

Relatório Final de Estágio

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

# A importância da citologia no contexto clínico

Revisão bibliográfica e discussão de casos clínicos

Susana Maria Grilo de Oliveira Matias

**MI** 2023



**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**  
**Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar**  
**Universidade do Porto**

Susana Maria Grilo de Oliveira Matias

**A importância da citologia no contexto clínico** - Revisão bibliográfica e discussão de casos clínicos

Área científica: Medicina e/ou cirurgia de animais de companhia / Patologia e Clínica Laboratorial

Orientador: Prof. Doutor Ricardo Jorge Pereira Córdova Marcos

Co-orientadores: Prof. Doutora Marta Susana Amaro dos Santos e Prof. Doutor José Miguel Campos

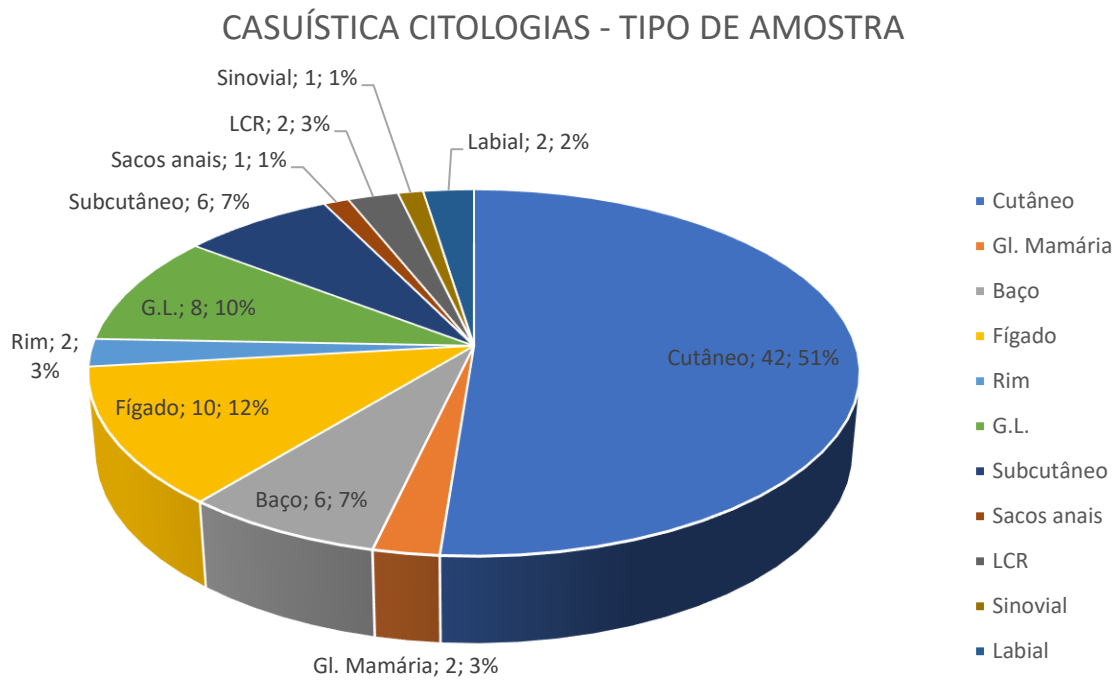
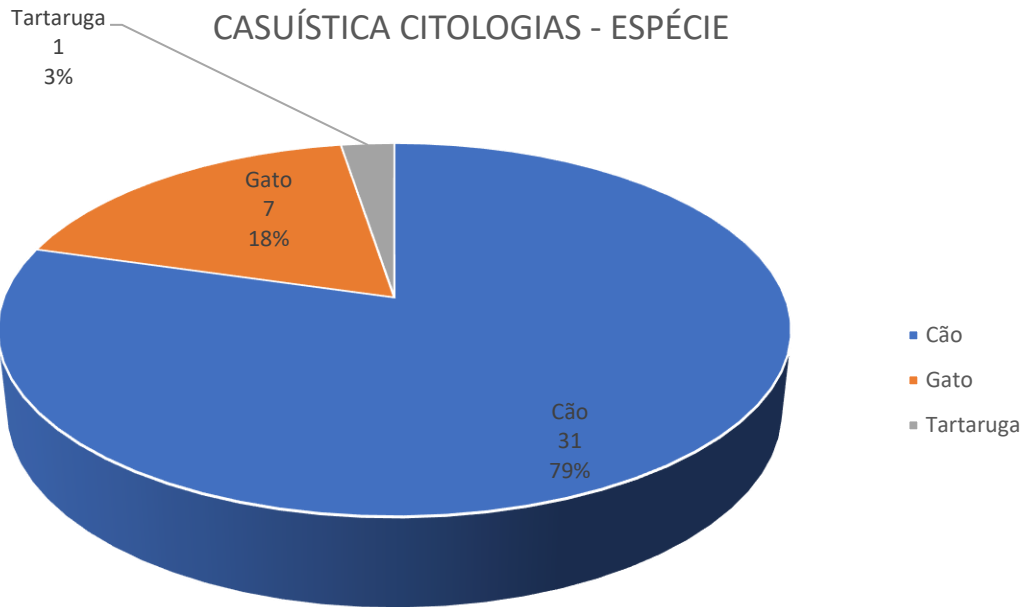
**Porto, 2024**

## RESUMO

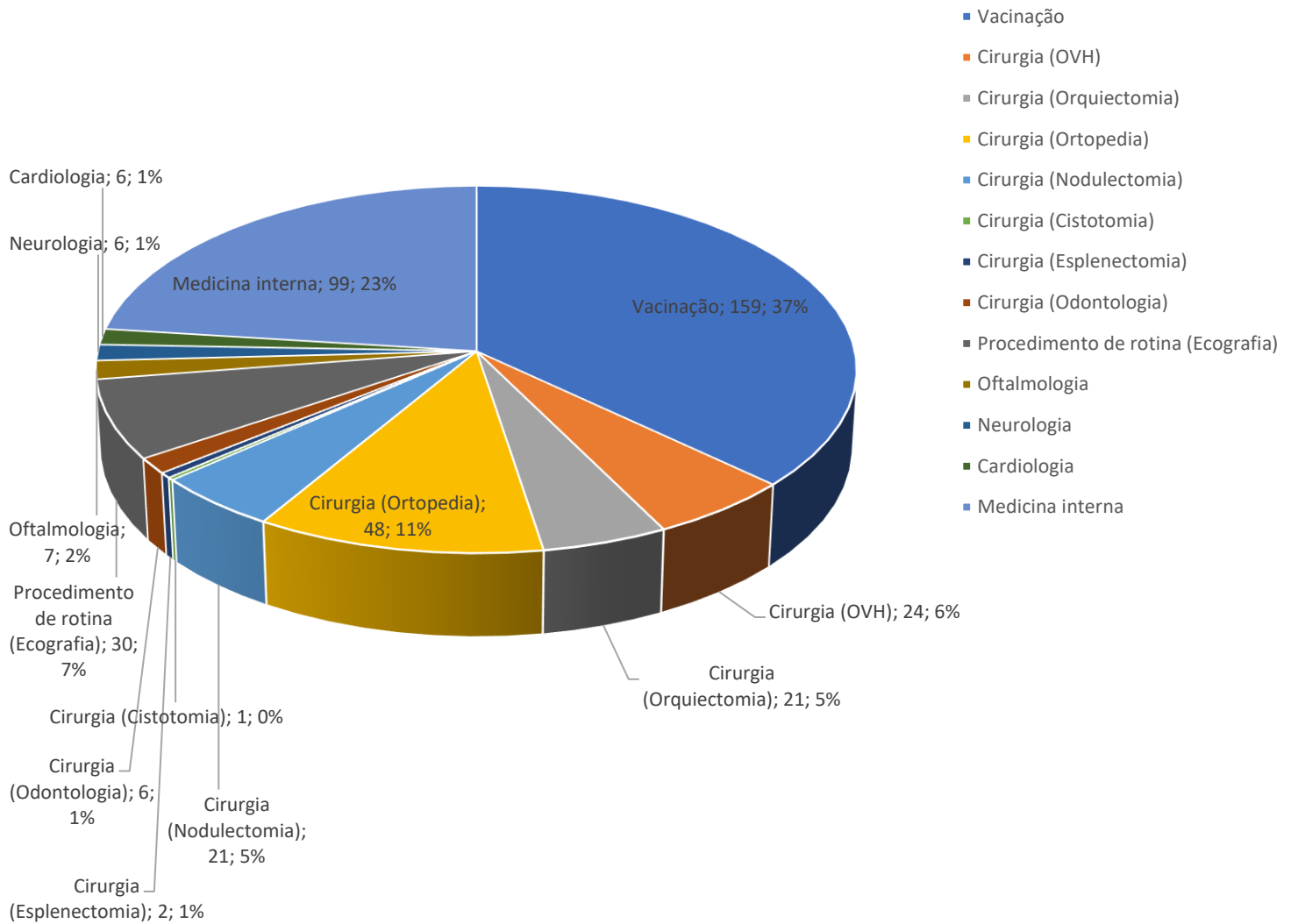
O presente relatório tem o objetivo de refletir o trabalho realizado ao longo das 16 semanas do estágio curricular do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto (ICBAS-UP). O estágio foi dividido em dois períodos: o primeiro de quatro semanas na área de patologia e clínica laboratorial decorreu no Laboratório de Histologia e Embriologia ICBAS-UP, onde tive a oportunidade de participar na receção e processamento de amostras citológicas, coloração, observação microscópica e sua descrição. Para além dos casos da rotina clínica, foi ainda possível analisar casos citológicos de arquivo. O segundo período, de 12 semanas, decorreu na área de medicina e cirurgia de animais de companhia no Centro Cirúrgico e Veterinário de Assafarge (CCVA), onde foi possível acompanhar áreas como medicina interna, cirurgia, anestesiologia, cardiologia, oftalmologia e medicina de animais exóticos. O objetivo deste relatório prende-se com a junção de duas áreas da Medicina Veterinária onde tive a oportunidade de estagiar e demonstrar a importância da citologia na clínica veterinária. Para isso foi realizada uma breve revisão bibliográfica acerca deste método de diagnóstico, e a descrição e discussão de três casos clínicos onde a citologia foi um dos exames complementares que permitiram chegar ao diagnóstico. Considero desta forma que os objetivos propostos no início do estágio foram cumpridos, uma vez que tive a possibilidade de desenvolver e melhorar competências a nível da capacidade de diagnóstico e descrição de citologias, e ainda transportar estes conhecimentos para o contexto clínico, demonstrando a sua relevância na prática. Para além disto adquiri competências na prática clínica de animais de companhia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Citologia; Animais de companhia; Animais exóticos; Neoplasias

## CASUÍSTICA E ATIVIDADES REALIZADAS



## CASUÍSTICA - MOTIVO DAS CONSULTAS



## Agradecimentos

Aos meus pais por me terem apoiado de forma incondicional em todas as decisões importantes da minha vida, não sendo esta uma exceção, percebendo e apoiando o meu amor pelos animais.

Ao Diogo, o meu melhor amigo e pai do meu filho, por me ter levado a tomar a decisão de deixar tudo para perseguir o sonho de ser Médica Veterinária, que esteve presente em todos os momentos menos bons ao longo desta caminhada, mas também por ter celebrado cada conquista como se fosse dele. E obrigada por nunca me teres permitido desistir.

Ao Guilherme, o meu filho e amor maior, porque este curso também é um bocadinho dele, ao acompanhar-me às aulas durante 9 meses, e porque me dá forças todos os dias para continuar a ser o melhor que consigo.

À minha estrela, a minha avó Maria, que tantas vezes brilhou no céu e me fez companhia nas longas noites de estudo.

Às amigas que este curso me trouxe, que foram também o meu pilar, mesmo quando não se aperceberam, e me deram bons momentos que vão ficar para a vida.

Às minhas três crianças de 4 patas, Meg, Gordini e Laurentina, o amor mais incondicional que podia ter.

Ao Professor Ricardo Marcos por ter aceitado ser meu orientador, e por sempre ter sido um professor e uma pessoa incrível ao longo do curso, com uma disponibilidade e uma vontade de ensinar que são raros. À professora Marta Santos, pela incrível capacidade e paciência de descrever cada citologia que vimos ao microscópio, e ter despertado o meu gosto por esta área.

À maravilhosa equipa do CCVA, Dr. José Miguel, Dr.<sup>a</sup> Ana Luísa, Dr.<sup>a</sup> Rita, Dr.<sup>a</sup> Carolina, Carla, Nicole e enfermeira Joana, um obrigada é muito pouco pela forma como me receberam e me ensinaram.

Muito obrigada!

# ÍNDICE

|   |      |
|---|------|
| RESUMO .....                                    | iii  |
| CASUÍSTICA E ATIVIDADES REALIZADAS.....         | iv   |
| Agradecimentos .....                            | vi   |
| ÍNDICE.....                                     | vii  |
| LISTA DE ABREVIATURAS.....                      | viii |
| Diagnóstico Citológico .....                    | 1    |
| Qual sua importância em contexto clínico? ..... | 1    |
| Colheita e preparação das amostras.....         | 2    |
| Casos Clínicos .....                            | 4    |
| Caso Clínico 1.....                             | 4    |
| Caso Clínico 2.....                             | 10   |
| Caso Clínico 3.....                             | 18   |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                | 26   |
| ANEXOS .....                                    | 28   |
| ANEXO A - Caso Clínico 1.....                   | 28   |
| ANEXO B – Caso Clínico 2 .....                  | 29   |
| ANEXO C – Caso Clínico 3 .....                  | 31   |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|               |  |                      |  |
|---------------|--|----------------------|--|
| <b>&gt;</b>   | Maior/superior   | <b>LN</b>            | Linfonodo  |
| <b>&lt;</b>   | Menor/inferior   | <b>m<sup>2</sup></b> | Metro quadrado   |
| <b>%</b>      | Porcentagem  | <b>MHC</b>           | Complexo Principal de<br>Histocompatibilidade                      |
| <b>®</b>      | Produto registado  | <b>MI</b>            | Mililitros   |
| <b>°C</b>     | Grau Celsius   | <b>MLR</b>           | Reação leucocitária mista  |
| <b>ADV</b>    | Aleutian Disease Virus   | <b>Mm</b>            | Milímetros   |
| <b>AgNORs</b> | Regiões Organizadoras Nucleolares<br>Argirofílicas.  | <b>OMS</b>           | Organização Mundial da Saúde                                       |
| <b>AINEs</b>  | Anti-inflamatórios não esteroides  | <b>OVH</b>           | Ovariohisterectomia  |
| <b>BID</b>    | Dois vezes por dia   | <b>PAF</b>           | Punção por agulha fina   |
| <b>bpm</b>    | Batimentos por minuto  | <b>PAAF</b>          | Punção aspirativa por agulha fina                                  |
| <b>CHOP</b>   | Ciclofosfamida, doxorrubicina<br>[hidroxidaunorrubicina], vincristina<br>[oncovin <sup>®</sup> ] e prednisona) | <b>ppm</b>           | Pulsações por minuto   |
| <b>COP</b>    | Ciclofosfamida, vincristina [oncovin <sup>®</sup> ]<br>e prednisona)   | <b>PR</b>            | Recetor de Progesterona  |
| <b>DAPC</b>   | Célula dendrítica apresentadora de<br>antígenos  | <b>PO</b>            | Per os (via oral)  |
| <b>DHPPiL</b> | Vacina contra a esgana, parvovirose,<br>hepatite infecciosa canina,<br>parainfluenza e leptospirose            | <b>QOD</b>           | A cada 48h   |
| <b>DNA</b>    | Ácido desoxirribonucleico  | <b>REAL/WHO</b>      | Revised European American<br>Lymphoma/World Health<br>Organization |
| <b>ER</b>     | Recetor de Estrogénio  | <b>rpm</b>           | Respirações por minuto   |
| <b>FeLV</b>   | Vírus da Leucemia Felina   | <b>SC</b>            | Via subcutânea   |
| <b>GI</b>     | Trato Gastrointestinal   | <b>SID</b>           | Uma vez por dia  |
| <b>HER-2</b>  | Recetor 2 do fator de crescimento<br>epidérmico humano   | <b>SRD</b>           | Sem Raça Definida  |
| <b>HPF</b>    | Campo de grande ampliação  | <b>TAC</b>           | Tomografia Computorizada   |
| <b>ICBAS</b>  | Instituto de Ciências Biomédicas Abel<br>Salazar   | <b>TID</b>           | Três vezes por dia   |
| <b>IM</b>     | Via intramuscular  | <b>TRC</b>           | Tempo de repleção capilar  |
| <b>IV</b>     | Via intravenosa  | <b>UI</b>            | Unidades Internacionais  |
| <b>Kg</b>     | Quilogramas  | <b>UP</b>            | Universidade do Porto  |
|               |  | <b>VAP</b>           | Acesso venoso subcutâneo   |

## Diagnóstico Citológico

### Qual a sua importância em contexto clínico?

A citologia é a ciência que permite a interpretação das células que são esfoliadas de superfícies epiteliais ou removidas de diferentes tecidos (Ayele et al., 2017). A avaliação de amostras citológicas tem vindo a desempenhar uma importante função como método de diagnóstico de lesões em diferentes tecidos, em patologias que afetam não só animais domésticos, como também patologias que envolvem animais exóticos (como coelhos, roedores, furões, ouriços, etc.) e animais vertebrados inferiores, especialmente aves e répteis (Campbell, 2015).

Através da citologia é possível classificar a maioria das lesões em grandes grupos etiológicos, como inflamação, hiperplasia ou neoplasia. Em diversas situações a citologia pode ser uma mais-valia, permitindo estabelecer diagnósticos definitivos, determinar prognósticos e definir planos terapêuticos (Radin & Wellman, 2001).

A sua relevância como meio de diagnóstico na Medicina Veterinária tem vindo a aumentar, sendo amplamente aceite como meio de diagnóstico (Ayele et al., 2017; Meena et al., 2023). Assim, existem diferentes vantagens na citologia, uma vez que é um procedimento que permite recolher amostras da maioria dos tecidos, fluidos ou órgãos, sendo esta recolha pouco invasiva e passível de ser realizada, regra geral, em ambulatório. Quer a recolha da amostra, quer a preparação das lâminas, não requerem equipamentos dispendiosos e estão disponíveis na maioria das clínicas veterinárias. Para além disto, a interpretação pode ser efetuada na própria clínica, permitindo um diagnóstico e plano terapêutico imediato, pondo de parte a necessidade de esperar um ou mais dias por um diagnóstico laboratorial (Radin & Wellman, 2001).

Desta forma, a citologia pode evitar que sejam realizadas cirurgias desnecessárias, como em caso de massas benignas (por exemplo, lipomas ou quistos epidérmicos) que não necessitem de ser removidos de imediato, ou caso exista essa necessidade permite que se adapte o plano cirúrgico, efetuando uma abordagem mais conservadora caso se tratem de massas benignas, ou alargar a incisão em caso de neoplasias potencialmente malignas (Wilard & Tvedten, 2012).

A recolha da amostra é também um procedimento simples e pode ser efetuada através de métodos como punção por agulha fina, impressão, raspagem e zaragatoa (Ayele et al., 2017; Meena et al., 2023), sendo raro surgirem complicações. Quando surgem, estão limitadas a pequenas hemorragias. Infecção, traumas das estruturas adjacentes ou disseminação de células tumorais são situações raras. Geralmente as amostras podem ser obtidas sem anestesia ou sedação, apresentando, assim, um risco mínimo, quer para pacientes saudáveis ou em estado crítico (Radin & Wellman, 2001).

Na avaliação da amostra, para além da experiência do observador, um dos fatores que tem grande influência no valor diagnóstico é a qualidade da amostra. O valor diagnóstico é

significativamente mais elevado em clínicos com experiência em recolha de amostras citológicas, uma vez que o clínico tem a responsabilidade, não só de colher uma amostra representativa da lesão, mas também da preparação das próprias lâminas, e por vezes até de as corar (Valenciano & Cowell, 2020). Assim, esta capacidade é adquirida através de experiência e aperfeiçoamento da técnica com base em resultados obtidos, sendo que o conhecimento dos princípios básicos de recolha de amostras, e a familiarização com as falhas mais comuns na sua recolha e preparação podem auxiliar a reduzir os resultados não diagnósticos (Cowell et al., 2008).

Por oposição, nas amostras histopatológicas, após a recolha do tecido este é colocado em formol e são os técnicos de laboratório que vão ter a responsabilidade da preparação das amostras (Valenciano & Cowell, 2020).

Assim, a maioria dos médicos veterinários podem desenvolver estas capacidades e aprender a realizar alguns diagnósticos citológicos, na própria clínica, desde que reconheçam as suas limitações e continuem a desenvolver o seu conhecimento através dos seus casos, podendo realizar a avaliação citológica através de massas excisadas, e as descrições e conclusões posteriormente comparadas com o relatório histopatológico (Wilard & Tvedten, 2012).

A maior desvantagem da citologia é a falta de informação relativamente à arquitetura do tecido, uma vez que, o arranjo das células nos tecidos, em caso de neoplasia, é fundamental no diagnóstico de certos tipos de tumor de forma a avaliar as margens cirúrgicas e definir se é um tumor maligno ou benigno (Radin & Wellman, 2001).

## Colheita e preparação das amostras

Como referido anteriormente, as amostras para avaliação citológica podem ser recolhidas por punção por agulha fina (PAF), impressão, raspagem ou colheita com zaragatoa (Radin & Wellman, 2001).

A PAF é o método mais utilizado na recolha de material para avaliação citológica, podendo ser utilizada na amostragem de massas cutâneas, e é a única técnica que permite a recolha de tecido subcutâneo ou de órgãos internos. Assim, a PAF permite a recolha de células do interior da lesão, evitando a superfície da mesma, que por vezes contém artefactos relacionados com o envelhecimento celular, resposta inflamatória secundária e contaminação com organismos, especialmente em massas ulceradas. Este método pode ser realizado recorrendo a aspiração (PAAF), ou sem aspiração (Valenciano & Cowell, 2020). Na PAAF, a massa é contida segurando-se firmemente com os dedos enquanto se introduz a agulha acoplada à seringa. O embolo da seringa é ligeiramente retraído permitindo a formação de vácuo, avançando e recuando a agulha em diferentes ângulos, no interior da massa, de forma a garantir uma recolha adequada de células (Campbell, 2015). Antes de retirar a agulha deve-se eliminar o vácuo da seringa e, por fim, expelir o material para uma lâmina (Wilard &

Tvedten, 2012). Relativamente ao método sem aspiração, a técnica a usar é a mesma, mas sem que a seringa esteja acoplada à agulha, sendo apenas necessário efetuar movimentos de “vai-e-vem” com a agulha (Wilard & Tvedten, 2012). Este procedimento permite a recolha de amostras na maioria das massas, sendo especialmente vantajosa em massas muito vascularizadas. A recolha de material através de PAF sem aspiração resulta na obtenção de amostras com qualidade igual ou até superior à obtida por PAAF, uma vez que esta técnica permite um maior controlo sobre a agulha e menor risco de contaminação com sangue (Valenciano & Cowell, 2020).

A técnica de impressão pode ser realizada em lesões ulceradas ou exsudativas, ou em amostras de tecido obtidas por cirurgia ou necropsia. A impressão de lesões superficiais ou de massas ulceradas, em lâminas, geralmente apresentam apenas células inflamatórias, uma vez que as células neoplásicas podem não exfoliar nos exsudados. Assim, este método é mais indicado quando se pretende observar se estão presentes bactérias ou fungos, lembrando que a presença de bactérias pode ser o reflexo apenas de uma infeção secundária (Valenciano & Cowell, 2020).

A raspagem pode ser efetuada em lesões externas, em tecido obtido em cirurgia ou necropsia. As crostas e exsudados superficiais devem ser removidos da lesão, passando posteriormente uma lâmina de bisturi na superfície da mesma, transferido o material recolhido para uma lâmina de microscópio (Ayele et al., 2017). Tal como na técnica de impressão, a raspagem pode conter principalmente contaminação ou inflamação superficial, se efetuado na superfície de lesões cutâneas ulceradas. Assim, este método não é tão valioso para um diagnóstico de neoplasia como a PAF, sendo mais indicado para lesões como, por exemplo, o complexo granuloma eosinofílico felino, ou na dermatofitose (Valenciano & Cowell, 2020).

Quanto à recolha com zaragatoa, esta geralmente só é efetuada quando as outras técnicas de recolha não são possíveis de realizar, como por exemplo, no canal auditivo, citologias vaginais ou fístulas. Caso se pretenda efetuar recolha para cultura, deve ser usada uma zaragatoa estéril para recolha da amostra (Ayele et al., 2017).

Para preparar as lâminas de tecidos sólidos para observação ao microscópio existem também diferentes técnicas, como o esfregaço, que se realiza deslizando uma lâmina limpa sobre a lâmina com a amostra. Este é, geralmente, o método mais adequado na preparação de lâminas de PAF ou raspagem. O objetivo é preparar uma camada fina e única de células, sem as roturar (Valenciano & Cowell, 2020).

É também possível utilizar a mesma técnica que se utiliza num esfregaço de sangue, principalmente em PAFs de LNs, uma vez que as células são mais frágeis, havendo menor risco de rutura (Valenciano & Cowell, 2020).

Por fim, pode utilizar-se uma preparação em “estrela-do-mar”, que consiste em arrastar o material aspirado periféricamente em diversas direções, com a ponta de uma agulha, criando um

formato de estrela-do-mar. No entanto, embora seja uma técnica que evite a destruição de células frágeis, esta não é muito utilizada, uma vez que leva à acumulação de uma camada espessa de fluido ao redor das células, impedindo que estas se espalhem adequadamente, podendo existir poucas ou nenhuma área na lâmina que sejam adequadas para a avaliação e diagnóstico (Valenciano & Cowell, 2020).

Após este processo de preparação das lâminas é necessário corar. As colorações geralmente utilizadas em Medicina Veterinária incluem colorações tipo Romanowsky, novo azul de metileno e coloração Papanicolau (Campbell, 2015).

A coloração de Papanicolau exige uma fixação húmida (ou seja, a fixação deve ocorrer antes das células secarem), usando-se, geralmente um fixador citológico ou colocando de imediato em etanol após a recolha e preparação da lâmina. Este processo, no entanto, não é necessário quando se trata de coloração tipo Romanowsky. A coloração Papanicolau permite um ótimo detalhe nuclear e é usada de forma rotineira em Medicina Humana, contudo, requer múltiplas etapas de coloração, não cora bem muitos microrganismos ou o citoplasma, não sendo prática para utilizar na maioria das clínicas veterinárias. Por este motivo raramente é utilizada em Medicina Veterinária (Valenciano & Cowell, 2020).

Assim, entre as colorações mais utilizadas, as que se encontram com mais frequência em clínicas veterinárias, são colorações rápidas como o Diff-Quik, que apresentam corantes azuis e vermelhos, conferindo-lhes características semelhantes às colorações tipo Romanowsky. O corante azul cora estruturas ácidas, como os ácidos nucleicos nos núcleos, de azul/roxo, enquanto o corante vermelho cora estruturas básicas, como as proteínas, de vermelho/laranja (Wilard & Tvedten, 2012). Este tipo de coloração tem um custo baixo, está facilmente disponível para utilizar na prática clínica, e é fácil de preparar, manter e usar. Embora não sejam tão perceptíveis os detalhes do núcleo e nucléolo como com a coloração Papanicolau, estas são suficientes para diferenciar neoplasia e inflamação e ainda definir critérios de malignidade (Valenciano & Cowell, 2020).

Após esta breve introdução, segue a descrição de três casos clínicos que pretendem ilustrar a importância da citologia em contexto clínico.

## Casos Clínicos

### Caso Clínico 1

**Identificação do animal:** Spuk, cão de raça Bulldog Francês, macho, não castrado com 1 ano e 14,4 Kg.

**Motivo da consulta:** presença de massa ulcerada na zona torácica lateral esquerda.

**Anamnese e história clínica:** o Spuk era seguido numa clínica na sua zona de residência, não existindo informação acerca do tempo de evolução da massa. Por se tratar de uma raça com um maior

risco cirúrgico, foi encaminhado para o CCVA para remoção cirúrgica e análise histopatológica do nódulo. O Spuk vive na Lousã, num apartamento com acesso ao exterior público com os tutores e sem coabitantes animais. É alimentado com ração seca e livre acesso à água. Estava devidamente vacinado (DHPPiL (vacina contra a esgana, parvovirose, hepatite infecciosa canina, parainfluenza e leptospirose), raiva e leishmaniose) e desparasitado interna e externamente. Sem passado médico e cirúrgico relevante.

**Exame de estado geral e dirigido:** o Spuk apresentava um estado mental normal, mas temperamento nervoso; as mucosas estavam brilhantes, rosadas e húmidas, e o tempo de repleção capilar (TRC) < 2 segundos; grau de desidratação < 5%; apresentava uma condição corporal de 5/9; a temperatura corporal era de 38,6°C; os movimentos respiratórios estavam normais e o pulso era bilateral e forte, com frequências de 35 rpm e 140 ppm; auscultação sem alterações cardiorrespiratórias; linfonodos (LNs) normais; sem dor na palpação abdominal. No exame dirigido observou-se uma massa subcutânea, na zona torácica lateral esquerda, firme ao toque, mas sem aderências ao tecido subjacente, com um diâmetro de aproximadamente de 4 cm, ulcerada e bastante irrigada. Restante exame físico sem alterações

**Lista de problemas:** massa subcutânea, na zona torácica lateral esquerda

**Diagnósticos diferenciais:** neoplasia (mastocitoma, histiocitoma, plasmocitoma, carcinoma das células escamosas, linfoma cutâneo, melanoma), reação de corpo estranho, quisto sebáceo, granuloma bacteriano (*actinomycose*, *mycobacterium*), paniculite nodular

**Exames complementares:** hemograma e bioquímica sanguínea sem alterações. Citologia PAAF (intra-cirúrgica) da massa subcutânea: achados citológicos compatíveis com histiocitoma (Anexo A, fig. 1); histopatologia: histiocitoma (Anexo A, tab. 1)

**Diagnóstico final:** Histiocitoma

**Tratamento e evolução:** o Spuk foi encaminhado para o CCVA para ser submetido a remoção cirúrgica da massa, tendo sido internado na clínica veterinária durante um dia (D1). Foi realizada a pré-medicação para anestesia geral com metadona (Semfortan® 0,5 mg/kg de peso corporal, IM) e medetomidina (Sedator® 0,3 ml/10 kg de peso corporal, IM), indução com propofol (IV) e manutenção com isoflurano em oxigénio. Foi também realizada analgesia com meloxicam 20mg (Meloxidolor® 0,1ml/10 kg de peso corporal, SC) e antibioticoterapia profilática com amoxicilina e ácido clavulânico (Synulox® 0,1ml/10 kg de peso corporal, SC). A cirurgia decorreu sem complicações, tendo sido a massa enviada para histopatologia (Anexo A, tabela 1). Foi ainda realizada uma PAF da massa removida, para avaliação citológica, tendo esta sido compatível com histiocitoma. Após a cirurgia ocorreu um episódio de vômito levando à administração de maropitant (Prevomax® 1ml/10 kg de peso corporal, IV). Durante o internamento não se observou qualquer alteração nos exames físicos. Ao final do dia, o Spuk já tinha recuperado completamente da anestesia, comendo e bebendo normalmente, tendo sido dada

alta. Foi receitado prednisolona 20 mg (Prednicortone® 1mg/ kg de peso corporal, PO, SID, durante 5 dias; 0,7 mg/ kg de peso corporal , PO, SID, durante 5 dias; 0,3 mg/ kg de peso corporal, PO, SID, durante 5 dias; 0,3 mg/ kg de peso corporal, PO, SID, em dias alternados, durante 5 dias), omeprazol 10 mg (0,7 mg/ kg de peso corporal, PO, SID) enquanto mantivesse o tratamento com prednisolona e antibioterapia com amoxicilina e ácido clavulânico (12,5 mg/ kg de peso corporal, PO, BID) durante 10 dias. Foi marcada consulta de controlo após 5 dias, salvo complicações. No dia seguinte (D2) o Spuk regressou com seroma e hematoma no local da cirurgia, que se prolongava para a zona abdominal, tendo ficado internado durante 3 dias (D2-D4). Foram avaliados os parâmetros bioquímicos renais, que se apresentavam sem qualquer alteração. Foi realizado um penso compressivo, substituído diariamente, e administrado etamsilato (Hemosilate® 0,1 ml/kg de peso corporal, IV), amoxicilina e ácido clavulânico (Synulox® 0,1ml/10 kg de peso corporal, SC, SID) e enrofloxacin (Enrotron® 1 ml/10 kg de peso corporal, SC, SID). Ao fim do terceiro dia (D4) já se observava uma diminuição significativa do seroma e melhorias também no hematoma, tendo sido dada alta. Para além da medicação já prescrita anteriormente, foi receitada enrofloxacin 50 mg (Enroxal Sabor® 1,73 mg/kg de peso corporal, PO, SID) durante 10 dias. Foi sugerida consulta de acompanhamento após 5 dias.

**Acompanhamento:** as consultas de acompanhamento foram realizadas na clínica onde era seguido habitualmente. O Spuk regressou ao CCVA após 20 dias, o seroma já se encontrava totalmente resolvido, a zona de incisão encontrava-se limpa e apresentava boa cicatrização, tendo sido retirados os pontos.

**Prognóstico:** uma vez que foi confirmado o diagnóstico de histiocitoma, a cirurgia foi curativa, podendo considerar-se um bom prognóstico.

**Discussão:** o histiocitoma é uma neoplasia cutânea benigna que surge geralmente em cães jovens (<3 anos de idade), podendo, no entanto, afetar animais de qualquer idade. (Itoh et al., 2006). Estes tumores surgem com alguma frequência, representando 3-14% de todos os tumores cutâneos. Estão descritos como massas únicas, pequenas (podem atingir 4 cm de diâmetro, mas a maioria das lesões tem menos de 2 cm de diâmetro), firmes, em forma de cúpula ou botão (Coomer & Liptak, 2008), levemente eritematosos, com alopecia (Barger & Macneill, 2017), e surgem, geralmente, na cabeça, pavilhão auricular, ou membros. Não são pruriginosas, sendo indolores e apresentando um crescimento rápido (Coomer & Liptak, 2008). O Spuk preenchia os critérios de idade, uma vez que tinha idade < 3 anos, sendo a lesão muito semelhante à descrita na literatura para o histiocitoma, à exceção da localização habitual.

Os histiócitos são células com funções (fagocitose e apresentação de antigénios) relacionadas com a sua interação com linfócitos em tecidos inflamados. Podem ser classificados como macrófagos ou como células dendríticas apresentadora de antigénios (DAPCs). Enquanto que os macrófagos estão envolvidos no processo inflamatório, uma vez que contêm altos níveis de enzimas lisossómicas, sendo

capazes de vários graus de fagocitose, as DAPCs apresentam baixos níveis destas enzimas, logo são, na sua maioria, incapazes de realizar fagocitose, tendo um papel fundamental na apresentação de antígenos aos linfócitos (Coomer & Liptak, 2008). O histiocitoma é uma neoplasia benigna com origem em DAPCs epidérmicas – nomeadamente nas células de Langerhans, sendo evidenciados através da expressão de CD1a, CD1b, CD1c, CD11c, E-caderina, moléculas MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade) da classe II e imunorreatividade da lisozima, e da inibição da expressão de Thy-1 (CD90) e CD4. A expressão da E-caderina é exclusiva dos histiocitomas, e a inibição da expressão de Thy-1 e CD4 ajuda a diferenciar os histiocitomas da histiocitose reativa (Coomer & Liptak, 2008). Assim, tendo em conta os recentes estudos imuno-histoquímicos e ultraestruturais, que demonstram que o histiocitoma é uma proliferação de células de Langerhans na pele, foi já sugerido renomear esta patologia como “histiocitose epidermotrópica das células de Langerhans”(Itoh et al., 2006).

Geralmente, o histiocitoma regride de forma espontânea após 1 a 2 meses (Coomer & Liptak, 2008). Quando as massas são persistentes, estas podem ulcerar, representando um risco de infeção bacteriana. Quando surgem histiocitomas múltiplos, estes podem persistir por mais tempo, devido à sobreposição entre a regressão de massas antigas e o desenvolvimento de novas massas. É também possível surgir linfadenomegalia regional, devido à migração de células do histiocitoma, no entanto esta resolve-se com o desaparecimento das lesões cutâneas (Coomer & Liptak, 2008). Foram ainda reportados, num Daschund de 8 meses de idade, a presença de histiocitomas metastáticos; no entanto, esta forma parece estar relacionada com a síndrome de histiocitose de células de Langerhans (HCL) observada no Homem (Coomer & Liptak, 2008). A terapia conservadora pode ser benéfica no caso de histiocitomas na face e extremidades, onde a reconstrução da pele e o manejo pós-operatório após a ressecção são mais problemáticos. (Itoh et al., 2006) No entanto, apesar de ser espectável que ocorra a regressão espontânea do histiocitoma, é recomendada a excisão cirúrgica se esta não ocorrer dentro de 3 meses (Coomer & Liptak, 2008), de forma a evitar a progressão para uma neoplasia histiocítica maligna (Barger & Macneill, 2017). Ao se optar por um tratamento conservativo, em casos de suspeita de histiocitoma, deve ter-se sempre em consideração a confiança no diagnóstico clínico, o local de origem e o estágio do tumor, desde o crescimento até à sua regressão. Assim, no caso de úlceras persistentes e prurido, ou em situações raras de massas com mais de 3 meses de duração, com tamanho > 20 mm ou que surjam em cães com idade mais avançada, deve ponderar-se a possibilidade da presença de outras patologias e adequar o tratamento, considerando a possibilidade de ressecção cirúrgica, em casos em que é necessária uma recuperação mais precoce e diagnóstico definitivo (Itoh et al., 2006).

No caso do Spuk, não existia informação acerca da evolução da massa, podendo a mesma estar presente há menos de 3 meses, no entanto, o tamanho superior a 20 mm justificava a recessão cirúrgica.

Embora o mecanismo de regressão dos histiocitomas não seja totalmente conhecido, sugere-se o papel dos linfócitos T na regressão espontânea deste tumor (Itoh et al., 2006). Assim, os histiocitomas são progressivamente infiltrados por linfócitos, os quais vão mediar a lise dos histiócitos neoplásicos, uma vez que foi demonstrado que estes infiltrados são ricos em células T CD8+ (células citotóxicas com capacidade de promover esta regressão). Estudos demonstraram ainda que células mononucleares, isoladas de histiocitomas em cães, possuem propriedades aloestimulantes numa reação leucocitária mista (MLR), surgindo a teoria de que os histiócitos tumorais poderiam mediar a própria destruição, caso funcionassem como células apresentadoras de antigénios. No entanto, existe maior probabilidade que a migração de ADPCs normais (em vez de histiócitos tumorais) para os LFNS resulte na apresentação do antigénio às células T naïve e posterior recrutamento de células T de memória e efectoras para a lesão cutânea (Fulmer & Mauldin, 2007; Moore, 2014; Moore et al., 1996).

Cockerell and Slauson, em 1979, classificaram o histiocitoma em 4 grupos (Anexo 1, tabela 2), tendo como critério o grau de infiltração linfocítica na neoplasia (Itoh et al., 2006). No entanto, não conseguiram demonstrar uma relação entre esta classificação e o curso clínico da patologia, nem com a velocidade de crescimento do tumor. Porém, uma vez que a identificação do grau de infiltração linfocítica é uma forma de estadiar o histiocitoma, mantém-se a hipótese de existir uma correlação com as características clínicas da doença, permitindo definir a melhor estratégia de tratamento (Itoh et al., 2006).

Assim, Itoh et al. (2006), avaliaram as características clínicas do histiocitoma em cães, bem como a utilidade do estadiamento histológico baseado na infiltração de linfócitos e avaliação do índice mitótico, o curso clínico da patologia e a relação com os achados macroscópicos em determinados estágios clínicos. Os resultados deste estudo demonstraram uma diminuição acentuada da atividade proliferativa com a progressão dos estágios, demonstrando que esta classificação reflete o processo do crescimento até à regressão do tumor. Por outro lado, o tamanho do tumor não apresentava qualquer relação com o avançar dos estágios. Desta forma, o tamanho máximo do histiocitoma (tamanho antes de começar a regredir) varia de caso para caso. Não existiu também uma correlação entre os dias decorridos e a duração de cada um dos estágios, sendo difícil determinar o estágio com base no tempo decorrido. Foi ainda demonstrado que um histiocitoma sem ulceração tem maior probabilidade de ser um tumor ainda precoce a nível do crescimento. Assim, a existência de ulceração pode ser uma informação útil para estimar o estágio (Itoh et al., 2006).

Existindo já ulceração no tumor do Spuk, pode depreender-se que este já se encontrava numa fase avançada e possivelmente perto da regressão.

Para obter os resultados do estudo, referido anteriormente, da avaliação das características do histiocitoma, foi realizado um diagnóstico por citologia, através de PAAF, tendo sido sugerido que as diferenças nos achados histológicos em cada estágio são refletidos na citologia, sendo assim possível

inferir o estágio a partir de linfócitos observados em citologia. Assim, quando existe suspeita de histiocitoma na citologia, a observação atenta dos linfócitos, bem como das células tumorais, pode fornecer informação útil para adequar o tratamento em cada caso. Por exemplo, se a amostra citológica contiver poucos linfócitos, sugerindo que se trata de um histiocitoma no estágio 1, a ressecção cirúrgica é uma opção a ter em conta, uma vez que reduz significativamente o período de doença; por outro lado, se a amostra apresentar muitos, sugerindo estar no estágio 4, a regressão pode ocorrer precocemente e, neste caso a cirurgia não se apresenta como uma mais-valia. No entanto, em caso de histiocitomas no estágio 4, se não ocorrer a regressão em pouco tempo, deve considerar-se a possibilidade da presença de outros tumores, como o linfoma (Itoh et al., 2006). Embora nas imagens citológicas, o histiocitoma do Spuk seja sugestivo de estar já no estágio 4, tal como referido anteriormente não existia história pregressa acerca do crescimento do tumor, não sendo possível afirmar se já tinha ou não ultrapassado o tempo espectável para a regressão. Ainda assim, a opção de remoção cirúrgica era justificável devido ao tamanho do tumor.

As características citológicas de amostras de histiocitomas incluem aglomerados de células redondas ou ovais, com quantidade variável de citoplasma basófilo, que se torna mais pálido nas extremidades da célula, sem vacuolização, e núcleos redondos a ovoides, posicionados excentricamente, com cromatina finamente granular e nucléolos indistintos (Coomer & Liptak, 2008). Podem observar-se figuras mitóticas e há um leve fundo proteico basófilo. À medida que estes tumores começam a regredir, observa-se um infiltrado de pequenos linfócitos, o que ajuda a distinguir os histiocitomas de tumores de plasmócitos. Este infiltrado pode, no entanto, tornar-se o tipo celular predominante e dificultar o diagnóstico citológico de histiocitoma (Barger & Macneill, 2017).

Histologicamente, surgem como um infiltrado dérmico denso de células redondas, mal demarcado e não encapsulado, associado a um epitélio hiperplásico (Raskin & Meyer, 2016). Os histiocitomas cutâneos são organizados em lâminas uniformes de histiócitos que penetram na derme ou hipoderme. A população é de células redondas, monomórficas, com núcleos vesiculares grandes, redondos, recortados ou irregulares, e pode estar densamente compactada nas camadas mais profundas da derme. As fibras de colágeno e os anexos da pele podem estar deslocados (Coomer & Liptak, 2008).

Devido à invasão epidérmica e à agregação de linfócitos, pode ser necessário realizar fenotipagem imunohistoquímica para descartar um linfoma epiteliotrópico (Coomer & Liptak, 2008).

A imunomarcagem das células dos histiocitomas cutâneos podem apresentar coloração positiva para marcadores histiocíticos como CD1, mas, ao contrário da histiocitose reativa, geralmente apresentam resultado negativo para CD4 e CD90 (Thy-1). Este fenótipo é consistente com o dos DAPCs epidérmicos não ativados e é uma diferença significativa entre o histiocitoma cutâneo e a histiocitose

reativa. No entanto, a ausência de marcação para o CD4 não é um diagnóstico definitivo para histiocitoma cutâneo (Coomer & Liptak, 2008).

Uma vez que os fármacos imunossupressores podem interferir na regressão espontânea, ao inibir a infiltração de células T, o seu uso é contraindicado no caso de histiocitomas; portanto, todos os esforços devem ser feitos para diferenciar o histiocitoma cutâneo da histiocitose reativa não neoplásica (Coomer & Liptak, 2008).

O prognóstico é excelente a bom, uma vez que o tumor regride, geralmente, de forma espontânea após 3 meses, e a taxa de recorrência é muito baixa (Raskin & Meyer, 2016). A grande diferença entre o prognóstico desta patologia neoplásica e o da histiocitose reativa não neoplásica deve-se ao fato de que a terapia cirúrgica para o histiocitoma cutâneo ser curativa e limitada a um procedimento, em vez de prolongada e imunossupressora (Coomer & Liptak, 2008).

## Caso Clínico 2

**Identificação do animal:** Hydra, cadela Pitt Bull, fêmea, não castrada com 11 anos e 24,5 Kg.

**Motivo da consulta:** Presença de nódulo mamário em M4 da cadeia mamária esquerda, e nódulo cutâneo na zona abdominal.

**Anamnese e história clínica:** a Hydra era acompanhada numa clínica na sua zona de residência, e foi encaminhada para o CCVA para remoção cirúrgica nódulo mamário e cutâneo abdominal com evolução de 3 meses. É uma cadela que vive em apartamento, com acesso ao exterior e sem coabitantes animais. É alimentada com ração seca e esporadicamente com alimentos caseiros, e livre acesso à água. Estava devidamente vacinada (DHPPiL e raiva) e desparasitada interna e externamente. Quanto ao passado médico, tinha já sido encaminhada há 1 ano para o CCVA para realização de ecografia abdominal onde se observou um nódulo esplénico. Foi sugerido um acompanhamento após 6 meses que não foi realizado.

**Exame de estado geral e dirigido:** a Hydra apresentava um estado mental e temperamento normais; as mucosas estavam brilhantes, rosadas e húmidas, e TRC < 2 segundos; grau de desidratação < 5%; apresentava uma condição corporal de 4/9; a temperatura corporal era de 38,1°C; os movimentos respiratórios estavam normais e o pulso era bilateral e forte, com frequências de 30 rpm e 120 ppm; auscultação sem alterações cardiorrespiratórias; LNs normais; sem dor na palpação abdominal. No exame dirigido observou-se um nódulo na mama M4 da cadeia mamária esquerda e um nódulo cutâneo abdominal, firme ao toque, aparentemente sem aderências, e ambos com um diâmetro de aproximadamente 1 cm. Os nódulos não se encontravam ulcerados, nem com sinais de inflamação. Restante exame físico sem alterações

**Lista de problemas:** nódulo cutâneo na zona abdominal e nódulo em M4 da cadeia mamária esquerda

**Diagnósticos diferenciais:** neoplasias mamárias malignas (carcinoma, adenocarcinoma, sarcoma), neoplasias mamárias benignas (fibroadenoma, adenoma, tumor mesenquimatoso), hiperplasia mamária, granuloma, ectasia ductal, reação de corpo estranho, lipoma.

**Exames complementares:** hemograma e bioquímica sanguínea sem alterações. Na ecografia abdominal observou-se uma ligeira distensão da vesícula biliar, com parede fina e conteúdo anecoico, e o baço com um parênquima ligeiramente heterogéneo, identificando-se uma estrutura nodular de diâmetro aproximado 5mm/7mm, difusa, sendo estes achados inespecíficos e provavelmente fisiológicos, foi recomendado novo controlo ecográfico após 6 meses. Restantes parâmetros ecográficos sem alterações relevantes (Anexo B, fig. 1). Citologia por PAAF (intra-cirúrgica) dos nódulos: achados citológicos do nódulo mamário compatíveis com carcinoma (Anexo B, fig. 2); nódulo cutâneo na zona abdominal: amostra pouco celular, apenas com ocasionais células fusiformes. Histopatologia: confirmou carcinoma mamário e excisão com boas margens, no entanto o relatório histopatológico foi enviado apenas para a clínica que segue a Hydra.

**Diagnóstico final:** Carcinoma mamário

**Tratamento e evolução:** a Hydra foi encaminhada para o CCVA para remoção cirúrgica dos nódulos, mamário e cutâneo, e ovariectomia (OVH), tendo sido internada durante 1 dia. Foi realizada medicação pré-cirúrgica, para anestesia geral, com metadona (Semfortan® 1 mg/kg de peso corporal, IM) e medetomidina (Sedator® 0,3 ml/10 kg de peso corporal, IM), indução com propofol (IV) e manutenção com isoflurano em oxigénio. Foi também realizada analgesia com meloxicam 5 mg (Melovem® 0,04 ml/kg de peso corporal, SC) e antibioticoterapia profilática com amoxicilina e ácido clavulânico (Synulox® 0,1ml/10 kg de peso corporal, SC). Foi realizada uma mastectomia parcial, de M4 e M5 e respetivo LN; a cirurgia decorreu sem complicações, tendo-se enviado o nódulo para histopatologia. Foi também realizada uma PAAF do nódulo removido, para avaliação citológica. Durante o internamento não se observou qualquer alteração nos exames físicos e ao final do dia a Hydra já tinha recuperado da anestesia, comendo e bebendo normalmente, tendo sido dada alta. Foi receitada antibioterapia com amoxicilina e ácido clavulânico (10 mg /kg de peso corporal, PO, BID) durante 10 dias e meloxicam 1,5 mg (Adocam® 0,1 mg /kg de peso corporal, PO, SID) durante 4 dias. Foi recomendada consulta de controlo após 10 dias, salvo complicações.

**Acompanhamento:** as consultas de acompanhamento foram realizadas na clínica onde a Hydra era seguida habitualmente.

**Prognóstico:** uma vez que o tumor foi totalmente removido com boas margens considera-se um bom prognóstico

**Discussão:** as neoplasias da glândula mamária representam os tumores mais comuns em cadelas sexualmente intactas. No entanto as taxas de incidência relatadas variam dependendo da origem dos estudos e das características da população de origem. Dados de registos europeus, nacionais ou regionais, que nos dão informação acerca da incidência de tumores em geral, mostram que as neoplasias mamárias em cadelas representam 50 a 70% de todos os tumores (Sorenmo et al., 2012). Afetam principalmente animais com mais de 7 anos de idade e manifestam-se como nódulos de diferentes tamanhos, geralmente bem definidos. As neoplasias mamárias malignas têm a capacidade de metastizar para os LN regionais e para órgãos distantes como os pulmões. Por vezes, podem mesmo migrar para órgãos abdominais, como fígado, baço e rins; podem ainda ocorrer lesões ósseas metastáticas. As cadelas desenvolvem neoplasias malignas espontaneamente, partilhando várias características clínicas, patológicas e moleculares com os humanos (Vazquez et al., 2023).

A etiologia do carcinoma mamário canino não está ainda completamente compreendida, no entanto, sabe-se que existem três fatores principais que desempenham papéis importantes no risco de neoplasia mamária: a idade, exposição hormonal e raça. Em menor grau, mas também com alguma influência, a dieta e o peso corporal ou a obesidade também podem contribuir para este risco. A idade média de apresentação das neoplasias mamárias malignas varia entre os 8 e os 10 anos, podendo também desenvolver-se em cadelas de meia-idade (entre os 5 e os 7 anos de idade). A idade onde se observa o pico de incidência vai depender também da esperança de vida da raça, uma vez que, regra geral, as raças maiores têm uma esperança de vida mais curta, logo tendem a ser mais jovens quando diagnosticadas (Sorenmo et al., 2012). A esterilização é um outro fator a ter em conta, uma vez que o risco de desenvolver tumores mamários é quatro vezes superior em cadelas não esterilizadas do que nas cadelas esterilizadas antes dos dois anos de idade. Constatou-se ainda que, em cadelas esterilizadas antes do primeiro cio, a incidência de tumores mamários foi de 0,5%, observando-se uma diminuição rápida do efeito protetor da OVH após os primeiros ciclos éstricos (Sorenmo et al., 2012), passando a 8% e 26% após o primeiro e segundo cio, respetivamente. Após o terceiro cio, o risco de desenvolver uma neoplasia mamária é considerado como semelhante ao de uma cadela não esterilizada. Em cadelas, a obesidade é também um fator de risco para o desenvolvimento precoce de tumores mamários de alto grau, estando ainda associada a um menor tempo de sobrevivência (Vazquez et al., 2023). O uso de injeções de progesterona, com o objetivo de prevenir o estro, demonstrou um aumento do risco de desenvolver neoplasias mamárias benignas, mas não malignas (Lana et al., 2007). Um outro fator que pode influenciar a incidência desta patologia é a raça; existem variações raciais significativas na incidência de tumores mamários, sugerindo que, além da idade e dos fatores hormonais, a suscetibilidade genética hereditária associada à raça também contribui para o risco de tumores mamários. Regra geral as neoplasias mamárias tendem a ser mais frequentes em raças pequenas, assim como em raças puras; dentro das raças pequenas os Poodles, Chihuahuas,

Dachshunds, Yorkshire terriers, Maltese e Cocker spaniels têm sido as raças mais referidas como alto risco de neoplasia mamária. No entanto algumas das raças maiores têm também um risco aumentado de neoplasia mamária, como o Springer spaniel inglês, Setter inglês, Brittany spaniel, Pastor alemão, Pointer, Doberman e Boxer (Sorenmo et al., 2012). Embora seja também possível a ocorrência deste tipo de neoplasias em cães machos, o risco é de apenas 1%, ou menos (Lana et al., 2007). A Hydra apresentava dois dos fatores principais que aumentam o risco de neoplasia mamária, tais como a idade > 7 anos (11 anos) e os fatores hormonais, uma vez que não era castrada.

Relativamente aos fatores de risco, torna-se claro que a exposição a hormonas ováricas é importante no desenvolvimento de tumores mamários em cães (Sorenmo et al., 2012). Assim, fisiologicamente, os esteroides ováricos estimulam o crescimento normal do tecido mamário, no entanto, o efeito proliferativo neste tecido, pode criar o ambiente perfeito para a proliferação neoplásica. As hormonas ováricas, principalmente os estrogénios e progesterona, desempenham um papel importante no desenvolvimento de tumores mamários (Vazquez et al., 2023). A maioria das cadelas desenvolve tumores em múltiplas glândulas, sendo frequente encontrar, nestes casos, neoplasias benignas com progressão histológica, como o aumento do tamanho do tumor e áreas de transição, como o carcinoma in situ. Esta informação dá-nos a evidência de que as neoplasias mamárias benignas e malignas não são entidades separadas, podendo ser consideradas como um continuum biológico e histopatológico no qual os carcinomas invasivos são o estágio final do processo (Sorenmo et al., 2012).

A maioria dos cães com neoplasia mamária não apresentam sintomatologia clínica no momento em que é efetuado o diagnóstico. Clinicamente manifestam-se, geralmente, como nódulos de tamanho variável, firmes e bem definidos. Estes podem ocorrer em múltiplas glândulas ao mesmo tempo ou coexistir na mesma glândula mamária, e ser de diferentes tipos e graus histológicos, e a pele da área afetada pode estar ulcerada ou traumatizada (Vazquez et al., 2023). O tumor está geralmente associado ao tecido glandular, no entanto pode surgir associado ao mamilo, e pode desenvolver-se em qualquer um dos cinco pares mamários. No entanto, 65% a 70% dos casos ocorrem nas glândulas 4 e 5, provavelmente devido ao maior volume de tecido mamário nessas glândulas. Em cães com neoplasias mamárias benignas, o nódulo é geralmente pequeno, bem circunscrito e firme à palpação. Os sinais clínicos de malignidade incluem crescimento rápido, limites mal definidos, aderências à pele ou tecidos subjacentes e ulceração ou inflamação. A presença de um ou mais destes sinais pode indicar que existe um aumento no risco de crescimento maligno subjacente (Lana et al., 2007). Os LN regionais também podem estar aumentados, pelo que a sua avaliação e palpação são obrigatórias durante o diagnóstico. Contudo, quando existem metástases, o animal pode apresentar fadiga, letargia, perda de peso, dispneia, tosse, edema ou claudicação, sendo que os sinais clínicos dependem da extensão e localização destas metástases. Aproximadamente 50% dos carcinomas mamários metastizam para os

LN regionais, podendo ocorrer metástases à distância, mais frequentemente para o pulmão (Vazquez et al., 2023).

Assim, têm sido desenvolvidos esforços no estabelecimento de critérios de padronização do diagnóstico, na compreensão do comportamento e evolução das neoplasias mamárias e na avaliação de fatores prognósticos (como a morfologia, expressão de oncogenes e alterações genéticas). Estes parâmetros vão-nos permitir escolher a terapia mais adequada, de forma a diminuir a possibilidade de recorrência do tumor, e aumentar o tempo de sobrevida (Cassali, 2013).

Contudo, a evidência histológica de malignidade não implica invariavelmente um curso clínico maligno, podendo mesmo ocorrer variação acentuada na aparência histológica dentro da mesma massa tumoral. A maioria das neoplasias mamárias malignas são classificadas como tumores epiteliais ou carcinomas. Os sarcomas puros (fibrossarcoma, osteossarcoma, sarcoma de outro tipo) representam uma minoria. Algumas neoplasias malignas são ainda compostas por células morfológicamente semelhantes aos componentes epitelial e ao tecido conjuntivo, estas são designados por carcinossarcomas. As neoplasias benignas incluem adenomas simples/complexos, fibroadenomas e o tumor misto benigno (com uma componente epitelial e uma componente mesenquimal de cartilagem e/ou osso e/ou gordura) (Lana et al., 2007).

Geralmente o diagnóstico é efetuado após um achado acidental durante um exame físico de rotina em consulta veterinária ou após os tutores reportarem a presença de um ou múltiplos nódulos na glândula mamária. Após a identificação dos nódulos, o diagnóstico definitivo e o grau do tumor são estabelecidos com base na análise histopatológica, estabelecendo não só o tipo e grau histológico do tumor, mas também a expressão de ER (recetor de estrogénio), PR (recetor de progesterona) e HER-2 (recetor 2 do fator de crescimento epidérmico humano), que permitem avaliar melhor o prognóstico e estabelecer protocolos de tratamento apropriados (Vazquez et al., 2023). O tecido da glândula mamária normal ou uma neoplasia mamária benigna, contêm RE e RP geralmente em níveis elevados. Já os carcinomas, desprovidos de epitélio normal, apresentam valores reduzidos de RE e RP. De uma forma geral, este padrão sugere uma perda de dependência dos esteroides nos tumores mamários malignos (Lana et al., 2007). Assim, a biópsia excisional é uma boa opção para o diagnóstico histopatológico, uma vez que para além de permitir uma avaliação histológica completa, pode mesmo, em alguns casos ser terapêutica.

A citologia de uma PAAF nem sempre leva ao diagnóstico, devido à heterogeneidade dos tumores mamários em cães, e à variabilidade da morfologia celular nas diferentes áreas tumorais, logo nem sempre é possível diferenciar entre tumores benignos e malignos de origem epitelial (Vazquez et al., 2023). Ou seja, uma vez que as neoplasias mamárias em cadelas podem apresentar constituições diferentes, ao efetuar a citologia de uma PAAF de um nódulo mamário é possível encontrar células resultantes de reações inflamatórias, conteúdo quístico ou células neoplásicas, podendo levar a

resultados falso negativos (Risati et al., 2014). Existem, vários estudos, em cães, que relatam baixa sensibilidade e especificidade da citologia de uma PAAF, no entanto, esta pode ser útil para descartar outro tipo de lesões, como inflamação, hiperplasia, mastocitomas entre outras (Lana et al., 2007).

No entanto, embora nem sempre seja possível efetuar o diagnóstico citológico de neoplasia mamária maligna, no caso da Hydra a citologia é sugestiva de malignidade, com presença de anisocariose e nucléolos proeminentes, incluindo macronúcleolos e algumas figuras de mitose (Anexo B, fig. 2).

O estadiamento é sempre importante, uma vez que os carcinomas mamários, tal como já referido, podem metastizar principalmente para os LN e pulmões. Assim, deve ser efetuada a exploração clínica dos LN regionais e caso estes estejam palpáveis ou aumentados devem ser avaliados, recolhendo uma amostra para citologia ou histopatologia, de forma a confirmar ou descartar a presença de metástases. Uma vez que os pulmões são o local mais frequente de metástases em neoplasias mamárias, deve ser efetuada uma radiografia do tórax com três projeções (LL direita e esquerda e VD). Embora seja menos frequente, é também possível encontrar metástases no fígado, ossos, cérebro, baço, rim, glândula adrenal, útero, coração, músculo e pâncreas, devendo assim ser efetuados exames complementares como ecografia abdominal, radiografias ósseas ou Tomografia Computorizada (TAC) de forma a descartar qualquer uma destas possibilidades (Vazquez et al., 2023).

Uma vez que a Hydra apresentava fatores de risco significativos para a presença de uma neoplasia mamária maligna, deviam ter sido efetuados outros exames diagnósticos complementares, considerando, pelo menos a realização da radiografia pulmonar devido ao risco de metástases para este órgão. Foi efetuada uma ecografia abdominal com o achado de uma estrutura nodular no baço que devia ter sido tida em consideração, e realizada uma PAAF para confirmar se poderia tratar-se de metástases.

Um estadiamento exato e preciso é importante antes do início do tratamento (Lana et al., 2007). Para estadiar os tumores mamários é utilizado o sistema TMN (tumor, linfonodo e metástase) estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Neste sistema o animal é inserido num dos cinco estágios clínicos, tendo em conta o tamanho do tumor, a presença de metástases nos LN e presença de metástases à distância (Anexo 2, tabela 1) (Vazquez et al., 2023). As características mais importantes a serem observadas no tumor primário são o crescimento rápido recente, tamanho, evidência clínica de invasividade (fixação na pele ou fáscia), ulceração e evidência clínica de carcinoma inflamatório (Lana et al., 2007). Embora a histopatologia continue a ser a base para o diagnóstico de neoplasias mamárias em cães, a avaliação histológica continua a ser um desafio para a sua classificação, uma vez que a heterogeneidade morfológica intrínseca destes tumores, com envolvimento frequente de diferentes populações celulares, desafia a tarefa do patologista para fornecer uma classificação precisa. Nos últimos anos tem sido maioritariamente utilizada a

classificação histológica da OMS, que incluía 6 categorias de tumores benignos e 14 subtipos malignos. Mais recentemente Goldschmidt et al (2011) desenvolveram um esquema de classificação histológica alternativo reconhecido como classificação de 2011. Esta enfatiza arranjos arquitetônicos de células neoplásicas e envolvimento de células mioepiteliais no processo neoplásico, sendo uma classificação completa com 7 subtipos benignos e 23 malignos, e seu valor prognóstico foi recentemente demonstrado (Canadas et al., 2019).

O diagnóstico histopatológico vai permitir obter informações sobre o tipo de tumor, o grau histopatológico de malignidade, a presença ou não de permeabilidade vascular ou linfática, margens cirúrgicas, estado dos LNs e tamanho do tumor. Estas informações, em conjunto com o estadiamento vão permitir estabelecer um prognóstico adequado (Vazquez et al., 2023).

A cirurgia continua a ser o tratamento de escolha para cadelas com neoplasias da glândula mamária, exceto em casos de carcinomas inflamatórios ou metástases à distância. O tipo de cirurgia depende da extensão da doença (Lana et al., 2007).

Geralmente, as neoplasias malignas são significativamente maiores que as benignas, e já foi descrito que 60% dos animais têm múltiplos tumores mamários que se comportam como neoplasias primárias independentes com diferentes características histopatológicas. Com a cirurgia pretende-se remover todas as neoplasias com margens cirúrgicas completas e prevenir a formação de novos tumores mamários. Uma outra vantagem da excisão cirúrgica, é que ela vai permitir o exame histopatológico do tecido. Assim, a cirurgia é associada a um aumento de tempo de sobrevivência e qualidade de vida dos animais, podendo em alguns casos ser mesmo curativa, como em neoplasias benignas, neoplasias malignas de baixo grau histológico ou animais em estágios iniciais. A mastectomia realizada pode ser simples, regional, radical ou uma combinação destes procedimentos, dependendo sempre do tamanho, localização e número de neoplasias. Para além disto, o LN associado à drenagem linfática das glândulas mamárias com neoplasia deve também ser removido, uma vez que o sistema linfático é considerado a principal via de metástases de neoplasias mamárias da cadela. Assim, a primeira e segunda glândula mamária drenam para o LN axilar ipsilateral, a terceira glândula mamária drena simultaneamente para o LN axilar ipsilateral e para o inguinal superficial e a quarta e quinta glândulas mamárias drenam para o LN inguinal superficial. Este conhecimento é fundamental para programar a extensão da excisão cirúrgica de forma a estabelecer o melhor prognóstico pós-cirúrgico, no entanto, no caso de neoplasias mamárias em cadelas, o tipo e a extensão da cirurgia não estão ainda padronizados (Vazquez et al., 2023).

A realização de OVH durante a mastectomia é outro ponto a ter em conta. Um estudo sobre o efeito de uma OVH no momento da remoção cirúrgica de neoplasias mamárias não malignas demonstrou que do grupo que realizou apenas mastectomia, 64% das cadelas desenvolveram novos tumores mamários, enquanto apenas 36% das cadelas submetidas a OVH e mastectomia tiveram

recorrência de neoplasias mamárias. Estes resultados apoiam a realização da OVH no momento da remoção dos tumores mamários de forma a reduzir o risco de desenvolvimento de novos tumores (Vazquez et al., 2023). No entanto esta opinião não é consensual, existindo diversos estudos que não demonstram vantagem na realização da OVH aquando da mastectomia. Em cadelas com tumores grandes, metástases nos LN ou características histopatológicas desfavoráveis, a terapia local geralmente não é eficaz, sendo necessário complementar a excisão cirúrgica com tratamento sistémico. Não existe atualmente um tratamento padrão após a cirurgia para cadelas com doença local avançada, carcinoma mamário metastático ou tipos histopatológicos agressivos (como carcinomas sólidos, carcinomas micropilares, carcinomas anaplásicos e carcinossarcomas), no entanto, tratamentos como radioterapia, anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), quimioterapia, terapia hormonal ou terapia antiangiogénica, podem ser uma mais-valia (Vazquez et al., 2023). Embora a quimioterapia adjuvante seja frequentemente o tratamento de eleição para as neoplasias de mama em humanos, existe pouca informação acerca da sua eficácia em cadelas (Lana et al., 2007). No entanto, existem diversos protocolos utilizados, em Medicina Veterinária, em cadelas com neoplasias mamárias malignas (5-fluorouracil e ciclofosfamida; doxorubicina ou docetaxel; carboplatina e piroxicam/firocoxib; mitoxantrona e firocoxib) (Vazquez et al., 2023). Também com a radioterapia a informação disponível em cadelas é muito limitada, sendo esta considerada útil apenas em cadelas com neoplasias demasiado extensas para a realização de cirurgia. A eficácia da radioterapia em neoplasias malignas retiradas com margens incompletas, ainda não foi definida em cadelas (Lana et al., 2007).

Assim, com base em diferentes estudos, determinou-se os seguintes fatores como prognósticos: tamanho do tumor, envolvimento de LNs, presença de metástase à distância, tipo histológico, grau de malignidade, grau de diferenciação nuclear, evidência de reatividade celular linfóide na vizinhança do tumor, grau de invasão, crescimento intravascular, atividade do RE, fração da fase S como medida de proliferação, aneuploidia do ácido desoxirribonucleico (DNA) e número de AgNORs (Regiões Organizadoras Nucleolares Argirofilas coradas com prata) (Lana et al., 2007).

Uma vez que não foram realizados exames complementares que permitissem classificar a neoplasia da Hydra, bem como a possibilidade de existência de metástases, torna-se complicado antecipar um prognóstico correto, uma vez que sendo uma neoplasia de baixo grau sem metástases o prognóstico seria favorável, caso contrário, a cirurgia de forma isolada pode não ter cumprido com o objetivo que se pretendia, e a Hydra poderia ter beneficiado de tratamento adicional, como quimioterapia.

### Caso Clínico 3

**Identificação do animal:** Oreo, furão macho, não castrado, com 5 anos e 900 g.

**Motivo da consulta:** Perda de peso e de pelo.

**Anamnese e história clínica:** os tutores referem que tem perdido peso e pelo de forma progressiva nas últimas semanas. Vive numa loja de animais, sendo os tutores donos da mesma; sem acesso ao exterior, mas tem contacto diário com diferentes animais. É alimentado com ração seca e tem livre acesso à água. Estava devidamente vacinado (cinomose e raiva), mas não se encontrava desparasitado. Sem passado médico e cirúrgico relevante.

**Exame de estado geral e dirigido:** o Oreo apresentava um estado mental e temperamento normais; as mucosas estavam brilhantes, pálidas e húmidas; grau de desidratação < 5%; apresentava uma condição corporal de 3/9; a temperatura corporal era de 39,9°C; os movimentos respiratórios estavam normais; a frequência respiratória era de 31 rpm e a cardíaca de 300 bpm; auscultação sem alterações cardiorrespiratórias. Sem dor na palpação abdominal. Apresentava uma linfadenopatia e alopecia generalizadas, sem sinais de prurido. Restante exame físico sem alterações.

**Lista de problemas:** aumento dos LNs, alopecia e perda de peso

**Diagnósticos diferenciais linfadenopatia generalizada:** neoplasia primária (linfoma, mieloma múltiplo, histiocitose maligna), infeção (bacteriana, parasitária, fúngica), hiperplasia reativa, linfadenite.

**Diagnósticos diferenciais alopecia generalizada:** insulínoma, parasitas externos, alergia alimentar, dermatite atópica, hipotireoidismo, linfoma

**Exames complementares:** citologia PAAF dos LN: achados citológicos compatíveis com linfoma (Anexo C, fig. 1). Não foram realizados mais exames complementares por opção dos tutores.

**Diagnóstico final:** Linfoma

**Tratamento e evolução:** após apresentação do diagnóstico e possibilidade de tratamento aos tutores do Oreo, estes não pretenderam realizar mais exames complementares que permitissem direcionar o tratamento de forma mais adequada, nem prosseguir com um tratamento mais invasivo. Desta forma, foi receitada prednisolona (2mg/kg de peso corporal, PO, SID) como tratamento prolongado.

**Acompanhamento:** as consultas de acompanhamento foram realizadas mensalmente, para avaliar a condição física do Oreo. Embora continue ativo e a alimentar-se, continua a perder pelo, e após 2 meses o peso reduziu para 700 g, representando uma perda de 22.2% de peso.

**Prognóstico:** uma vez que o linfoma é uma patologia, só por si, com um prognóstico reservado, e tendo em conta que os tutores não se encontram muito cooperativos para encontrar outro tipo de terapia, caso seja necessário, considera-se mau prognóstico.

**Discussão:** o linfoma é a terceira neoplasia mais comum, sendo a neoplasia maligna hemolinfática mais frequente nos furões, e a sua prevalência representa 10% a 15% das neoplasias de furões nos Estados Unidos e na Europa (Henry et al., 2021). Este pode ser classificado como multicêntrico, gastrointestinal, mediastinal, cutâneo ou extranodal, dependendo do local de origem, sem relação etária. No entanto, consideram-se duas variantes de linfoma: a forma linfoblástica que afeta, por norma, furões jovens com menos de 2 anos de idade, envolvendo normalmente o mediastino (onde se observam grandes massas que deslocam o coração e os pulmões dorso-caudalmente), medula óssea, timo, baço e fígado, geralmente com infiltrados de linfoblastos, imaturos e atípicos de imunofenótipo T (Hess, 2005). Este tipo de linfoma tem um início agudo e trata-se uma forma agressiva e multicêntrica de linfoma, progredindo rapidamente e é invariavelmente fatal (Mayer & Burgess, 2012); e a forma linfocítica, a mais comum, e que ocorre, em regra, em furões com mais de 2 anos de idade, como pode ser o caso do Oreó. Neste caso os furões apresentam, geralmente, um desenvolvimento crónico da patologia, com envolvimento de órgãos viscerais, especialmente rins, LN, baço e fígado (Gupta et al., 2010) e com história clínica de LN periféricos acentuadamente aumentados e geralmente com uma população homogénea de linfócitos neoplásicos maduros e bem diferenciados. Pode ainda ser identificada uma terceira forma, o linfoma polimórfico imunoblástico, que é a mais rara, podendo surgir em furões de qualquer idade, sendo caracterizado pela proliferação de linfoblastos com formas multinucleadas ou cariomegalia, linfócitos grandes e atípicos e linfócitos pequenos. Quando apresentam esta forma de linfoma, os furões podem ter variados graus de linfadenopatia periférica e envolvimento de órgãos viscerais (Hess, 2005). O Oreó também se poderia enquadrar nesta forma de linfoma, uma vez que estava presente linfadenopatia periférica, no entanto, mais uma vez seria necessário a realização de diagnósticos complementares de forma a confirmar o envolvimento de outros sistemas.

Não foi ainda identificada uma etiologia definitiva para o linfoma em furões, no entanto, foram já sugeridas diferentes causas suspeitando-se de uma causa infecciosa, principalmente viral, devido a surtos de linfomas, de formas adultas e juvenis, entre furões que coabitavam na mesma colónia (Hess, 2005). Assim, existem relatos de furões jovens, que pertenceram à mesma colónia de reprodução, onde foi identificado um linfoma mediastinal sugerindo, desta forma, uma causa infecciosa, pré-disposição genética ou exposição comum a um agente cancerígeno (Hess, 2005). O vírus da leucemia felina (FeLV) tem sido também sugerido como uma possível causa de linfoma em furões. No entanto, os relatos existentes de seroconversão deste vírus, em animais infetados não foram ainda comprovados (Mayer et al., 2015). Um estudo descreve um furão com linfoma esplénico e com resultado positivo para FeLV, no entanto, existe a possibilidade de reação cruzada com outras infeções levando a resultados falso-positivos. Um outro estudo reporta o diagnóstico de linfoma em 2 furões

coabitantes com 3 gatos que faleceram, nos últimos 4 anos, com patologias relacionadas com FeLV. Contudo, os testes de FeLV nestes furões foram negativos (Hess, 2005).

Apesar destes relatos, evidências experimentais e epidemiológicas sugerem a possibilidade de um retrovírus distinto do FeLV ser a origem desta patologia. Assim, num outro estudo foram injetadas células de linfoma, inteiras ou filtradas, de um furão com linfoma espontâneo, em 6 furões recetores. Dois destes furões foram eutanasiados após 14 meses e os restantes desenvolveram esplenomegalia, linfocitose e linfoma. A atividade da transcriptase reversa foi aumentada pelas células esplénicas do furão dador, tendo-se observado partículas retrovirais através de microscopia eletrónica do tecido tumoral dos recetores (Mayer et al., 2015).

Um outro vírus que tem vindo a ser sugerido como causa de linfoma em furões é o vírus da doença das Aleutas (Aleutian Disease Virus - ADV), um parvovírus que afeta animais da espécie *mustela vison*. Este vírus infeta de forma persistente o tecido linfoide do furão, levando a uma estimulação imunológica crónica e hipergamaglobulinemia. Esta estimulação, de forma continuada, pode levar ao aparecimento de tumores linfoides ou resultar em imunocomprometimento, tornando estes animais mais suscetíveis a neoplasias linfoides. Assim, um estudo demonstrou que furões positivos para anticorpos anti-ADV apresentaram infiltrados linfoplasmocitários em muitos tecidos, incluindo LN, fígado, coração, rins, pulmões, pâncreas, tiroide, ducto biliar, glândula salivar e trato gastrointestinal. Foi ainda descrito, num outro estudo, uma síndrome hipergamaglobulinémica em furões com níveis de gamaglobulina superiores a 20% da concentração total de proteínas séricas e altos níveis de anticorpos anti-ADV. Estes animais apresentavam infiltrados linfoplasmocitários no fígado, coração e pulmão, além de LN periféricos e timo aumentados. Embora tenha permitido levantar a hipótese que o ADV pode causar doença linfoproliferativa em furões, não foi possível provar uma ligação direta com o linfoma (Hess, 2005).

Outro agente etiológico, o *Helicobacter mustelae*, parece ser responsável pelo desenvolvimento de um tipo muito específico de linfoma gástrico de células B (Mayer et al., 2015).

Embora estejam bem estudadas e documentadas as mutações genéticas que levam ao aparecimento de linfomas em humanos e em algumas espécies de animais domésticos, esta não é uma realidade nos furões. Assim como não foram identificados os fatores ambientais ou infecciosos nesta espécie (Henry et al., 2021). Torna-se apelativo determinar uma etiologia retroviral como causa subjacente do linfoma em furões, não só devido à associação desta patologia com outras espécies (como gatos ou bovinos), mas também como resultado do desenvolvimento de surtos após a transmissão horizontal do linfoma em furões usando inóculo celular (Henry et al., 2021). Contudo, até que uma verdadeira associação com uma infeção viral tenha sido estabelecida no furão, a causa do linfoma nesta espécie permanece não identificada (Mayer & Burgess, 2012).

Apesar de ocorrer de forma muito frequente, o linfoma nos furões é ainda pouco compreendido, sendo também considerada umas das patologias mais difíceis de diagnosticar de forma precisa e, conseqüentemente, de tratar com sucesso (Mayer & Burgess, 2012). O diagnóstico de linfoma no furão baseia-se na história, sinais clínicos, achados radiográficos e ecográficos, patologia clínica e análise citológica e histopatológica de tecido ou líquido (Hess, 2005).

O diagnóstico por imagem é um exame complementar que auxilia a diagnosticar o linfoma nos furões, nomeadamente a radiografia, que permite demonstrar a presença de massas mediastinais ou derrame pleural, no caso de linfoma juvenil (Hess, 2005), ou ainda linfadenopatia torácica e aumento do fígado, baço ou rins. No entanto, a ausência de alterações radiográficas não exclui a possibilidade de linfoma (Henry et al., 2021). A ecografia, pode indicar-nos a presença de linfadenopatia intra-abdominal, aumento ou alteração na forma dos órgãos como o baço, fígado, rins ou timo (Hess, 2005), e por vezes do trato gastrointestinal quando suspeita de patologia infiltrativa, uma vez que em furões mais velhos, os LNs abdominais podem aumentar como resposta a uma inflamação intestinal crónica. Desta forma, a presença de LNs abdominais muito aumentados nunca devem, por si só, ser considerados evidência de linfoma (Henry et al., 2021). Para além disto, a ecografia permite a realização de aspirações ou biópsias ecoguiadas de estruturas ou órgãos anormais (Hess, 2005).

Quanto aos exames hematológicos e bioquímicos, embora não devam ser utilizados como um meio de diagnóstico primário, devem, no entanto, ser realizados em todos os pacientes com linfoma, de forma a avaliar a sua saúde em geral (Henry et al., 2021). O exame hematológico revela frequentemente anemia leve e não regenerativa (Mayer et al., 2015). A linfocitose é rara, no entanto é mais frequente em furões jovens com massas mediastinais. Furões mais velhos apresentam, normalmente, contagens normais de linfócitos podendo desenvolver linfopenia com a progressão da patologia. No entanto, a contagem baixa de linfócitos em furões velhos não pode ser usada como sinal de linfoma, uma vez que esta pode ser resultado de stress crónico ou infeções virais (Hess, 2005). Os resultados bioquímicos são também inconsistentes em furões com linfoma, sendo as alterações mais relevantes para a localização da patologia ou envolvimento de um órgão (Henry et al., 2021). A hiperproteinemia e a hiperglobulinemia são raras em furões, já a hipoalbuminemia foi documentada em animais com formas intestinais de linfoma (Henry et al., 2021). Quando existe envolvimento do fígado, as enzimas hepáticas podem estar elevadas, e no caso de envolvimento renal apresentam, frequentemente azotemia. Estes animais podem ainda apresentar hipercalcemia ou hipoglicemia, no entanto estas síndromes paraneoplásicas são raras (Hess, 2005).

O diagnóstico definitivo de linfoma pode ser feito por exame citológico de amostras obtidas por PAF ou biópsia incisional ou excisional (Henry et al., 2021). Em muitos casos, a análise citológica das amostras são efetuadas como parte do exame inicial, podendo resultar num diagnóstico definitivo (Henry et al., 2021), no entanto, sempre que possível, deve evitar-se as aspiração de LNs abdominais

uma vez que é frequente a presença de inflamação gastrointestinal crónica em furões mais velhos, podendo levar a alterações reativas quase indistinguíveis do linfoma. Assim, os LNs periféricos, como os escapulares ou poplíteos, têm menor probabilidade de serem afetados pela inflamação local (Hess, 2005). Como em outras espécies, a avaliação destas amostras revelam populações monomórficas de linfócitos atípicos nos tecidos afetados (Mayer et al., 2015).

No caso do Oreó, embora tenha sido realizada uma citologia dos nódulos aumentados, que nos deu indicação do provável diagnóstico de linfoma, torna-se evidente que seriam necessários mais exames complementares, de forma a aprofundar o diagnóstico, bem como para traçar o melhor plano de tratamento e prognóstico.

Quando existe suspeita ou confirmação de um linfoma, deve ser efetuado um estadiamento clínico completo. O processo de estadiamento é uma parte fundamental na classificação do linfoma, estando bem estabelecido que a sua apresentação clínica, bem como a progressão são variáveis em muitas espécies, estando melhor descrito em cães e em gatos, nos quais a localização anatómica do linfoma é extremamente variável, mas é muito útil na previsão do curso clínico e do resultado da patologia. Por exemplo, está descrito um pior prognóstico em cães que apresentam linfoma isolado no trato gastrointestinal, sistema nervoso central ou outros locais viscerais não nodais, do que em cães com uma forma estritamente nodal de linfoma. Esta informação acerca da localização pode, provavelmente, ser extrapolada para furões com linfoma. Idealmente, o processo de estadiamento consiste na realização de um hemograma completo, perfil bioquímico, urianálises, radiografias de corpo inteiro (2 visualizações), ecografia abdominal e aspiração de medula óssea (Mayer & Burgess, 2012).

Desta forma, a descrição o mais detalhada possível do linfoma é essencial para que se possa obter o melhor resultado terapêutico e prognóstico mais adequado. Assim, ao realizar um diagnóstico deve sempre incluir-se a classificação (descrição histopatológica), estadiamento (classificação do linfoma com base na sua disseminação) e fenotipagem (identificação da origem em células T ou B).

Demonstrou-se que a fenotipagem é um ponto importante num estudo em que furões com linfoma das células B, tratados com quimioterapia, sobreviveram o dobro do tempo que os que apresentavam linfoma das células T (8,8 e 4,3 meses, respetivamente) (Henry et al., 2021). À semelhança de outras espécies, de forma a determinar o imunofenótipo celular nos furões, deve realizar-se imunohistoquímica recorrendo aos anticorpos anti-CD3 e anti-CD79a para diferenciar entre linfoma de células B e T (Mayer & Burgess, 2012). Este procedimento tem a vantagem de poder ser realizado quer em lâminas de citologia, quer em amostras histopatológicas, no entanto, a fiabilidade dos resultados diminui quando a amostra é armazenado por um tempo prolongado em formol ou quando ocorre autólise como consequência de uma fixação inadequada ou demorada (Antinoff & Hahn, 2004). Um estudo realizado por Hammer et al. (2007), onde foi realizada a classificação de

linfomas de furões através de imunohistoquímica, demonstrou uma maior incidência de linfomas de células T (58,2%) que de linfomas de células B (37,2%), sendo que a maioria dos casos de linfoma de células T apresentava linhagens celulares de alta malignidade.

O sistema de estadiamento mais aceito em Medicina Veterinária é o da OMS (Henry et al., 2021), que publicou a *Revised European-American Lymphoma Classification* (REAL/WHO), descrito por Valli et al., adaptada da Medicina Humana, com o objetivo de criar um padrão para estabelecer um diagnóstico, fornecer um prognóstico confiável e selecionar terapias eficientes para casos de linfoma. Este sistema é baseado em características histológicas, como a arquitetura tecidual, tamanho e formato nuclear e imunofenótipo. Assim, é possível que o linfoma nos furões possa também ser classificado de forma semelhante, permitindo prever o comportamento da patologia e subsequente resposta ao tratamento (Mayer & Burgess, 2012). Desta forma, Mayer e Burges (2012) propuseram um novo sistema de classificação de linfoma (Anexo 3 – Tabela 1) para furões, de forma a padronizar o diagnóstico e orientar a seleção de estratégias de tratamento. Estes autores propuseram um sistema de 5 estágios, semelhante ao utilizado em cães e gatos, fornecendo informações prognósticas importantes nestas espécies. Este estadiamento inclui descrição anatômica baseada nas categorias: localização anatômica, número de lesões, localização das lesões em relação ao diafragma, lesões nodais versus extranodais e envolvimento do sangue ou medula óssea (Mayer & Burgess, 2012).

Atualmente não existem dados comprovativos acerca dos diferentes protocolos e agentes quimioterápicos utilizados em furões, e dessa forma o protocolo seguido deve basear-se na facilidade de administração, nível de conforto do paciente, preferência do médico veterinário e objetivos do tutor, sejam eles de alcançar a remissão completa ou realizar um tratamento paliativo (Henry et al., 2021), tendo sempre em consideração ainda a idade do animal, tipo de linfoma, presença de doenças concomitantes e localização do tumor. No entanto, o linfoma é uma doença sistêmica e, na maioria dos casos é recomendada quimioterapia (Hess, 2005). A quimioterapia pode ser usada para indução, manutenção ou como resgate para pacientes com linfoma (Henry et al., 2021). A maioria dos protocolos quimioterápicos usados são protocolos modificados para linfoma felino (Mayer et al., 2015) ou baseados no protocolo CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina [hidroxidaunorrubicina], vincristina [oncovin<sup>®</sup>] e prednisona), adaptado da oncologia humana, e para os quais é necessário o acesso intravenoso repetido (Henry et al., 2021). Foram publicados dois protocolos de quimioterapia multimedicamentosa para furões, usando COP modificado (ciclofosfamida, vincristina [oncovin<sup>®</sup>] e prednisona) ou CHOP, onde foi incorporada L-asparaginase e um deles também incorporou metotrexato (Mayer et al., 2015). O protocolo CHOP e as suas adaptações devem, no entanto, ser reservados para furões com linfoma de grau intermediário a alto, geralmente com progressão mais rápida e encontrados em animais jovens. No caso de linfomas de células pequenas ou indolentes, comumente observado em animais adultos, pode ser mais apropriada a utilização de um protocolo

utilizando clorambucil e prednisona (semelhante ao utilizado em gatos). Em gatos com linfoma alimentar de células pequenas, a dose recomendada é: clorambucil (20 mg/m<sup>2</sup>, PO, a cada 2 semanas ou 2 mg, PO, em dias alternados) e prednisona ou prednisolona (inicialmente 1-2 mg/kg PO, SID, reduzido para 0,5-1,0 mg/kg em dias alternados durante várias semanas) (Henry et al., 2021). A quimioterapia IV deve ser administrada com especial cuidado, uma vez que o extravasamento de doxorubicina e vincristina podem resultar em necrose grave dos tecidos (Mayer et al., 2015). Desta forma, para administração IV destes fármacos, o furão deve ser sedado podendo ser colocado um acesso venoso subcutâneo (VAP), de forma a evitar o extravasamento e a necessidade repetida de sedação e colocação de cateteres IV (Hess, 2005).

Devido a esta possibilidade de complicações, foi desenvolvido um novo protocolo de quimioterapia com recurso a agentes quimioterápicos orais ou SC. Trata-se de um protocolo de 27 semanas em que é utilizada prednisona (PO), L-asparaginase (SC), ciclofosfamida (PO), citarabina (SC), metotrexato (IM), clorambucil (PO) e procarbazina (PO) (Henry et al., 2021). Este protocolo permite uma administração relativamente fácil, sem muitos riscos ou necessidade de internar o paciente (Mayer et al., 2015). A grande desvantagem é a necessidade de realizar a composição dos fármacos quimioterápicos orais em farmácias especializadas, devendo ser administrados num hospital/clínica veterinária e não pelo tutor (Henry et al., 2021).

Em casos de linfomas não excisáveis, disseminados ou recorrentes, é possível diminuir os sinais clínicos recorrendo a quimioterapia paliativa. Neste caso o objetivo é melhorar o conforto e a função dos órgãos, não sendo os fármacos administrados segundo um cronograma específico, mas sim com base no estado do paciente e a critério do tutor. Para este efeito é utilizada prednisona ou prednisolona, clorambucil (PO) ou L-asparaginase (SC), ou uma combinação dos três, devido à sua facilidade de administração e efeitos adversos leves (Hess, 2005).

A prednisona pode ser usada sozinha de forma a reduzir o volume do tumor e melhorar o apetite e atitude do furão. Assim, para tratamento do linfoma é geralmente utilizada uma das seguintes dosagens: 0,5 mg/kg PO, BID; 1 mg/kg PO, SID; 40 mg/m<sup>2</sup> PO, SID ou 2 mg/kg PO, SID; durante 1 semana, e posteriormente 2 mg/kg PO, a cada 48h (QOD) ou 1 mg/kg PO, SID. A L-asparaginase tem sido usada em doses de 10.000 UI/m<sup>2</sup>, SC ou 400 UI/kg, IM; e o clorambucil nas doses de 1 comprimido (1 mg) PO, SID ou ½ comprimido (2 mg) PO, SID durante 2 dias consecutivos (Henry et al., 2021).

O Oreo iniciou a terapia medicamentosa com prednisolona (2 mg/kg PO, SID), como tentativa de o manter o mais confortável possível, devido à resistência dos tutores em avançar com qualquer exame de diagnóstico e tratamento. Uma vez que, tendo em conta a idade do Oreo, o linfoma se tratava provavelmente de uma forma indolente, de progressão lenta, a quimioterapia agressiva poderia não ser para já uma opção. Assim, a escolha da prednisolona foi, dentro das possibilidades, a

mais acertada, no entanto, a dose de 2 mg/kg PO, SID, poderia ter sido reduzida, após uma semana, tal como indicado na bibliografia para 2 mg/kg PO, QOD ou 1 mg/kg PO, SID. Para além disto, teria sido importante acompanhar a evolução e estado do Oreo através de exames hematológicos e bioquímicos.

Tal como em outras espécies, os efeitos adversos da quimioterapia passam por mielossupressão, perda de pelagem, alterações gastrointestinais, anorexia, vômito, fraqueza, letargia, dispneia e em casos raros colapso (Hess, 2005). Após a administração de agentes quimioterápicos imunossupressores, como a ciclofosfamida, deve ser realizado um hemograma completo após 7 a 10 dias para descartar a existência de neutropenia, uma vez que esta exige a alteração para um agente quimioterápico diferente. Outro efeito adverso comum, resultante da administração de prednisona/prednisolona é a hiperglicemia, sendo necessário monitorizar a glicemia durante o uso deste agente, ponderando a redução da dose, se necessário. Devido à natureza proteica da L-asparaginase, com a sua administração pode ocorrer anafilaxia, logo não é recomendado seu uso mais de três ou quatro vezes no mesmo paciente (Henry et al., 2021).

Deve ser sempre realizado um hemograma completo bem como análises bioquímicas séricas, antes da quimioterapia e semanalmente durante o tratamento, de forma a monitorizar a mielossupressão e alterações que possam surgir. Para além disto, é também recomendado realizar a aspiração de medula óssea antes de iniciar a quimioterapia, uma vez que furões com uma redução de 50% na produção celular, por parte medula óssea, podem sofrer reações graves à quimioterapia como consequência da necrose medular ou imunossupressão (Hess, 2005).

O prognóstico para furões com linfoma, a longo prazo, é geralmente mau. Os tempos de sobrevivência mais longos descritos em furões que recebem quimioterapia variam de 11 a 23 meses. Normalmente, furões adultos com linfoma linfocítico respondem melhor à quimioterapia do que os furões mais jovens com a forma linfoblástica. No entanto, qualquer forma de linfoma tende a responder, inicialmente, aos esteroides. A prednisona em altas doses pode apresentar um efeito paliativo, diminuindo o tamanho do tumor; geralmente os furões toleram bem o tratamento com altas doses de esteroides, não apresentando ulceração gastrointestinal, ao contrário de outros mamíferos. No entanto, há possibilidade do reaparecimento da patologia numa forma resistente aos esteroides (Hess, 2005).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antinoff, N., & Hahn, K. (2004). Ferret oncology: Diseases, diagnostics, and therapeutics. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 7(3), 579–625.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2004.05.001>
- Ayele, L., Mohammed, C., & Yimer, L. (2017). Review on Diagnostic Cytology: Techniques and Applications in Veterinary Medicine. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 08(01).  
<https://doi.org/10.4172/2157-7579.1000408>
- Barger, A. M., & Macneill, A. L. (2017). Small Animal Cytologic Diagnosis. In *CRC Press*.
- Campbell, T. W. (2015). *Exotic Animal Hematology and Cytology*. Wiley-Blackwell.
- Canadas, A., França, M., Pereira, C., Vilaça, R., Vilhena, H., Tinoco, F., Silva, M. J., Ribeiro, J., Medeiros, R., Oliveira, P., Dias-Pereira, P., & Santos, M. (2019). Canine Mammary Tumors: Comparison of Classification and Grading Methods in a Survival Study. *Veterinary Pathology*, 56(2), 208–219. <https://doi.org/10.1177/0300985818806968>
- Cassali, G. D. (2013). Comparative mammary oncology: canine model. *BMC Proceedings*, 7(S2), 6–7.  
<https://doi.org/10.1186/1753-6561-7-s2-k6>
- Coomer, A. R., & Liptak, J. M. (2008). Canine histiocytic diseases. *Compendium: Continuing Education For Veterinarians*, 30(4), 202–217.
- Cowell, R. L., Tyler, R. D., Meinketh, J. H., & DeNicola, D. B. (2008). *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat 3rd Edition*. Mosby.
- Fulmer, A. K., & Mauldin, G. E. (2007). Canine histiocytic neoplasia: An overview. *Canadian Veterinary Journal*, 48(11), 1169–1176.
- Gupta, A., Gumber, S., Schnellbacher, R., Bauer, R. W., & Gaunt, S. D. (2010). Malignant B-cell lymphoma with Mott cell differentiation in a ferret (*Mustela putorius furo*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 22(3), 469–473.  
<https://doi.org/10.1177/104063871002200326>
- Hammer, A. S., Williams, B., Dietz, H. H., & Hamilton-Dutoit, S. J. (2007). High-throughput immunophenotyping of 43 ferret lymphomas using tissue microarray technology. *Veterinary Pathology*, 44(2), 196–203. <https://doi.org/10.1354/vp.44-2-196>
- Henry, D., Ackerman, M., Sancelme, E., Finon, A., Esteve, E., Nwabudike, L. C., Brancato, L., Itescu, S., Skovron, M. L., Solomon, G., Winchester, R., Learning, M., Cookbook, R., Husain, Z., Reddy, B. Y., Schwartz, R. A., Brier, J., Neal, D. E., Feit, E. M., ... Rello, J. (2021). Neoplasia in Ferrets. In *Ferrets, Rabbits, and Rodents Clinical Medicine and Surgery* (pp. 92–109).  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2013.01.032>
- Hess, L. (2005). Ferret Lymphoma: The Old and the New. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 14(3), 199–204. <https://doi.org/10.1053/j.saep.2005.06.005>

- Itoh, T., Kojimoto, A., Mikawa, K., Nibe, K., Uchida, K., & Shii, H. (2006). Clinical and Pathological Studies of Canine Cutaneous Histiocytomas. *Japanese Journal of Veterinary Anesthesia & Surgery*, 37(1), 1–5. <https://doi.org/10.2327/jvas.37.1>
- Lana, S. E., Rutteman, G. R., & Withrow, S. J. (2007). Chapter 26 Tumors of the Mammary Gland. In *WITHROW AND MACEWEN'S SMALL ANIMAL CLINICAL ONCOLOGY* (pp. 619–636).
- Mayer, J., & Burgess, K. (2012). An Update on Ferret Lymphoma: A Proposal for a Standardized Classification of Ferret Lymphoma. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(4), 343–346. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2012.09.010>
- Mayer, J., Marini, R. P., & Fox, J. G. (2015). Chapter 14 - Biology and Diseases of Ferrets. In *Laboratory Animal Medicine: Third Edition* (pp. 577–622). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409527-4.00014-6>
- Meena, S., Rathore, A., Saini, S., Marodia, S., Jangid, S., & Saini, P. (2023). Diagnostic cytology in veterinary medicine. *The Science World*, 3(04), 482–493. <https://doi.org/10.1002/dc.23171>
- Moore, P. F. (2014). A Review of Histiocytic Diseases of Dogs and Cats. *Veterinary Pathology*, 51(1), 167–184. <https://doi.org/10.1177/0300985813510413>
- Moore, P. F., Schrenzel, M. D., Affolter, V. K., Olivry, T., & Naydan, D. (1996). Canine cutaneous histiocytoma is an epidermotropic langerhans cell histiocytosis that expresses CD1 and specific  $\beta 2$ -integrin molecules. *American Journal of Pathology*, 148(5), 1699–1708.
- Radin, M. J., & Wellman, M. L. (2001). *Interpretation of Canine and Feline Cytology* (G. G. Inc (ed.); Vol. 5, Issue 1).
- Raskin, R. E., & Meyer, D. J. (2016). Canine and Feline Cytology - A color atlas and interpretation guide. In *Canine and Feline Cytology*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-37776-4>
- Risati, A. C., Daneze, E. R., & Magalhães, G. M. (2014). Cytological Diagnosis in Mammary Neoplasms of Female Dogs: a Review of Literature. *Nucleus Animalium*, 6(2), 81–97. <https://doi.org/10.3738/1982.2278.1016>
- Sorenmo, K. U., Worley, D. R., & Goldschmidt, M. H. (2012). Chapter 27 Tumors of the Mammary Gland. In *WITHROW AND MACEWEN'S SMALL ANIMAL CLINICAL ONCOLOGY 5th edition* (Issue 3274, pp. 538–556). <https://doi.org/10.1136/bmj.2.3274.586-a>
- Valenciano, A. C., & Cowell, R. L. (2020). Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat 5th Edition. In *Elsevier Limited*.
- Vazquez, E., Lipovka, Y., Cervantes-Arias, A., Garibay-Escobar, A., Haby, M. M., Queiroga, F. L., & Velazquez, C. (2023). Canine Mammary Cancer: State of the Art and Future Perspectives. *Animals*, 13(19), 1–25. <https://doi.org/10.3390/ani13193147>
- Wilard, M. D., & Tvedten, H. (2012). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* (Vol. 4, Issue 1). Elsevier.

## ANEXOS

### ANEXO A - Caso Clínico 1

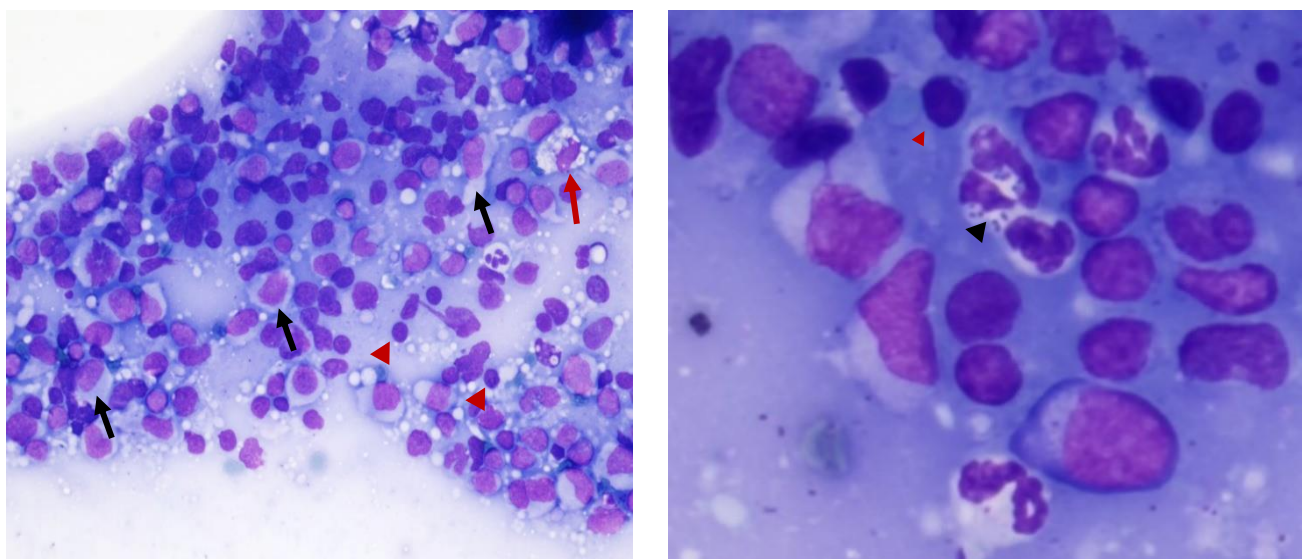


Figura 1 Imagens citológicas de nódulo cutâneo. Presença de células histiocitárias, com citoplasma claro, núcleo ovoide a reniforme (seta preta); observam-se alguns linfócitos (cabeça de seta vermelha); raros macrófagos (seta vermelha) e ocasionais neutrófilos com bactérias fagocitadas (cabeça de seta preta) indicativos de infecção. Os achados são compatíveis com histiocitoma com inflamação purulenta séptica associada. Hemacolor, objetiva 40x.

|                               |  |
|-------------------------------|--|
| <b>DESCRIÇÃO MICROSCÓPICA</b> | Proliferação nodular demarcada, não capsulada e não infiltrativa de células redondas dispostas em camadas separadas por fibras de colagénio dérmicas pré-existentes e agregados multifocais de pequenos linfócitos. As células em proliferação têm limites mal definidos e moderado a abundante citoplasma eosinofílico pálido. Os núcleos são redondos a reniformes, centrais ou excêntricos, com cromatina finamente pontilhada e nucléolos indistintos. Anisocitose e anisocariose leve a moderada. As mitoses são 4 em 2,37 mm <sup>2</sup> (10 HPFs). A epiderme subjacente está focalmente ulcerada. |
| <b>MARGENS HISTOLÓGICAS</b>   | O nódulo está separado das margens do tecido histológico (margem profunda de 2 mm de tecido adiposo, margem horizontal de 6 mm)  |
| <b>COMENTÁRIO GERAL</b>       | Histiocitomas cutâneos são comuns em cães jovens. Geralmente são lesões benignas, que podem sofrer regressão espontânea. Após a excisão, a recorrência local e a disseminação metastática são raras  |

Tabela 1 Resultado da análise histopatológica após remoção cirúrgica

| Grupo      | Grau de infiltração linfocítica      | Distribuição da infiltração linfocítica     |
|------------|--------------------------------------|---|
| <b>I</b>   | Nenhuma a mínima                     | Difuso na periferia                         |
| <b>II</b>  | Moderada                             | Infiltrados nodulares na periferia          |
| <b>III</b> | Marcada                              | Infiltrados nodulares no centro e periferia |
| <b>IV</b>  | Maior número que a população tumoral | Nodular e difuso ao longo do tumor          |

Tabela 2 Classificação do histiocitoma em quatro grupos de acordo com o grau e distribuição da infiltração linfocítica

## ANEXO B – Caso Clínico 2

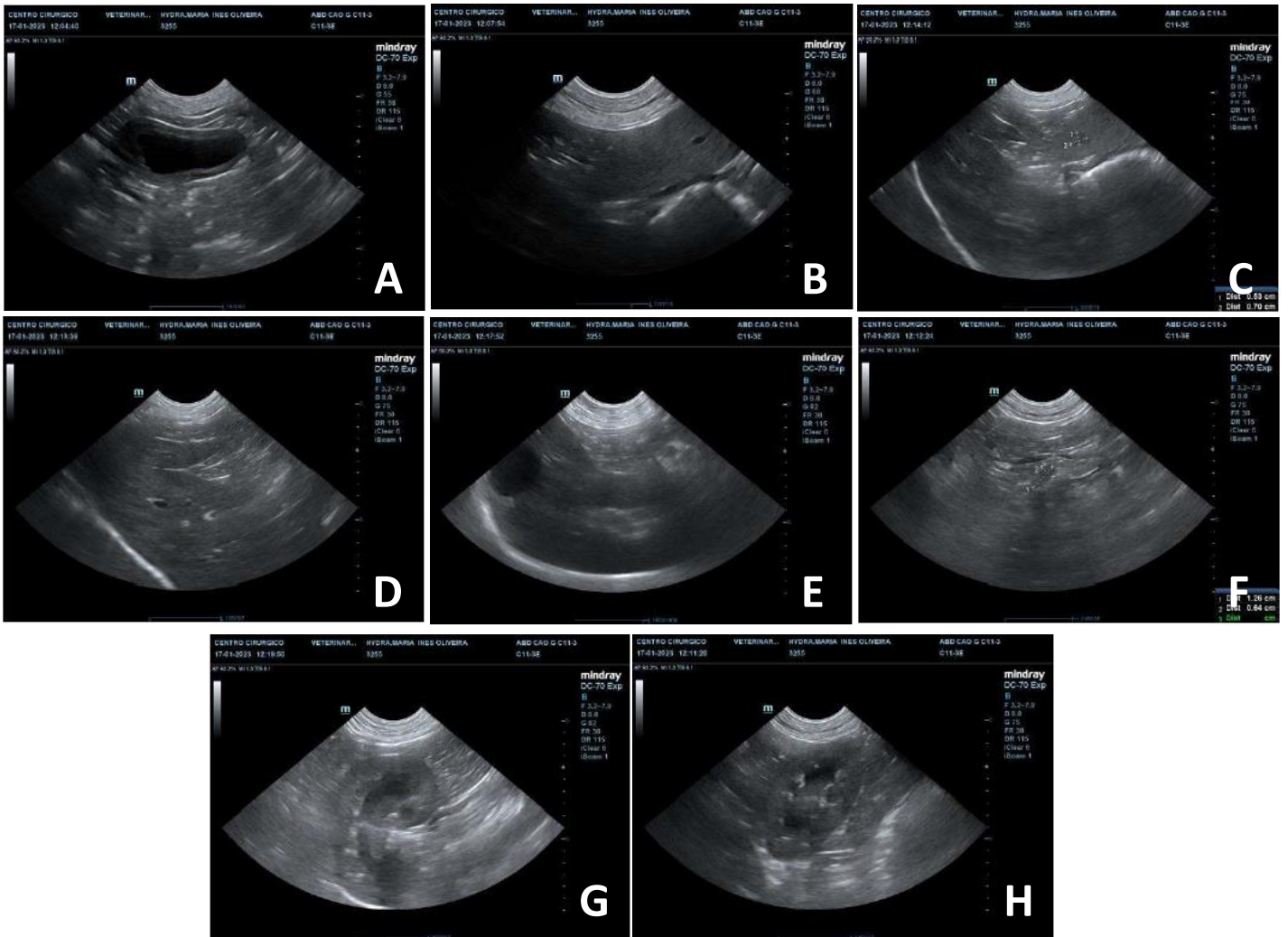


Figura 1 Ecografia Abdominal. A – Bexiga; B e C – Baço com um parênquima ligeiramente heterogêneo, identificando-se uma estrutura nodular de diâmetro aproximado 5mm/7mm, difusa, na zona cr; D – Fígado; E – Vesicula biliar com ligeira distensão, parede fina e conteúdo anecoico; F – Glândula adrenal esquerda; G – Rim direito; H – Rim esquerdo

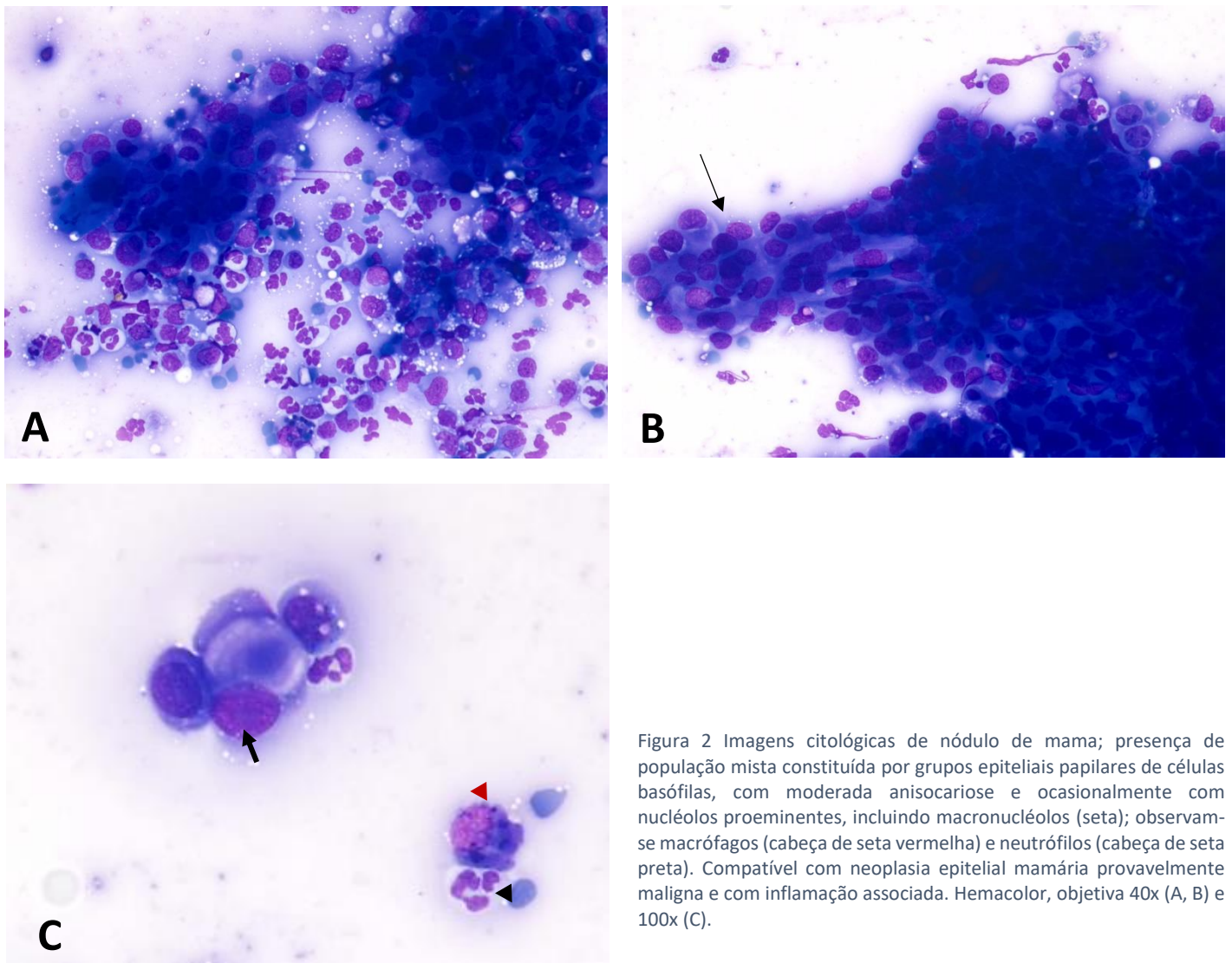


Figura 2 Imagens citológicas de nódulo de mama; presença de população mista constituída por grupos epiteliais papilares de células basófilas, com moderada anisocariose e ocasionalmente com nucléolos proeminentes, incluindo macronúcleolos (seta); observam-se macrófagos (cabeça de seta vermelha) e neutrófilos (cabeça de seta preta). Compatível com neoplasia epitelial mamária provavelmente maligna e com inflamação associada. Hemacolor, objetiva 40x (A, B) e 100x (C).

| T: Tamanho da neoplasia | N: metástases nos linfonodos                   | M: metástases à distância      | Estágios Clínicos          |
|-------------------------|--|--------------------------------|----------------------------|
| T1 < 3 cm diâmetro      | N0: sem metástases histológicas ou citológicas | M0: sem metástases à distância | <b>I</b> T1 N0 M0          |
| T2 3-5 cm diâmetro      | N1: com metástases histológicas ou citológicas | M1: com metástases à distância | <b>II</b> T2 N0 M0         |
| T3 > 5 cm diâmetro      |  |                                | <b>III</b> T3 N0 M0        |
|                         |  |                                | <b>IV</b> qualquer T N1 M0 |
|                         |  |                                | <b>V</b> qualquer T N1 M   |

Tabela 1 Estadiamento de tumores mamários caninos pelo sistema TNM

### ANEXO C – Caso Clínico 3

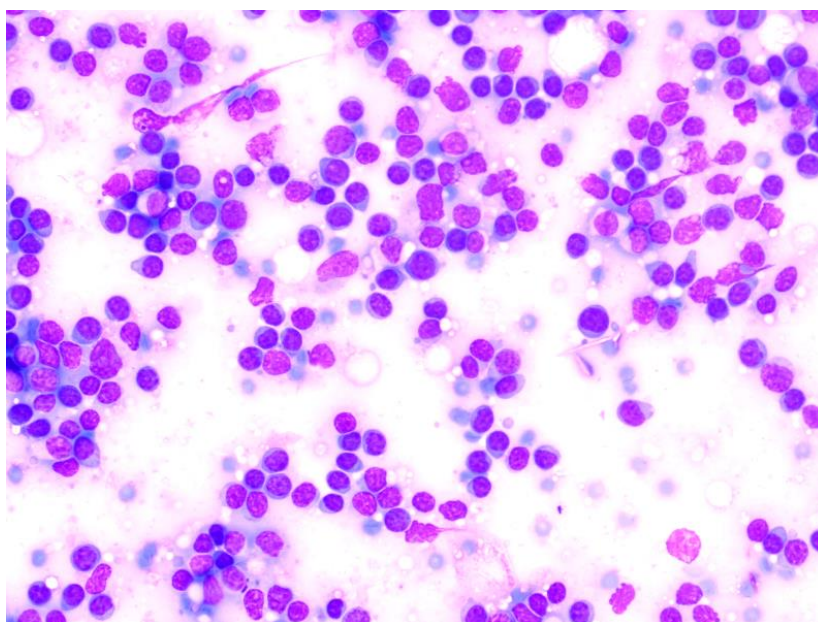


Figura 1 Imagens citológicas do gânglio linfático, observa-se população relativamente homogênea de linfócitos imaturos, com 2 a 3 vezes o tamanho de um eritrócito, com quantidade moderada de citoplasma basófilo, núcleos redondos, sem nucléolos proeminentes, mas com áreas de cromatina mais condensada. Achados compatíveis com linfoma. Hemacolor, objetiva 40x.

| Local anatómico   | Estágio  | Imunofenótipo                            |
|---|--|--|
| <b>A: generalizado</b>  | Estágio 1: lesão anatómica única (nodal ou extranodal)<br>a: sem sinais clínicos<br>b: com sinais clínicos   | linfoma de células B<br>(positivo CD79a) |
| <b>B: alimentar</b>   | Estágio 2: lesão única com envolvimento de linfonodos regionais limitado a um lado do diafragma<br>a: sem sinais clínicos<br>b: com sinais clínicos                | linfoma de células T<br>(positivo CD3)   |
| <b>C: tímico</b>  | Estágio 3: lesões em ambos os lados do diafragma, incluindo localizações intra-abdominais ou gastrointestinais<br>a: sem sinais clínicos<br>b: com sinais clínicos |  |
| <b>D: leucemia cutânea</b>                                    | Estágio 4: múltiplos locais em ambos os lados do diafragma afetados, com ou sem órgãos viscerais<br>a: sem sinais clínicos<br>b: com sinais clínicos               |  |
| <b>F: outros<br/>(por exemplo, tumores renais solitários)</b> | Estágio 5: manifestação no sangue e envolvimento da medula óssea e/ou outros sistemas de órgãos<br>a: sem sinais clínicos<br>b: com sinais clínicos                |  |

Tabela 1 Proposta de classificação para o linfoma de furão; adaptado de (Mayer & Burgess, 2012)

# **Título do estágio do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Susana Maria Grilo de Oliveira Matias

ICBAS

