresentam tumores bem diferenciados têm intervalos de sobrevivência mais longos do que os animais com tumores pobremente diferenciados (Maritato *et al.* 2014). Parece também haver uma relação entre o tamanho do tumor e a sua capacidade de metastização, sendo que tumores com menos de 1 cm de diâmetro não metastizam à distância, desta forma o tamanho do tumor primário poderá ser um fator de prognóstico (D'Costa *et al.* 2012). No Homem e nos canídeos, o tamanho dos gânglios linfáticos traqueobrônquicos é um fator prognóstico associado com o tempo de sobrevivência (Maritato *et al.* 2014). Assim, este poderá ser um fator com bom valor prognóstico, também em felídeos, contudo, são necessários mais estudos para comprovar o seu valor (Maritato *et al.* 2014). A raça, o sexo e o peso do animal não influenciam o prognóstico deste tipo de neoplasias (Hahn & McEntee 1998; Maritato *et al.* 2014).

Os TPP podem ser de origem epitelial ou mesenquimatosa, sendo que os tumores de origem epitelial são os mais comuns (Zachary 2017; D'Costa *et al.* 2012). De acordo com a classificação dos tumores do sistema respiratório preconizada pela OMS, os TPP epiteliais são classificados com base na sua morfologia e nas células que os originaram. Desta forma, existem TPP benignos, como o adenoma e o papiloma, e TPP malignos como o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas, o carcinoma broncoalveolar, o carcinoma de células pequenas, entre outros

(Dungworth *et al.* 1999). De entre os tipos histológicos de TPP, o adenocarcinoma é o mais comumente diagnosticado em felídeos, correspondendo a 60 a 80% da totalidade dos casos. Em segundo lugar surge o carcinoma broncoalveolar, representando 10 a 20% dos casos. Em terceiro lugar encontra-se o carcinoma de células escamosas, representando 10 a 15% dos casos reportados (Moulton, Tscharnner & Schneider 1981; Hahn & McEntee 1998; Maritato *et al.* 2014; D'Costa *et al.* 2012). No que concerne ao adenocarcinoma, este pode ter organização papilar, acinar ou sólida (D'Costa *et al.* 2012), sendo que os padrões papilar e acinar estão presentes em cerca de 90% dos casos (Maritato *et al.* 2014). O adenocarcinoma pode ainda ser subclassificado em bem diferenciado ou indiferenciado. O adenocarcinoma bem diferenciado caracteriza-se por possuir glândulas bem formadas com aspeto tubular ou acinar, revestidas por uma ou duas camadas de epitélio colunar, formando papilas suportadas por tecido conjuntivo. As células apresentam núcleos basais e ocorre, por vezes a produção de mucina. O adenocarcinoma indiferenciado caracteriza-se por possuir glândulas de aspeto irregular, com vários tamanhos e formas, revestidas por epitélio colunar a cubóide organizado, por vezes, em papilas. As células epiteliais, que perdem a polaridade nuclear, apresentam elevada anisocitose, anisocariose e atividade mitótica (Moulton, Tscharnner & Schneider 1981).

Independentemente do tipo histológico, aproximadamente 80% dos TPP metastizam para outros órgãos (D'Costa *et al.* 2012). As metástases intrapulmonares são as mais comuns, surgindo em cerca de 70% dos casos, seguidas pela metastização para a pleura, gânglios linfáticos regionais, dígitos, músculo esquelético, fígado, baço, coração, encéfalo, rim, olho, intestino, osso e adrenal (D'Costa *et al.* 2012; Goldfinch & Argyle 2012). No Homem, está descrita a ocorrência de metástases de TPP para o encéfalo em 10% dos doentes (West & Shaw 2018). Nos felinos conhece-se apenas um estudo, realizado em 160 animais com neoplasia intracraniana, que revela que 5,6% das neoplasias cerebrais secundárias têm origem em metástases de adenocarcinoma pulmonar (Troxel *et al.* 2003). Em 2018, Crespo e colaboradores descreveram um caso clínico de um gato com 6 anos de idade, com alterações neurológicas e comportamentais súbitas. Após vários exames o animal foi diagnosticado com um adenocarcinoma pulmonar com metastização para as meninges e encéfalo. Pensa-se que, nestes casos a via hematógena seja a principal forma de invasão do encéfalo (Crespo *et al.* 2018). A presença de metástases no encéfalo, ou em qualquer outro órgão, resulta num prognóstico reservado, conduzindo, na maioria das vezes, à eutanásia do animal (Crespo *et al.* 2018; Troxel *et al.* 2003).

Caso 4

Identificação do animal: Canídeo, fêmea não ovário-histerectomizada cruzada de Chihuahua, sênior. Peso: 2,5kg. Condição corporal: magra.

História clínica: Suspeita clínica de insuficiência renal crônica.

Alterações macroscópicas

No exame de necrópsia, após a abertura da cavidade abdominal, observou-se uma massa envolvendo o fígado, pâncreas e duodeno, infiltrava o parênquima hepático, vesícula biliar e pâncreas e comprimia o duodeno. Ao corte, a massa possuía consistência firme, aspeto multilobular coloração amarela, contornos irregulares e limites indistintos. No fígado foram encontradas 5 massas salientes e umbilicadas, medindo entre 0,5 cm e 2 cm de diâmetro, de coloração amarela, que ao corte apresentavam tecidos sólidos ou exsudavam um material viscoso amarelado.

Ao exame das adrenais observaram-se duas massas, no córtex adrenal, de cor amarela, limites bem definidos e contornos regulares que ao corte possuíam consistência mole.

À abertura do coração observou-se uma diminuição da espessura da parede livre do ventrículo esquerdo e do septo interventricular, com aumento do diâmetro da cavidade ventricular. Além disto, observou-se espessamento multinodular da válvula mitral, sendo que a sua superfície se apresentava lisa e brilhante.

À abertura do aparelho genital, observou-se na mucosa vaginal, uma massa esférica, de limites bem definidos, contornos regulares, medindo cerca de 0,5 cm de diâmetro. Ao corte possuía consistência de “borracha dura” e tecidos uniformes de cor creme.

Alterações histológicas

No exame histopatológico observou-se a massa principal que possui limites indistintos constituída por células epiteliais com origem no epitélio dos ductos biliares (Anexo IV, Figura 13A), organizando-se em ácinos e túbulos, contendo no seu interior vestígios de mucina (Anexo IV, Figura 13B). As células neoplásicas, de morfologia colunar, apresentavam núcleo basal e nucléolos pouco evidentes e citoplasma abundante fortemente eosinófilo com pequenas vesículas de mucina. Noutras áreas do tumor, as células apresentam maior pleomorfismo, possuindo citoplasma escasso e núcleos grandes basófilos, organizando-se em toalha entre trabéculas de tecido conjuntivo (Anexo IV, Figura 13B e 14B). Visualiza-se uma área focal de necrose central. A massa principal invade o pâncreas, o mesentério e a parede do duodeno (Anexo IV, Figura 14A).

Perante os achados macroscópicos e as alterações histopatológicas observadas foi diagnosticado um carcinoma colangiocelular maioritariamente bem diferenciado, com metastização para o pâncreas, mesentério e duodeno. Foi igualmente possível diagnosticar, a nível da glândula adrenal, uma lesão compatível com hiperplasia cortical. Relativamente ao coração, foi possível diagnosticar um conjunto de lesões compatíveis com um quadro de cardiomiopatia dilatada e endocardiose da válvula mitral. Finalmente, na vagina foi possível diagnosticar uma lesão compatível com um leiomioma.

Carcinoma colangiocelular

Os tumores hepáticos primários (THP) são raros nos animais domésticos, sendo que nos canídeos representam cerca de 0,6 a 2,6% das neoplasias (Balkman 2009; Magne & Withrow 1985; Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980). As neoplasias hepáticas secundárias, originárias de metástases de neoplasias localizadas noutros órgãos, são mais comuns ocorrendo em aproximadamente 40% dos casos (Balkman 2009). Os THP podem ter origem nos hepatócitos como o adenoma hepatocelular e o carcinoma hepatocelular. Podem também ter origem no epitélio dos ductos biliares, como o adenoma colangiocelular e o carcinoma colangiocelular. É possível terem ainda, origem nas células neuroendócrinas, designando-se por carcinoide hepático. Também poderão ter origem nas células mesenquimatosas do estroma hepático, designando-se por sarcomas (Balkman 2009; Zachary 2017). Na espécie canina, os carcinomas hepatocelulares são os mais comuns representando entre 60 a 70% dos casos de THP (Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980; van Sprundel *et al.* 2014; Cullen 2016). Seguem-se os carcinomas colangiocelulares que representam cerca de 25% dos casos (Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980; van Sprundel *et al.* 2014). Os carcinoides e os sarcomas hepáticos primários são raros (Balkman 2009). A etiologia dos THP nos animais domésticos ainda não está esclarecida, ao contrário do que acontece no Homem, em que há uma associação direta entre infeção vírica ou parasitismo e o desenvolvimento de neoplasia (Cogliati *et al.* 2010; Cullen 2016). Não obstante, alguns autores defendem que a exposição a certos químicos como as aflatoxinas e as nitrosaminas possa despoletar o desenvolvimento dos THP (Cogliati *et al.* 2010; Cullen 2016). A idade média dos animais diagnosticados com THP é de pelo menos 10 anos de idade (Trigo *et al.* 1982; Kinsey *et al.* 2015; Cullen 2016). Não existe predisposição racial para o desenvolvimento de THP (Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980; Balkman 2009). Relativamente ao sexo, alguns estudos reportam uma maior prevalência do carcinoma hepatocelular em machos e do carcinoma colangiocelular em fêmeas (Cogliati *et al.* 2010; Patnaik *et al.* 1981). No entanto, outros estudos não referem qualquer

associação entre o sexo e o tipo de neoplasia hepática (Trigo *et al.* 1982; van Sprundel *et al.* 2014). Os sinais clínicos, mais comuns, apresentados por animais diagnosticados com THP são inespecíficos, incluindo anorexia, letargia, perda de peso e vômitos (Kinsey *et al.* 2015). Esta inespecificidade dificulta o diagnóstico, e o tratamento atempado destas neoplasias que, por este motivo, possuem um prognóstico reservado (Cullen 2016).

Relativamente à sua localização no fígado, alguns autores referem que os THP afetam mais frequentemente o lobo hepático esquerdo (Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980; Patnaik *et al.* 1981; Magne & Withrow 1985), a razão pela qual um dos lobos é mais afetado não é clara. O lobo hepático esquerdo representa um terço a metade do volume hepático. Pensa-se, portanto, que o seu maior volume possa ser o motivo pelo qual a frequência de THP é maior neste lobo (Cullen 2016). O principal objetivo neste relatório é descrever e distinguir o carcinoma hepatocelular (CH) e o carcinoma colangiocelular (CC). Os CH caracterizam-se por massas solitárias grandes com superfície multinodular irregular, envolvendo normalmente um lobo hepático. Possuem coloração amarela acastanhada e uma textura friável à manipulação (Cullen 2016; Zachary 2017). Na imagem microscópica, o padrão histológico mais comum é o trabecular, no qual as células neoplásicas se organizam em trabéculas formadas por 2 a 6 células de espessura (Jubb, Kennedy & Palmer 2013b; Cogliati *et al.* 2010). As células neoplásicas são morfológicamente semelhantes a hepatócitos maduros, possuindo núcleos redondos centrais e citoplasma eosinófilo abundante. Nos CH indiferenciados pode ser observado maior pleomorfismo celular (Cullen 2016). Quanto às figuras mitóticas, estas são raras em CH bem diferenciados (Jubb, Kennedy & Palmer 2013b). Normalmente, observa-se uma reduzida quantidade de tecido conjuntivo. Relativamente à taxa de metastização, de acordo com vários estudos o CH pode ter uma taxa de metastização à distância de 25 a 60%, sendo que os locais mais frequentemente afetados são os gânglios linfáticos regionais, o pulmão e o peritoneu (Patnaik, Hurvitz & Lieberman 1980; Balkman 2009).

Os carcinomas colangiocelulares (CC) têm mais frequentemente origem nos ductos biliares intrahepáticos, do que nos ductos extrahepáticos ou na vesícula biliar (Patnaik *et al.* 1981; Cullen 2016; Zachary 2017). Ao exame macroscópico, pode-se observar uma só massa, sendo mais comum a presença de massas multifocais, salientes na superfície hepática, de aparência umbilicada, cor amarela pálida e consistência firme. Estas lesões são ainda caracterizadas por possuírem limites bem definidos e por exsudarem um material viscoso ao corte (Zachary 2017; Cullen 2016). Estas características macroscópicas permitem distinguir, muito claramente, o carcinoma colangiocelular do carcinoma hepatocelular. No entanto, o exame histopatológico não deve ser descurado. A nível microscópico, os CC bem diferenciados organizam-se em ácinos e

túbulos revestidos por células epiteliais cubóides a colunares, com moderada quantidade de citoplasma eosinófilo vacuolizado, os núcleos são pequenos e regulares com nucléolos que podem ser ou não visíveis (Jubb, Kennedy & Palmer 2013b; Cullen 2016). Os CC indiferenciados são constituídos por ilhas ou cordões de células pleomórficas, podendo-se observar diferenciação escamosa e áreas focais de necrose (Cullen 2016). É comum observarem-se áreas indiferenciadas, com distribuição multifocal, em tumores maioritariamente bem diferenciados (Jubb, Kennedy & Palmer 2013b). Observam-se numerosas figuras de mitose, ao contrário do que sucede com o CH (Cullen 2016). Os túbulos ou ácinos não contêm biliar, mas sim mucina. A mucina é fracamente basofílica em hematoxilina-eosina (HE) e cora de azul com o corante Azul de Alcian, comprovando a sua natureza ácida (pH=2,5) (Trigo *et al.* 1982; Cullen 2016). A componente epitelial do CC é separada por tecido conjuntivo, sendo que a sua quantidade é variável de tumor para tumor. Porém, a intensa deposição de colagénio, denominada reação esquirrótica, é comum, sendo responsável pela característica consistência firme do tumor (Cullen 2016; Jubb, Kennedy & Palmer 2013b; Zachary 2017). A metastização à distância é mais comum que no CH e ocorre em cerca de 88% dos casos, principalmente para os gânglios linfáticos regionais, pulmão e peritónio (Patnaik *et al.* 1981). A metastização intrahepática pode ocorrer, mas não é possível distinguir se as massas são efetivamente de origem metastática (Cullen 2016). Os adenomas colangiocelulares distinguem-se do CC, por possuírem uma população celular bem diferenciada, ausência de invasão do parênquima hepático adjacente e pelo reduzido número de mitoses (Cullen 2016).

A típica organização em túbulos e ácinos revestido por células epiteliais semelhantes às que revestem os ductos biliares, a elevada frequência de mitoses, a presença de mucina e a deposição de colagénio são critérios que permitem distinguir um carcinoma colangiocelular de um carcinoma hepatocelular (Cullen 2016).

Caso 5

Identificação do animal: Canídeo, macho não orquiectomizado de raça indeterminada, sénior. Peso 6,2kg. Condição corporal: normal.

História clínica: Sem informação.

Alterações macroscópicas

Ao exame de necrópsia, à abertura da cavidade oral, observou-se uma massa multinodular de carácter infiltrativo, de cor negra, no lado direito da arcada dentária superior, ocupando cerca de 2/3 da maxila e 1/3 do palato duro. Esta massa infiltrava a gengiva e a mucosa labial. A massa possuía consistência mole, limites indistintos e contornos irregulares. Observaram-se igualmente 4 pequenas massas, medindo cerca de 1 cm de diâmetro cada, com as mesmas características na mandíbula, onde se verificou osteólise e perda de dentes (Anexo V, Figura 15).

Linfadenomegalia dos gânglios linfáticos sub-mandibulares, retrofaríngeos e mediastínicos que apresentavam, ao corte, consistência mole e cor negra. Foram identificados, à abertura da cavidade torácica, cerca de 10 a 20 nódulos com 1 cm de diâmetro, de cor negra e aspeto brilhante nos pulmões e na pleura parietal. No miocárdio observaram-se 2 nódulos, com cerca de 0,5 cm de diâmetro, com mesmo aspeto dos nódulos pulmonares e pleurais. No pâncreas observaram-se 5 nódulos, com cerca de 0,5 cm de diâmetro, com as mesmas características.

Alterações histológicas

No exame histopatológico da massa oral verificou-se a existência de uma população celular neoplásica, constituída por células poliédricas a fusiformes, com citoplasma repleto de pigmento granular, compatível com melanina, que oculta frequentemente os núcleos. As células neoplásicas com citoplasma não granular apresentavam um citoplasma basófilo (Anexo V, Figura 16A). Observaram-se ainda frequentes células multinucleadas, com núcleos grandes e nucléolos evidentes, evidenciando uma atividade mitótica elevada (anexo V, figura 16B). No pulmão e nos gânglios linfáticos observaram-se focos de melanócitos com atipia citológica idêntica aos reportados na massa oral.

O quadro lesional e as alterações apresentadas são características de um melanoma oral, com metastização nos gânglios regionais, pulmão, pleura parietal, miocárdio e pâncreas.

Melanoma oral

Os melanomas são neoplasias malignas com origem nos melanócitos (Jubb, Kennedy & Palmer 2013a). São uma das neoplasias cutâneas mais diagnosticadas na espécie canina, (Bergman 2007; Ramos-Vara *et al.* 2000) é a neoplasia oral mais frequentemente diagnosticada, em conjunto com os carcinomas de células escamosas (Bergman 2007; Brønden, Eriksen & Kristensen 2009). São mais frequentes em animais com mais de 10 anos de idade e não parece existir uma predisposição sexual para o desenvolvimento da patologia (Spangler & Kass 2006; Meuten 2017). Entre as raças mais afetadas encontram-se o Cocker Spaniel, o Chow Chow, o Schnauzer, o Shar Pei e o Golden Retriever (Meuten 2017; Ramos-Vara *et al.* 2000). Geralmente, animais com pele e mucosa oral fortemente pigmentada apresentam maior risco de desenvolver o tumor (Ramos-Vara *et al.* 2000; Nishiya *et al.* 2016).

São diversos os fatores que influenciam a gênese do melanoma, como a exposição a químicos, predisposição genética e a exposição à luz ultravioleta, nas áreas que sofrem exposição solar frequente (Nishiya *et al.* 2016).

Os melanomas podem surgir em diferentes localizações anatómicas e metastizam frequentemente para os gânglios linfáticos regionais, pulmão, coração e encéfalo (Ramos-Vara *et al.* 2000; Nishiya *et al.* 2016). Relativamente à localização do melanoma, este pode se desenvolver na cavidade oral (gengivas, língua, palato e faringe), nas junções muco-cutâneas (lábios), nos dígitos, na pele (tronco, pálpebras, escroto e cabeça) e nos olhos (Spangler & Kass 2006). Vários autores referem que a localização do tumor é um fator de prognóstico, e portanto, os tumores localizados na cavidade oral são altamente malignos, seguidos pelos tumores localizados nas junções muco-cutâneas e tumores dos dígitos, sendo os melanomas localizados na pele os menos malignos (Bergman 2007; Nishiya *et al.* 2016; Ramos-Vara *et al.* 2000; Millanta *et al.* 2002). De facto, animais com melanomas orais têm tempos de sobrevivência inferiores, comparativamente aos animais com melanomas cutâneos ou melanomas digitais (Bostock 1979). Contudo, alguns autores discordam que a associação entre a localização e a malignidade do tumor seja significativa. Num estudo conduzido em 384 canídeos diagnosticados com melanocitoma ou melanoma, observaram-se 74 casos de melanoma oral. Destes casos, 32% (22/74) não apresentavam características de malignidade, de acordo com os critérios dos autores (ausência de recorrência, ausência de metástases, animal vivo no final do estudo ou com falecimento devido a outras causas) (Spangler & Kass 2006). O tamanho do tumor não está significativamente associado com o tempo de sobrevivência dos animais (Bostock 1979; Ramos-Vara *et al.* 2000). A elevada pigmentação é referida como sendo um bom fator prognóstico (Bostock 1979), no entanto outros estudos

demonstram que essa associação não é significativa (Ramos-Vara *et al.* 2000). Os fatores de prognóstico mais significativamente associados com a malignidade, e consequentemente, com o intervalo médio de vida, são o índice mitótico e a atipia nuclear (múltiplos nucléolos, localização excêntrica do nucléolo, núcleos vesiculados), sendo que tumores com menos de quatro mitoses em dez campos de alta ampliação (400x) e com melanócitos bem diferenciados, têm um prognóstico favorável (Spangler & Kass 2006; Jubb, Kennedy & Palmer 2013a; Meuten 2017).

Em termos de morfologia, os melanomas podem apresentar múltiplos padrões celulares, tais como o padrão epitelióide que se caracteriza por possuir células redondas a poligonais. O padrão fusiforme, no qual as células adquirem morfologia semelhante a fibroblastos. O padrão balonizante ou em anel de sinete, no qual as células apresentam citoplasma abundante claro. E o padrão misto, em que se observam células com características do padrão epitelióide e fusiforme. Os padrões mais comuns são o epitelióide, o fusiforme e o misto (Jubb, Kennedy & Palmer 2013a; Ramos-Vara *et al.* 2000). Geralmente, os melanócitos neoplásicos possuem núcleos ovais a redondos com um nucléolo proeminente, o citoplasma é normalmente abundante, podendo ser basófilo ou eosinófilo. O grau de pigmentação celular varia entre inexistente (melanoma amelanótico), moderado ou abundante, podendo até observar-se pigmentação heterogênea no mesmo tumor (Ramos-Vara *et al.* 2000; Nishiya *et al.* 2016). Na pele, as células neoplásicas estão comumente presentes na porção basal da epiderme, mas podem-se observar focos de melanócitos nas camadas superiores da epiderme - infiltração Pagetóide (Meuten 2017). Ocasionalmente são visíveis focos de metaplasia condróide ou óssea (Ramos-Vara *et al.* 2000). Alguns melanomas podem apresentar uma organização muito atípica, como é o caso dos melanomas de tipo fusiforme ou dos melanomas amelanóticos, que não possuem pigmentação e que podem se assemelhar a diversas neoplasias, desde sarcomas a linfomas (Smedley *et al.* 2011). Nos casos em que o grau de diferenciação do tumor é baixo, emitir um diagnóstico conclusivo com a coloração HE é impossível. Sendo assim, poderá recorrer-se à coloração histoquímica de Masson-Fontana. Contudo esta coloração pode não ser conclusiva e a utilização de técnicas de imunohistoquímica torna-se imprescindível. Painéis de marcadores moleculares incluindo o Melan A, o S-100 ou TRP-1 e TRP-2 (*Tyrosinase-related proteins*), podem ser utilizados e, em princípio, permitem o diagnóstico da neoplasia (Ramos-Vara *et al.* 2000; Smedley *et al.* 2011; Meuten 2017).

Considerações gerais

Com este trabalho pretendeu-se fazer uma breve análise estatística das necrópsias realizadas em pequenos animais no âmbito das aulas práticas de Anatomia Patológica I. Outro objetivo era fazer a descrição de casos das neoplasias mais frequentes ou com maior importância na patologia e na prática clínica. Os objetivos a que me propus no início da realização deste relatório foram cumpridos.

Este estágio curricular permitiu-me adquirir inúmeros conhecimentos na área da Patologia Veterinária, tais como caracterizar, selecionar e seccionar fragmentos para posterior realização de caracterização microscópica, proceder ao exame histopatológico, descrição e classificação das lesões. Foi igualmente possível melhorar conhecimentos já adquiridos, tais como a técnica de realização de necrópsia e a técnica de recolha de material para análise histopatológica.

Com a realização deste trabalho, verificou-se que as neoplasias serão a causa principal de morte dos animais, nomeadamente o linfoma, representando 29% do total das neoplasias diagnosticadas. Vários estudos têm referido um aumento recente da incidência do linfoma (Zandvliet 2016), no entanto, com este tamanho de amostra não é possível concluir se o valor obtido se deve a esse fenómeno. Mais de metade dos animais com linfoma tinham menos de 5 anos de idade. Contudo, vários autores afirmam que o linfoma é diagnosticado em animais com mais de 10 anos, isto pode-se dever à grande proporção de gatos jovens, cerca de 70%, diagnosticados com linfoma mediastínico.

Os tumores de mama apresentam-se em segundo lugar, representando 22% do total das neoplasias diagnosticadas. De acordo com a literatura, as neoplasias mamárias são muito comuns nas cadelas, sendo diagnosticadas em 40% destes animais (Sorenmo 2003).

Os TPP e os THP representam 5% do total das neoplasias diagnosticadas, uma percentagem algo elevada comparativamente ao descrito na literatura. Mais uma vez, a amostra analisada é reduzida e não é possível concluir se este aumento se aplica à generalidade da população.

Observou-se um único caso de melanoma que corresponde a 1% de todas as patologias observadas. Ramos-Vara e colaboradores referem que 1% das 34 000 necrópsias realizadas no seu estudo correspondiam a melanomas (Ramos-Vara *et al.* 2000). Desta forma, o valor obtido encontra-se em conformidade com o relatado na literatura.

A necrópsia é um meio de diagnóstico rico em informação, que deve utilizado frequentemente (Peleteiro *et al.* 2016). Ao longo deste relatório foi possível concluir que a realização do exame de necrópsia é uma componente essencial na prática clínica. Em determinados casos, a realização da necrópsia permitiu, conjuntamente com as informações enviadas, explicar o

quadro lesional e sintomatológico exibido pelo animal, confirmando o diagnóstico clínico. Já noutros casos, a necrópsia revelou um quadro lesional distinto do referido na informação enviada. Desta forma, a necrópsia é essencial para se obter um diagnóstico conclusivo em clínica de pequenos animais, permitindo melhorar o conhecimento do quadro lesional de cada patologia e aperfeiçoar a capacidade de diagnóstico do Médico Veterinário.

Bibliografia

- Alenza MDP, Pena L, Castillo N, and Nieto AI (2000) "Factors Influencing the Incidence and Prognosis of Canine Mammary Tumours." **Journal of Small Animal Practice** 41 (7): 287–91.
- Balkman C (2009) "Hepatobiliary Neoplasia in Dogs and Cats." **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 39 (3). Elsevier Ltd: 617–25.
- Barr F, Gruffyd-Jones TJ, Brown PJ, and Gibbs C (1987) "Primary Lung Tumours in the Cat." **Journal of Small Animal Practice** 28 (12): 1115–25.
- Beatty J (2014) "Viral Causes of Feline Lymphoma: Retroviruses and Beyond." **Veterinary Journal** 201 (2). Elsevier Ltd: 174–80.
- Bergman PJ (2007) "Canine Oral Melanoma." **Clinical Techniques in Small Animal Practice** 22 (2): 55–60.
- Bostock, DE (1979) "Prognosis after Surgical Excision of Canine Melanomas." **Veterinary Pathology** 16 (1): 32–40.
- Brøndenn LB, Eriksen T, and Kristensen AT (2009) "Oral Malignant Melanomas and Other Head and Neck Neoplasms in Danish Dogs - Data from the Danish Veterinary Cancer Registry." **Acta Veterinaria Scandinavica** 51 (1): 54.
- Caniatti M, Roccabianca P, Scanziani E, Paltrinieri S, and Moore PF (1996) "Canine Lymphoma: Immunocytochemical Analysis of Fine-Needle Aspiration Biopsy." **Veterinary Pathology** 33 (2): 204–12.
- Cogliati B , Aloia TPA, Bosch RV, Alves VAF, Hernandez-Blazquez FJ, and Dagli MLZ (2010) "Identification of Hepatic Stem/Progenitor Cells in Canine Hepatocellular and Cholangiocellular Carcinoma." **Veterinary and Comparative Oncology** 8 (2): 112–21.
- Cora R, Gal AF, Tabaran F, Taulescu M, Nagy A, Vidrighinescu R, and Catoi C (2016) "Epidemiological Data Concerning Canine Lymphoma over a Ten-Year (2005-2014), in Cluj-Napoca, Romania." **Bulletin UASVM Veterinary Medicine** 73 (1): 92–97.
- Crespo V, Ortega M, Stabile F, Palma S, and Fernández Y (2018) "Meningeal Carcinomatosis Secondary to a Suspected Pulmonary Carcinoma in a Cat and Comparison with Human Literature." **Veterinary Record Case Reports** 6 (4): e000704.
- Cullen, JM (2016) "Tumors of the Liver and Gallbladder." In **Tumors in Domestic Animals**, 602–31. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- D'Costa S, Yoon BI, Kim DY, Motsinger-Reif AA, Williams M, and Kim Y (2012) "Morphologic and Molecular Analysis of 39 Spontaneous Feline Pulmonary Carcinomas." **Veterinary Pathology** 49 (6): 971–78.
- Dungworth DL , Hauser B, Hahn FF, Wilson DH, Taenichen T, and Harkema JR (1999) **Histological Classification of Tumors of the Respiratory System of Domestic Animals**, World Health Organization, 2nd series, Washington: Armed Forces Institute of Pathology.
- Elston, CW, Ellis IO (1991) "Pathological Prognostic Factors in Breast Cancer, the Value of Histological Grade in Breast Cancer: Experience from a Large Study with Long-Term Follow-Up." **Histology and Histopathology** 5 (19): 403–10.
- Fabrizio F, Calam AE, Dobson JM, Middleton SA, Murphy S, Taylor SS, Schwartz A, and Stell AJ (2014) "Feline Mediastinal Lymphoma: A Retrospective Study of Signalment, Retroviral Status, Response to Chemotherapy and Prognostic Indicators." **Journal of Feline Medicine and**

Surgery 16 (8): 637–44.

Fontaine J, Heimann M, and Day MJ (2010) “Canine Cutaneous Epitheliotropic T-Cell Lymphoma: A Review of 30 Cases.” **Veterinary Dermatology** 21 (3): 267–75.

Fournel-Fleury C, Ponce F, Felman P, Blavier A, Bonnefont C, Chabanne L, Marchal T (2002) “Canine T-Cell Lymphomas: A Morphological, Immunological, and Clinical Study of 46 New Cases.” **Veterinary Pathology** 39 (1): 92–109.

Gieger, T (2011) “Alimentary Lymphoma in Cats and Dogs.” **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 41 (2). Elsevier Ltd: 419–32.

Goldfinch N, Argyle D (2012) “Feline Lung–digit Syndrome.” **Journal of Feline Medicine and Surgery** 14 (3): 202–8.

Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, and Zappulli V (2011) “Classification and Grading of Canine Mammary Tumors.” **Veterinary Pathology** 48 (1): 117–31.

Hahn KA., McEntee MF (1998) “Prognosis Factors for Survival in Cats After Removal of a Primary Lung Tumor: 21 Cases (1979–1994).” **Veterinary Surgery** 27 (4): 307–11.

Jagielski D, Lechowski R, Hoffmann-Jagielska M, and Winiarczyk S (2002) “A Retrospective Study of the Incidence and Prognostic Factors of Multicentric Lymphoma in Dogs (1998–2000).” **Journal of Veterinary Medicine Series A** 49 (8): 419–24.

Jubb VF., Kennedy PC, and Palmer N (2013)a. **Pathology of Domestic Animals: Fourth Edition. Pathology of Domestic Animals**, 4th Ed, Vol. 3.

Jubb VF., Kennedy PC, and Palmer N (2013)b. **Pathology of Domestic Animals: Fourth Edition. Pathology of Domestic Animals**, 4th Ed, Vol. 2.

Jubb VF., Kennedy PC, and Palmer N (2013)c. **Pathology of Domestic Animals: Fourth Edition. Pathology of Domestic Animals**, 4th Ed, Vol. 1.

Kinsey JR, Gilson SD, Hauptman J, Mehler SJ, and May LR (2015) “Factors Associated with Long-Term Survival in Dogs Undergoing Liver Lobectomy as Treatment for Liver Tumors.” **The Canadian Veterinary Journal** 56 (6): 598–604.

Kiupel M, Teske E, and Bostock D (1999) “Prognostic Factors for Treated Canine Malignant Lymphoma.” **Veterinary Pathology** 36 (4): 292–300.

Kristiansen VM, Peña L, Córdova LD, Illera JC, Skjerve E, Breen AM, Cofone MA, (2016). “Effect of Ovariohysterectomy at the Time of Tumor Removal in Dogs with Mammary Carcinomas: A Randomized Controlled Trial.” **Journal of Veterinary Internal Medicine** 30 (1): 230–41.

Louwerens M, London CA, Pedersen NC, and Lyons LA (2005) “Feline Lymphoma in the Post-Feline Leukemia Virus Era.” **Journal of Veterinary Internal Medicine** 19 (3): 329–35.

Magne ML., and Withrow SJ (1985) “Hepatic Neoplasia.” **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 15 (1). Elsevier: 243–56.

Marconato L, Polton GA, Sabbatini S, Dacasto M, Garden OA, Grant I, Hendrickx T (2017) “Conformity and Controversies in the Diagnosis, Staging and Follow-up Evaluation of Canine Nodal Lymphoma: A Systematic Review of the Last 15 Years of Published Literature.” **Veterinary and Comparative Oncology** 15 (3): 1029–40.

Marconato L, Romanelli G, Stefanello D, Giacoboni C, Bonfanti U, Bettini G, Finotello R (2009) “Prognostic Factors for Dogs with Mammary Inflammatory Carcinoma: 43 Cases (2003–2008).” **Journal of the American Veterinary Medical Association** 235 (8): 967–72.

Maritato KC, Schertel ER, Kennedy SC, Dudley R, Lamm C, Barnhart M, and Kass P (2014) “Outcome and Prognostic Indicators in 20 Cats with Surgically Treated Primary Lung Tumors.” **Journal of Feline Medicine and Surgery** 16 (12): 979–84.

Meuten DJ, (2017) **Tumors in Domestic Animals**, 5th ed, Wiley-Blackwell.

Millanta F, Fratini F, Corazza M, Castagnaro M, Zappulli V, and Poli A (2002) “Proliferation Activity in Oral and Cutaneous Canine Melanocytic Tumours: Correlation with Histological Parameters, Location, and Clinical Behaviour.” **Research in Veterinary Science** 73 (1): 45–51.

Misdorp W, Else RW, Hellmén E, and Lipscomb TP (1999) **Histological Classification of Mammary Tumors of the Dog and the Cat**, Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology.

Modiano JF, Breen M, Burnett RC, Parker HG, Inusah S, Thomas R, Avery PR, *et al.* (2005) “Distinct B-Cell and T-Cell Lymphoproliferative Disease Prevalence among Dog Breeds Indicates Heritable Risk.” **Cancer Research** 65 (13): 5654–61.

Moulton JE., Tscharner CV, and Schneider R (1981) “Classification of Lung Carcinomas in the Dog and Cat.” **Veterinary Pathology** 18 (4): 513–28.

Nishiya A, Massoco C, Felizzola C, Perlmann E, Batschinski K, Tedardi M, Garcia J, Mendonça P, Teixeira T, and Dagli MZ (2016) “Comparative Aspects of Canine Melanoma.” **Veterinary Sciences** 3 (1): 7.

Owen LN, ed. (1980) **TMN Classification of Tumors in Domestic Animals**, Geneva, World Health Organization.

Patnaik AK, Hurvitz AI, and Lieberman PH (1980) “Canine Hepatic Neoplasms: A Clinicopathologic Study.” **Veterinary Pathology** 17 (5): 553–64.

Patnaik AK, Hurvitz AI, Lieberman PH, and Johnson GF (1981) “Canine Bile Duct Carcinoma.” **Veterinary Pathology** 18 (4): 439–44.

Peleteiro, MC, Silva JF, Pereira PD, Carvalho T, Faustino A, Correia J, Pissarra H, and Stilwell G (2016) **Manual de Necrópsia Veterinária**. 1st ed. Lisboa, Lidel.

Peña L, Andrés PJ, Clemente M, Cuesta P, and Pérez MDA (2013) “Prognostic Value of Histological Grading in Noninflammatory Canine Mammary Carcinomas in a Prospective Study With Two-Year Follow-Up.” **Veterinary Pathology** 50 (1): 94–105.

Peña L, Perez MDA, Bertos AR, and Nieto A (2003) “Canine Inflammatory Mammary Carcinoma: Histopathology, Immunohistochemistry and Clinical Implications of 21 Cases.” **Breast Cancer Research and Treatment** 78 (2): 141–48.

Pérez MDA, Tabanera E, and Peña L (2001) “Inflammatory Mammary Carcinoma in Dogs: 33 Cases (1995-1999).” **Journal of the American Veterinary Medical Association** 219 (8): 1110–14.

Ponce F, Marchal T, Magnol JP, Turinelli V, Ledieu D, Bonnefont C, Pastor M, Delignette ML, and Fournel-Fleury C (2010) “A Morphological Study of 608 Cases of Canine Malignant Lymphoma in France With a Focus on Comparative Similarities Between Canine and Human Lymphoma Morphology.” **Veterinary Pathology** 47 (3): 414–33.

Ramos-Vara J., Beissenherz ME, Miller MA, Johnson GC, Pace LW, Fard A, and Kottler SJ (2000) “Retrospective Study of 338 Canine Oral Melanomas with Clinical, Histologic, and Immunohistochemical Review of 129 Cases.” **Veterinary Pathology** 37 (6): 597–608.

Salas Y, Márquez A, Diaz D, and Romero L (2015) “Epidemiological Study of Mammary Tumors in Female Dogs Diagnosed during the Period 2002-2012: A Growing Animal Health Problem.” **PLoS ONE** 10 (5): 1–15.

Sato H, Fujino Y, Chino J, Takahashi M, Fukushima K, Goto-Koshino Y, Uchida K, Ohno K, and Tsujimoto H (2014) “Prognostic Analyses on Anatomical and Morphological Classification of Feline Lymphoma.” **Journal of Veterinary Medical Science** 76 (6): 807–11.

Sayag D, Fournel-Fleury C, and Ponce F (2018) “Prognostic Significance of Morphotypes in Canine Lymphomas: A Systematic Review of Literature.” **Veterinary and Comparative Oncology** 16 (1): 12–19.

Schneider R, Dorn CR, and Taylor DON (1969) “Factors Influencing Canine Mammary Cancer Development and Postsurgical Survival.” **JNCI: Journal of the National Cancer Institute** 25 (December).

Smedley RC., Lamoureux J, Sledge DG, and Kiupel M (2011) “Immunohistochemical Diagnosis of Canine Oral Amelanotic Melanocytic Neoplasms.” **Veterinary Pathology** 48 (1): 32–40.

Sorenmo K, Shofer FS, and Goldschmidt MH (2000) “Effect of Spaying and Timing of Spaying on Survival of Dogs with Mammary Carcinoma.” **Journal of Veterinary Internal Medicine** 14 (3): 266–70.

Sorenmo K (2003) “Canine Mammary Gland Tumors.” **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice** 33 (3): 573–96.

Spangler WL, and Kass PH (2006) “The Histologic and Epidemiologic Bases for Prognostic Considerations in Canine Melanocytic Neoplasia.” **Veterinary Pathology** 43 (2): 136–49.

Trigo FJ, Thompson H, Breeze RJ, and Nash AS (1982) “The Pathology of Liver Tumors in the Dog”, **Journal of Comparative Pathology**, 92: 21-38.

Troxel MT, Vite CH, Winkle TJ, Newton AL, Tiches D, Dayrell-Hart B, Kapatkin AS, Shofer FS, and Steinberg SA (2003) “Feline Intracranial Neoplasia: Retrospective Review of 160 Cases (1985–2001).” **Journal of Veterinary Internal Medicine** 17 (6): 850.

Valli VE, Kass PH, Myint MS, and Scott F (2013) “Canine Lymphomas: Association of Classification Type, Disease Stage, Tumor Subtype, Mitotic Rate, and Treatment With Survival.” **Veterinary Pathology** 50 (5): 738–48.

Valli VE, Myint M, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, *et al* (2011) “Classification of Canine Malignant Lymphomas According to the World Health Organization Criteria.” **Veterinary Pathology** 48 (1): 198–211.

Valli VE, Jacobs R, and Parodi AL (2002) **Histological Classification of Hematopoietic Tumors of Domestic Animals**, WHO, The Armed Forces Institute of Pathology, 42–43.

van Sprundel R., van den Ingh T, Guscetti F, Kershaw O, van Wolferen ME, Rothuizen J, and Spee B (2014) “Classification of Primary Hepatic Tumours in the Cat.” **The Veterinary Journal** 202 (2). Elsevier Ltd: 255–66.

Vascellari M, Capello K, Carminato A, Zanardello C, Baioni E, and Mutinelli F (2016) “Incidence of Mammary Tumors in the Canine Population Living in the Veneto Region (Northeastern Italy): Risk Factors and Similarities to Human Breast Cancer.” **Preventive Veterinary Medicine** 126 (April). Elsevier B.V.: 183–89.

West HJ, and Shaw AT (2018) “Brain Metastases in Non-Small Cell Lung Cancer,” 1–15. https://www-uptodate-com.ezp2.imu.edu.my/contents/brain-metastases-in-non-small-cell-lung-cancer?search=lorlatinib&source=search_result&selectedTitle=4~10&usage_type=default&display_rank=3#H1023513532.

Zachary JF (2017) **Pathology Basis of Veterinary Disease**. 6th ed. Elsevier Ltd.

Zandvliet M (2016) “Canine Lymphoma: A Review.” **Veterinary Quarterly** 36 (2). Taylor & Francis: 76–104.

Anexo I – Fotografias caso 1



Figura 1: Esplenomegalia.



Figura 2: Linfadenomegalia. Ao corte os gânglios apresentavam uma coloração creme homogênea, aspeto brilhante e consistência mole.

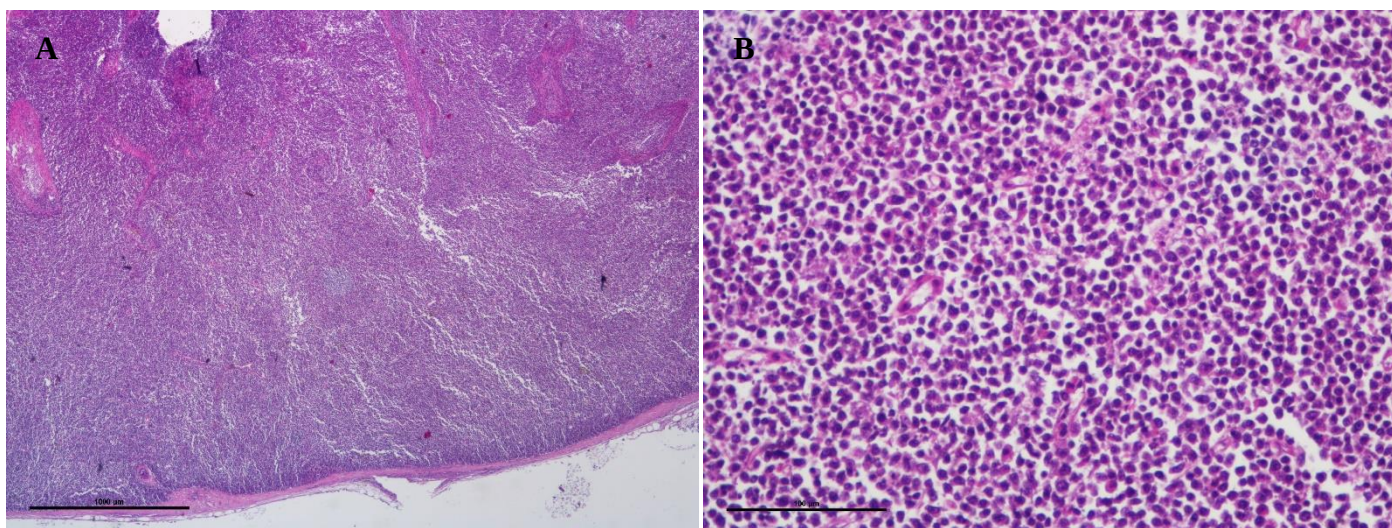


Figura 3: A- Gânglio linfático (linfoma), 2x. Note-se a alteração da arquitetura ganglionar, não se observando folículos germinativos. B- Gânglio linfático (linfoma), 20x. População uniforme de células neoplásicas redondas, com núcleos grandes e, citoplasma escasso (linfócitos).

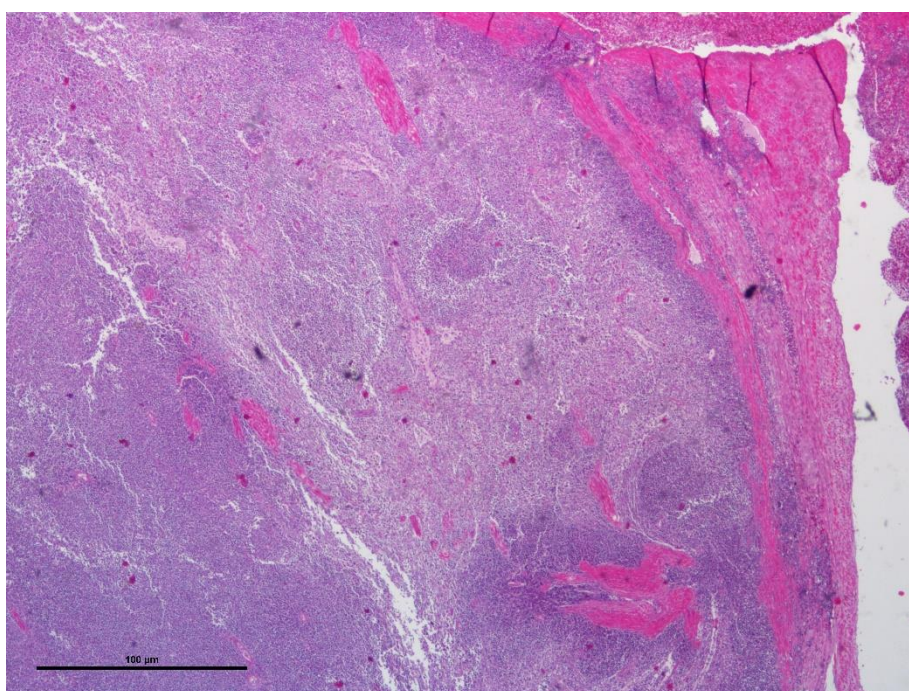


Figura 4: Baço (linfoma), 2x. Note-se a dificuldade na diferenciação entre a polpa branca e a polpa vermelha, que se encontram preenchidas por população neoplásica de células linfóides

Anexo II – Fotografias caso 2

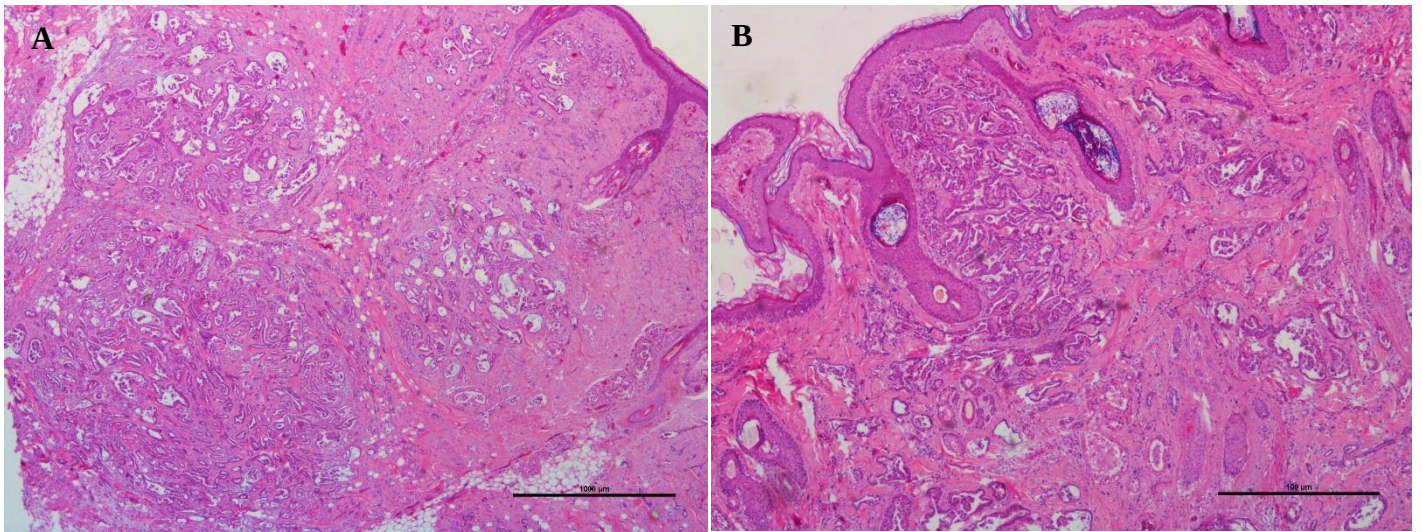


Figura 5: A- Carcinoma mamário inflamatório, 2x. Note-se que as células epiteliais neoplásicas se organizam num padrão tubulopapilar e alcançam as camadas mais superficiais da derme. B- Carcinoma mamário inflamatório, 4x. Focos de células neoplásicas infiltrando as camadas superiores da pele.

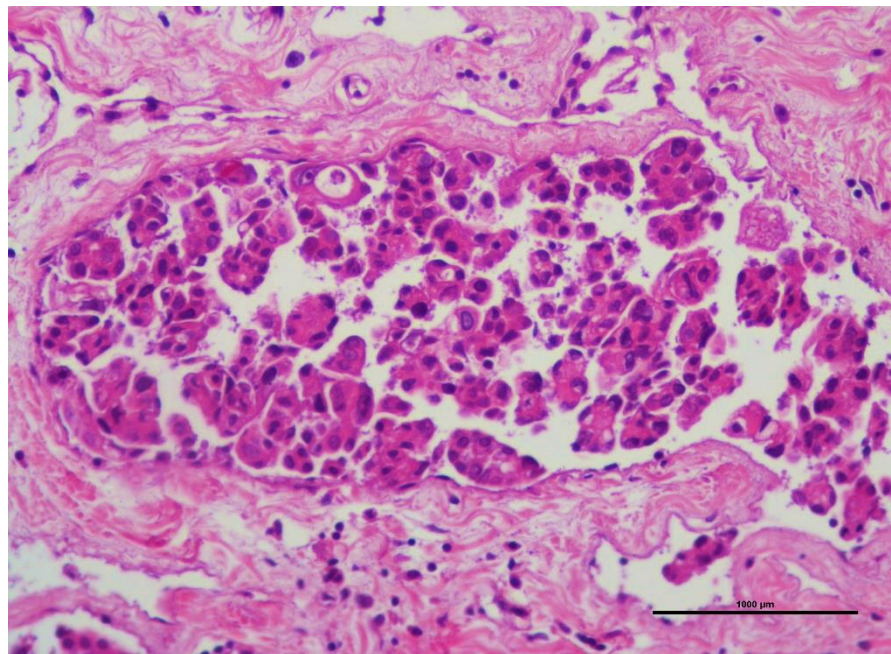


Figura 6: Vaso sanguíneo, 20x. Células epiteliais neoplásicas presentes no interior de um vaso – invasão vascular.

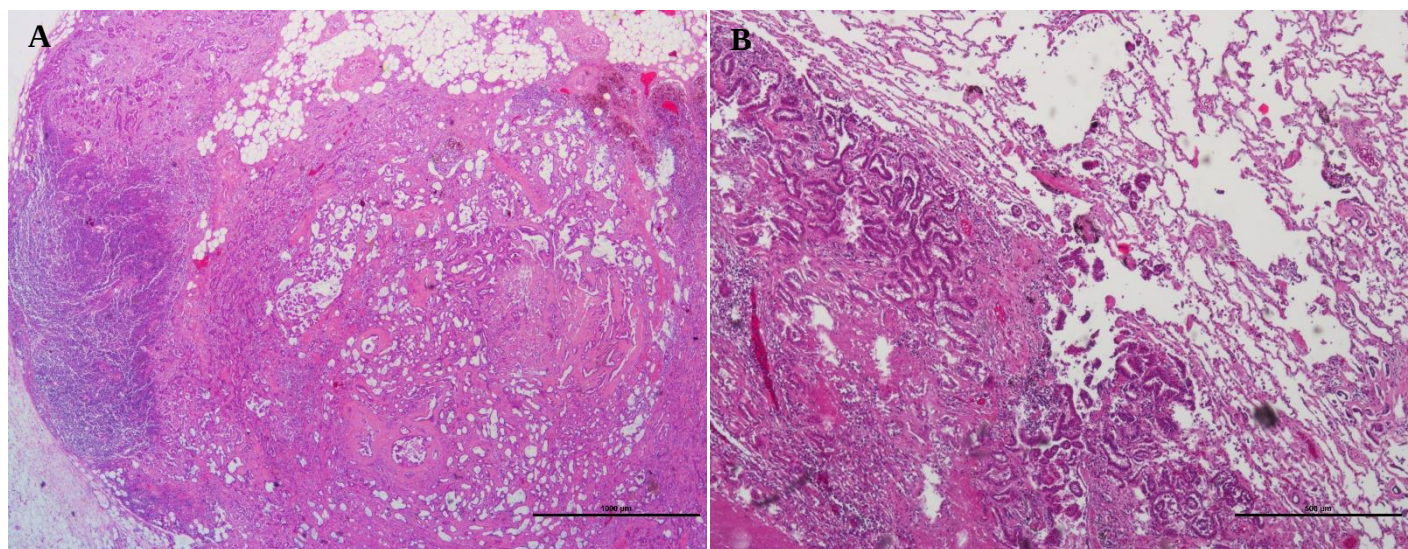


Figura 7: A- Gânglio linfático, 2x. Note-se a presença de um foco de metastização no centro do gânglio. B- Pulmão, 4x. Note-se a presença de focos de metastização.

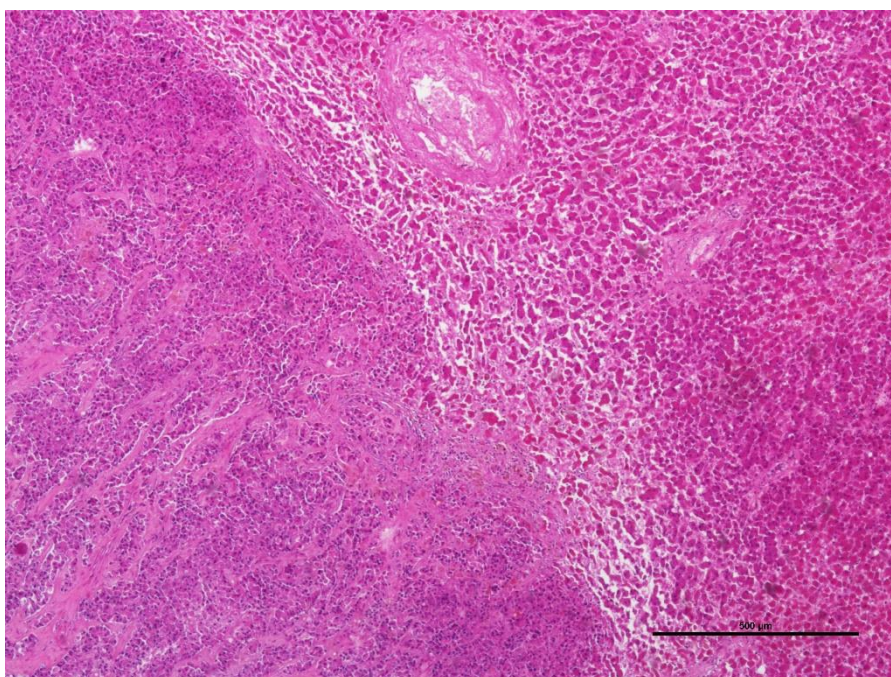


Figura 8: Fígado, 4x. Note-se a presença de metástases alterando o parênquima hepático.

Anexo III – Fotografias caso 3



Figura 9: Massa mediastínica cranial aderida à traqueia caudal, esôfago, pericárdio, ao brônquio esquerdo e lobo pulmonar cranial esquerdo, de coloração creme, consistência firme, aspeto multilobular, medindo 6,5x4,5x2,0cm.

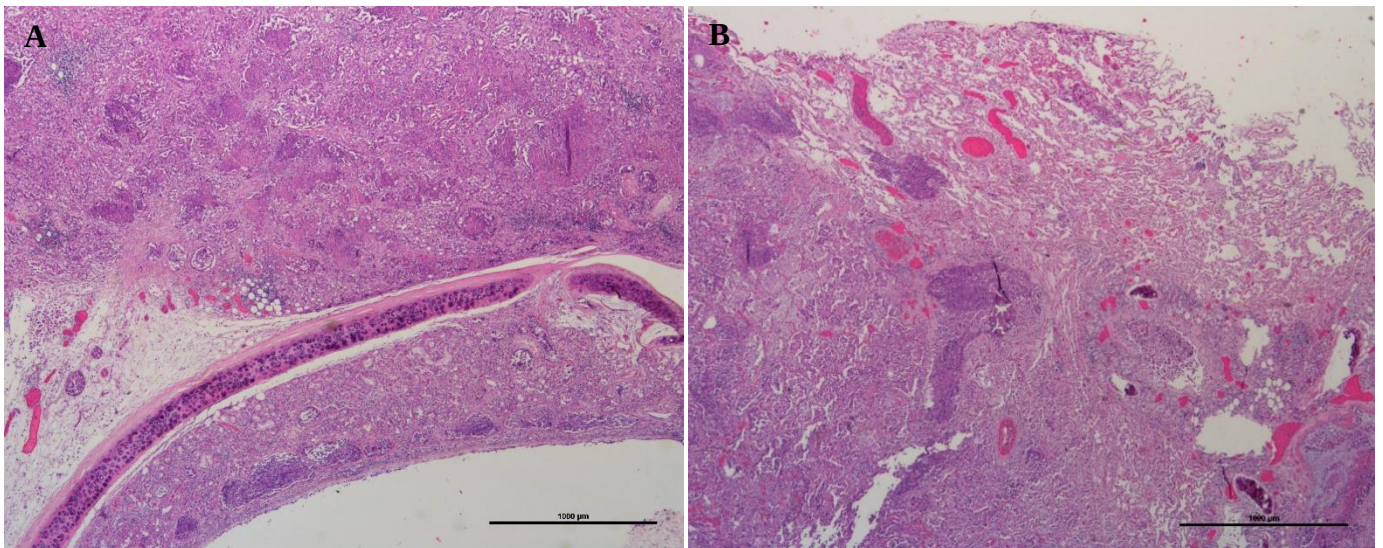


Figura 10: A- Massa pulmonar, mediastino 2x. A massa comprime a traqueia, invadindo mesmo a sua mucosa. B- Massa pulmonar, pulmão, 2x. A massa altera a arquitetura pulmonar observando-se raros alvéolos.

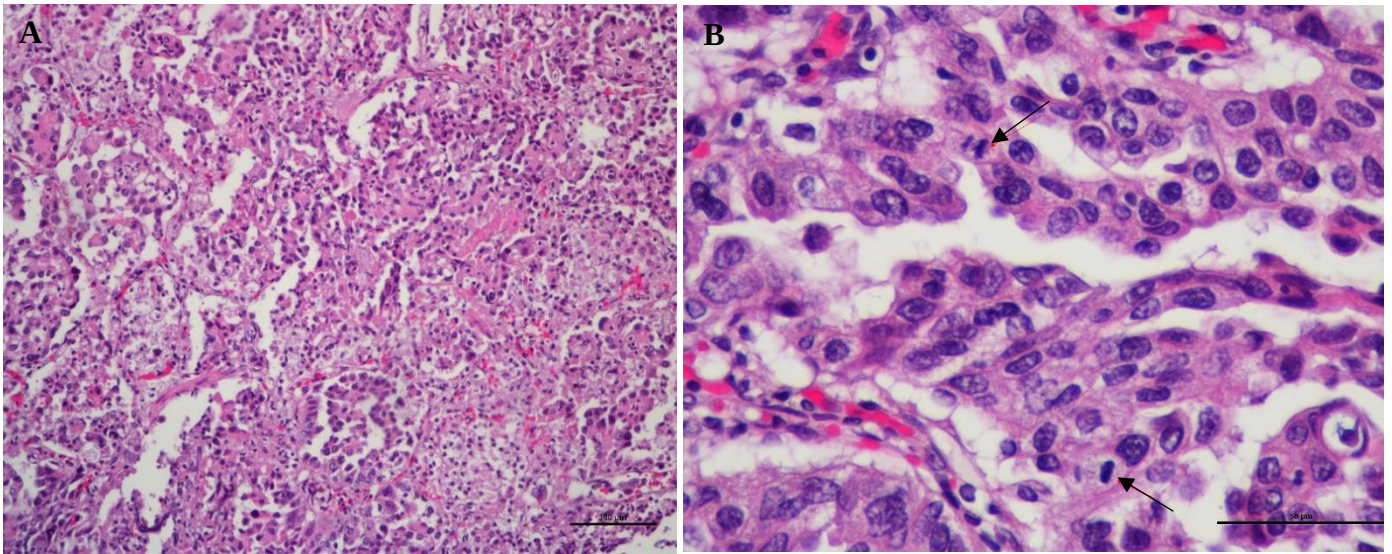


Figura 11: A- Pulmão, 10x. Adenocarcinoma pulmonar. As células neoplásicas organizam-se em ácinos e papilas. B- Pulmão, 40x. Detalhes citológicos. Observam-se 2 mitoses (setas pretas), elevada anisocariose, cariomegália, núcleos vesiculados e alguns nucléolos visíveis.

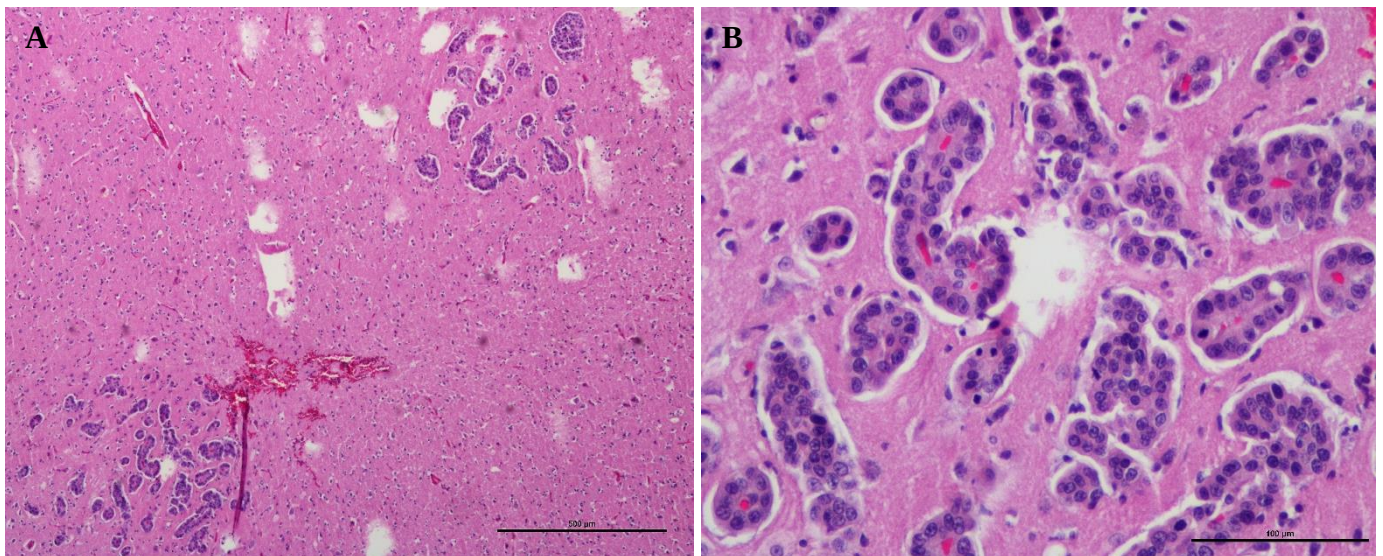


Figura 12: A- Encéfalo, 4x. Notem-se os dois focos de células epiteliais, no tecido cerebral. B- Encéfalo, 20x. Células epiteliais, semelhantes às do adenocarcinoma pulmonar, organizando-se em ácinos.

Anexo IV – Fotografias caso 4

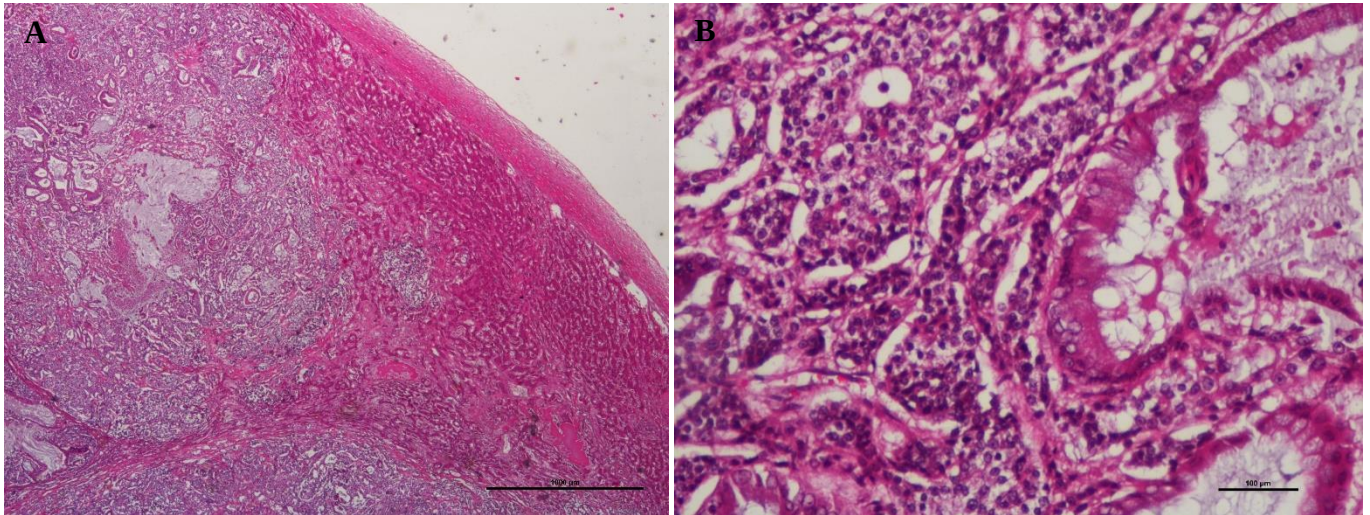


Figura 13: A- Fígado, 2x. Massa multinodular de limites mal definidos, constituída por estruturas tubulares revestidas de epitélio biliar, contendo mucina no seu interior. B- Fígado, 20x. Note-se uma área de neoplasia bem diferenciada, organizada em túbulos, revestidos por células epiteliais colunares com núcleo basal com mucina no seu interior. Visualiza-se uma área mal diferenciada, em que as células possuem escasso citoplasma e têm um aspeto cubóide. Carcinoma colangiocelular.

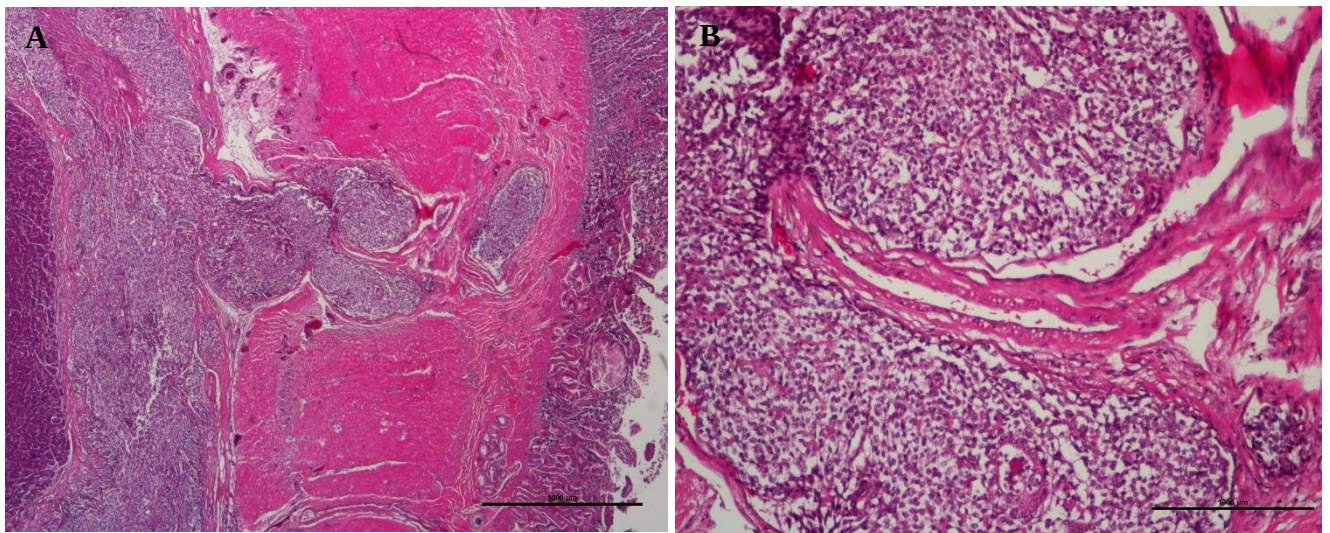


Figura 14: A- Pâncreas (esquerda) e intestino (direita), 2x. Note-se a infiltração neoplásica entre o pâncreas e a parede intestinal. B- Fígado, 10x. Notem-se as extensas trabéculas de tecido conjuntivo, que conferem a consistência firme a este tumor.

Anexo V – Fotografias caso 5



Figura 55: Massa negra, de aspeto brilhante e consistência mole, localizada na maxila, invadindo o palato duro, provocando perda de dentes.

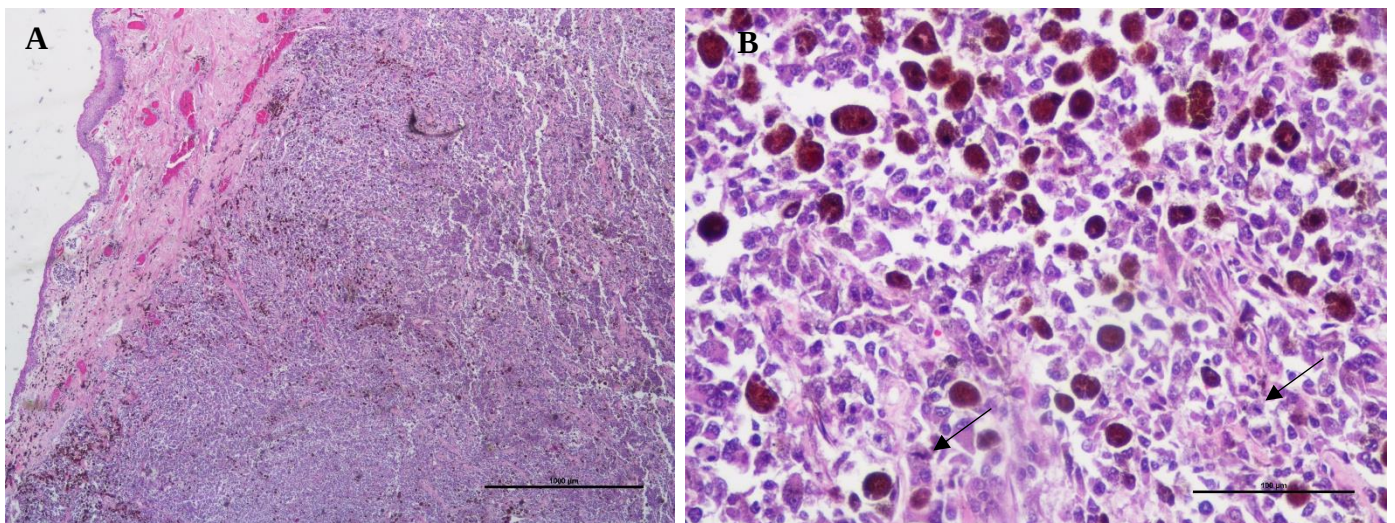


Figura 16: A- Mucosa oral, 2x. Melanoma adjacente à mucosa oral, observam-se múltiplos focos de células pigmentadas. B- Mucosa oral, 20x. Note-se uma proporção de melanócitos, com grânulos de melanina no seu citoplasma, enquanto que a outra proporção de células são não pigmentadas. Organização maioritariamente epitelióide. Observam-se 2 mitoses (setas pretas). Células multinucleadas, cariomegália e múltiplos nucléolos.