

Correlação entre a citologia aspirativa por agulha fina e a histologia no diagnóstico de tumores mamários de cadelas*

Fine needle aspiration cytologic and histologic correlation in canine mammary tumors

Debora Aparecida Pires de Campos ZUCCARI¹; Aureo Evangelista SANTANA¹; Noeme Souza ROCHA²

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Debora Aparecida Pires de Campos Zuccari
Departamento de Clínica Veterinária da
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias da UNESP, Campus de Jaboticabal
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n
14884-900 – Jaboticabal – SP
e-mail: debora.zuccari@zaz.com.br

1- Departamento de Clínica Veterinária da
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias da UNESP, Jaboticabal – SP
2- Departamento de Patologia Veterinária da
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da
UNESP, Botucatu – SP

RESUMO

Foram estudados tumores de mama em cadelas, comparando o seu padrão citológico, obtido através da Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF), com os resultados da histopatologia. Num período de um ano, as cadelas trazidas ao Hospital Veterinário – UNESP – Câmpus de Jaboticabal foram submetidas a exérese cirúrgica dos tumores mamários. As amostras foram avaliadas de acordo com parâmetros estruturais utilizados nos tumores mamários humanos, como grau de atipia, critérios nucleares, padrão de cromatina e nucléolos, alta celularidade e pouca coesão intercelular. Utilizaram-se estes critérios para diferenciar tumores mamários benignos de malignos com 63% de diagnósticos concordantes, sensibilidade de 73% e especificidade de 83%. Nossos dados mostraram ter uma correlação positiva com o prognóstico, demonstrando que é possível reconhecer variáveis estruturais de malignidade na citopatologia para obter um diagnóstico precoce e um prognóstico seguro.

UNITERMOS: Neoplasias das glândulas mamárias; Cadelas; Histopatologia; Citologia Aspirativa por Agulha Fina.

INTRODUÇÃO

As neoplasias de cães e gatos são modelos apropriados, e válidos, ao estudo da biologia do câncer, assim como para testar agentes terapêuticos, já que os animais de estimação têm tumores com apresentação histopatológica e comportamento biológico similares àqueles que acometem o homem⁹.

Devido à elevada incidência de tumores de mama em cadelas, seu estudo vem crescendo em relação a outras afecções. Todo aumento de tecido mamário deve ser avaliado para possíveis neoplasias. Aumentos generalizados que não estejam relacionados com pseudociese, lactação ou mastite devem receber atenção especial. De forma semelhante, tumores de origem diversa daquele do tecido mamário podem aparecer com frequência na região das glândulas mamárias, sendo este fato de grande importância, pois diferentes tratamentos podem ser indicados para tumores como linfossarcomas, lipomas, mastocitomas, etc. Nestes casos, a Citologia Aspirativa por Agulha Fina (CAAF) pode ser indicada como meio diagnóstico diferencial, implicando um procedimento rápido, barato e seguro. Segundo Mills¹¹, a CAAF induz injúria tecidual mínima, não havendo necessidade de se proceder à anestesia do animal, e permite a obtenção de resultados confiáveis na maioria dos casos.

A adequada interpretação da preparação citoscópica é primordial, já que algumas características são extremamente úteis na discriminação entre tumores benignos e malignos¹⁴. Os critérios de malignidade aplicáveis na avaliação da citologia de um esfregaço,

segundo análise de Allen et al.² são: células- grande densidade celular no esfregaço, com baixo grau de coesão e presença de células “nuas” em abundância; núcleo- variabilidade nas dimensões dos núcleos (anisocariose); padrões irregulares de distribuição de cromatina (granular ou reticular), figuras de mitose normais e anormais; nucléolo- presença de vários nucléolos no mesmo núcleo ou macronúcleolos. Mesmo assim, a ausência de um desses achados citoscópicos não implica que a neoplasia seja benigna⁴.

O sucesso da CAAF depende das diversas fases de condução da técnica, desde a obtenção da amostra⁸, da preparação da lâmina e sua coloração, até o exame citoscópico do material aspirado. As dificuldades impostas a um ou mais passos da técnica irão afetar os resultados que podem ser obtidos com a prática da CAAF.

Por outro lado, Withrow e McEwen¹⁷ não consideram a biópsia aspirativa com agulha fina a técnica diagnóstica mais indicada, pois a maioria dos tumores da cadela é mista, havendo necessidade de vários pontos de coleta, e a distinção entre material benigno ou maligno não implicaria mudanças na conduta operatória. Esta técnica é considerada muito útil nos linfonodos suspeitos de metástase.

Peleteiro¹² afirma ser difícil o diagnóstico correto dos tumores mamários caninos, utilizando-se apenas das técnicas citoscópicas, e faz referência a um índice de diagnósticos corretos abaixo da média humana referida por vários autores, entre eles Griffiths et al.⁷; Allen et al.² Justifica, apontando a qualidade das amostras nem sempre satisfatória, presença de células necrosadas, sangue ou macrófagos, e a presença de grande quantidade de líquido, o que dificulta a obtenção de um bom esfregaço. Considera ainda que todos estes empecilhos são facilmente contornáveis

* Suporte financeiro: Fapesp – Processo nº 96/07908.

com o aumento da experiência nas técnicas de coleta, preparação e leitura do esfregaço.

Quanto à capacidade da CAAF em permitir um diagnóstico correto preliminar, há bons indicadores bibliográficos da sua real segurança como meio de ajuda diagnóstica^{1,7,15}. Peleteiro¹² sugere que o mais difícil é o diagnóstico de uma lesão benigna, pois geralmente é pobre em células e pode conter vários elementos típicos de uma mama normal como adipócitos, sangue e algumas células de revestimento ductal, geralmente dispostas em placas. O exame citológico de uma neoplasia maligna, cujo material seja escasso, torna-se muito difícil, não só pela ausência de formas citológicas anormais mas por ter a aparência de uma lesão benigna. Hellmén e Lindgren⁸ obtiveram 65% de sensibilidade na CAAF de tumores mamários em cadelas, o que consideram refletir a dificuldade em se caracterizar os tumores mamários malignos em cadelas.

O objetivo do presente trabalho foi o de comparar a eficiência da CAAF como método diagnóstico para tumores mamários em cadelas quando confrontados com a histopatologia, visando demonstrar a capacidade daquele procedimento em reconhecer os caracteres cariocitoplasmáticos de malignidade, quando presentes no esfregaço.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Trinta e cinco (35) cadelas portadoras de tumores mamários, com idade variando de 4 a 19 anos, foram selecionadas junto ao Hospital Veterinário da FCAV - Câmpus de Jaboticabal, no período de abril a dezembro de 1997. Os tumores das cadelas selecionadas foram submetidos a exérese cirúrgica, cujas amostras foram coletadas e encaminhadas aos laboratórios de patologia clínica (CAAF) e de histopatologia (fragmento tumoral).

MÉTODOS

Citologia aspirativa por agulha fina

A massa tumoral foi imobilizada manualmente. Após introdução da agulha fina 22G conectada à seringa de 5 ml, foi aplicada a sucção, redirecionada a agulha 2 ou 3 vezes, relaxada a sucção e então retirada a agulha da massa. Para que fosse obtido um esfregaço de boa qualidade, foi necessário comprimir a amostra entre 2 lâminas devidamente limpas que simultaneamente foram deslocadas em sentido contrário. Após a fixação do material ao ar por 5 minutos, a preparação foi corada com uma mistura de Metanol, May-Grunwald e Giemsa (MMG).

Histopatologia

O material foi coletado em diferentes áreas da formação tumoral, uma vez que, na maioria dos casos, os tumores eram maiores ou iguais a 5 cm, apresentando, macroscopicamente, aspectos diversos numa mesma massa. Foram evitadas regiões com necrose e áreas com contaminação e secreção. No caso de mais de uma formação, no mesmo animal, foi colhido material de todas as massas. Os fragmentos foram fixados em formol tamponado a 10% por 24 horas, processados em parafina e os cortes corados por hematoxilina e eosina.

Análise estatística

O teste diagnóstico (CAAF) foi testado em relação ao teste padrão (histopatologia). Assumindo que o teste-padrão seja válido, o resultado do teste pode estar correto [verdadeiro-positivo (VP) e verdadeiro-negativo (VN)] ou incorreto [falso-positivo (FP) e falso-negativo (FN)]. A validade do teste foi medida pelas taxas de VP entre os tumores malignos (sensibilidade) e VN entre os benignos (especificidade)¹⁵.

RESULTADOS

Sessenta e três por cento (63%-22/35) dos tumores estudados apresentaram diagnósticos citopatológicos concordantes com a histopatologia. O Quadro 1 apresenta os resultados obtidos para cada procedimento, distribuídos em função dos casos individualizados.

Quadro 1

Resultados da Punção Biópsia Aspirativa de massas mamárias e da Histopatologia das cadelas atendidas junto ao HV-FCAV/ Unesp, no período de abril a dezembro de 1997. Jaboticabal (SP), 1998.

Cadela	Diagnóstico citológico	Diagnóstico histopatológico
1	tumor misto maligno	tumor misto maligno
2	adenocarcinoma	carcinoma esquisroso
3	negativo para neoplasia	carcinoma sólido
4	adenocarcinoma	fibrosarcoma
5	tumor misto maligno	tumor misto maligno
6	adenoma	carcinoma alveolar
7	tumor misto maligno	tumor misto maligno
8	adenocarcinoma	comedocarcinoma
9	negativo para neoplasia	carcinoma sólido
10	adenocarcinoma	carcinoma lobular
11	adenocarcinoma	condrosarcoma
12	material insuficiente	tumor misto maligno
13	negativo para neoplasia	condroma
14	tumor misto benigno	tumor misto benigno
15	negativo para neoplasia	carcinoma sólido
16	material insuficiente	tumor misto maligno
17	tumor misto benigno	tumor misto benigno
18	tumor misto maligno	tumor misto maligno
19	negativo para neoplasia	carcinoma sólido
20	carcinoma	fibrosarcoma
21	tumor misto maligno	tumor misto benigno
22	tumor misto maligno	carcinoma sólido
23	carcinoma	tumor misto maligno
24	hiperplasia	mastite
25	mastite	tumor misto maligno
26	mastite	mastite
27	tumor misto benigno	adenocarcinoma esquisroso
28	material insuficiente	carcinoma sólido
29	tumor misto maligno	tumor misto maligno
30	carcinoma	tumor misto maligno
31	carcinoma	carcinoma sólido
32	mastocitoma	mastocitoma
33	cistoadenoma	cistoadenoma
34	tumor misto maligno	carcinoma lobular
35	tumor venéreo transmissível	tumor venéreo transmissível

Como observado na 3ª coluna do Quadro 1, há uma prevalência de carcinomas (37%; 13/35) nesta amostragem, seguido pelo tumor misto maligno com 28,6%, 10/35. Os tumores benignos são apenas 20%, 7/35 do total, compreendendo 1 adenoma, 1 condroma, os tumores mistos benignos (3) e ainda neste grupo as mastites (2). Neste grupo de cadelas foram diagnosticados 2 (5,7%) tumores não-mamários, incluindo mastocitoma e tumor venéreo transmissível. A Tab. 1 distribui os resultados estatísticos obtidos.

Tabela 1

Análise estatística da CAAF em relação à histopatologia das cadelas acometidas por tumores mamários. FCAV/Unesp, Jaboticabal (SP), 1998.

sensibilidade	73%
especificidade	83%
valor preditivo +	95%
valor preditivo -	42%
precisão	75%

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados da CAAF demonstraram o valor da biópsia aspirativa na ajuda clínica diagnóstica. Enquanto em 31% dos casos o uso da citologia não resultou em um diagnóstico definitivo, em 69% este procedimento descreveu a lesão em detalhes suficientes para facilitar a conduta clínica e cirúrgica. As neoplasias de origem não mamária foram particularmente favorecidas, tendo sido diagnosticadas com precisão em todos os casos. Dessa forma, tumores não-mamários, quando identificados precocemente, melhoraram o prognóstico do animal, já que uma conduta clínica ou cirúrgica específica pode ser aplicada rapidamente.

Os critérios de malignidade mais observados foram atipia e pleomorfismo celular. Já o padrão nuclear se mostrou decisivo no diagnóstico, visto que a presença de um ou mais nucléolos e o padrão irregular da cromatina só podem estar presentes em tecidos neoplásicos. O aspecto geral do tecido em estudo demonstrou grande valia no diagnóstico citológico da lesão, uma vez que as alterações acima mencionadas jamais são vistas em um tecido mamário normal. Os critérios mais específicos, como figuras de mitose anormais, molde e dobra nuclear, distorções citoplasmáticas entre outras, se mostraram de menor importância no diagnóstico de malignidade tumoral, já que o importante, na citologia, é o conjunto de modificações no grupo celular como um todo.

Os tumores mamários benignos de origem epitelial apresentam grupos celulares característicos de aspecto homogêneo, bem aderidos entre si, com o formato das estruturas das quais foram aspiradas, alveolares ou ductulares. As massas mamárias quando puncionadas podem demonstrar apenas a presença do componente fibrocístico, que são as células espumosas ou "foam cells", relacionadas à atividade secretória da glândula mamária. Estas podem coexistir com células cancerígenas no esfregaço. A caracterização maligna do componente epitelial nesta classe tumoral é observada na grande variabilidade de tamanhos e formas celulares com pouca coesão celular, verificando-se apenas células

epiteliais pleomórficas, soltas no esfregaço. A caracterização do componente mesenquimal na CAAF se dá pela presença muito freqüente da matriz óssea no esfregaço, representando o mucopolissacarídeo secretado pelas células mioepiteliais para formação de tecido ósseo e/ou cartilaginoso. O carcinoma inflamatório é uma classe à parte na classificação dos tumores mamários caninos, caracterizando-se pelo grande infiltrado inflamatório polimorfonuclear, entremeado por células epiteliais malignas no esfregaço. O seu diagnóstico requer uma conduta especial, sendo o prognóstico nestes casos reservado.

Neste estudo, foram observados poucos diagnósticos citológicos inconclusivos (12,5%), e, destes, a grande maioria (75%) obteve o diagnóstico histopatológico de carcinoma sólido. Este tipo de carcinoma é considerado muito invasivo e pouco diferenciado, apresentando freqüentemente um prognóstico reservado. Apesar de ser o carcinoma de maior freqüência deste ensaio (54%), apenas 57% obteve diagnóstico citológico concordante, sendo esta a maior fonte de erro. Pode-se considerar que o carcinoma sólido, como o próprio nome diz, apresenta maior coesão entre as células da massa tumoral, dificultando sua aspiração na CAAF. De fato, histologicamente há uma perda da estrutura funcional primária do tecido mamário e as células neoplásicas se mostram comprimidas umas às outras, o que pode justificar seu menor desprendimento.

A interpretação da origem celular nas CAAF dos tumores mamários foi difícil, levando-se em conta o grande número de diagnósticos corretos de malignidade, porém de histogênese errônea. Considerando-se que os tumores mamários caninos podem ter apresentação histológica diferente nos nódulos de um mesmo animal e às vezes até em partes diferentes do mesmo nódulo, é lícito supor que parte do problema poderia ser o fato de a área representada na citologia não corresponder àquela da histopatologia.

Contrariamente aos estudos feitos por outros pesquisadores^{7,17}, observamos neste ensaio certa facilidade em se tipificar tumores mistos na CAAF, pela presença característica do mucopolissacarídeo secretado pelas células mioepiteliais, que pode ou não estar acompanhado de células mesenquimais, com sua aparência espalhada, solitária e com núcleo excêntrico. Este é, sem dúvida, um aspecto decisivo no diagnóstico dos tumores mistos mamários em cadelas.

Em uma das cadelas, a CAAF demonstrou a presença de caracteres malignos no esfregaço e na histopatologia, cujo diagnóstico foi de tumor misto benigno. Considerando-se que o fragmento coletado não continha a porção maligna do tumor, consideramos ter havido erro na técnica. A histogênese foi confirmada, mas, neste caso, a CAAF se mostrou mais precisa do que a histopatologia, o que sugere a conveniência da adoção de mais de um teste diagnóstico.

O componente inflamatório, quando presente no esfregaço, se mostrou um fator negativo para o diagnóstico preciso das neoplasias mamárias. Apesar de ser conclusiva pela sua composição celular característica, a confirmação de mastite deve ser feita após o tratamento clínico desta enfermidade, pois a inflamação pode mascarar a verdadeira etiologia neoplásica da massa, particularmente no diagnóstico diferencial com o carcinoma inflamatório. A presença de hemácias no esfregaço, fato muito comum na maioria das CAAFs, não foi considerada fator limitante para o diagnóstico.

As técnicas de colheita e coloração dos esfregaços se mostraram eficientes e, com exceção de 3 casos, proporcionaram material adequado e boa visualização dos componentes celulares para o diagnóstico citológico.

A análise estatística demonstrou que a CAAF é um procedimento pouco sensível, pois a sensibilidade, para que um teste seja conclusivo, deve ser acima de 90%. Isto revela que a CAAF não deve ser utilizada isoladamente, mas sim como um método

auxiliar, de utilização simples e imediata, proporcionando ao clínico uma conduta rápida e objetiva com relação ao prognóstico e tratamento de seu paciente. Por outro lado, a especificidade obtida (83%) é próxima da considerada adequada.

Dessa forma, devemos considerar a citologia aspirativa por agulha fina, em tumores mamários de cadelas, um teste pouco sensível mas de boa especificidade para o diagnóstico da referida neoplasia.

SUMMARY

Cytologic and histologic examination of 35 canine mammary masses was performed over a year period, from dogs that underwent mastectomy for mammary neoplasms at the UNESP Veterinary Medical Teaching Hospital – Jaboticabal (SP) Brazil. The mastectomy specimens were evaluated according to structural parameters found to be prognostically significant in human mammary tumors, such as grade of atypia, nuclear criteria (shape, size, form, abnormal mitotic figures), chromatin and nucleolar patterns, high cellularity and poor intercellular cohesions. These criteria were used for differentiation of benign from malignant mammary tumors with 63% of a concordant diagnosis and sensibility of 73% and specificity of 83%. The “fine needle aspiration” technique is discussed as a tool to perform early diagnosis. Our data were found to have a positive correlation to the prognosis indicating that we can recognize structural variables of malignancy by citopathology. Application of the described parameters should facilitate comparative studies of histopathologic diagnosis with biologic behavior of canine mammary tumors using this technique to obtain early diagnosis and a secure prognosis.

UNITERMS: Mammary gland neoplasms; Bitch; Histopathology; Fine Needle Aspiration.

REFERÊNCIAS

- 1- ABELE, J. S.; MILLER, T. R.; GOODSON, W. H.; HUNT, T. K.; HOHN, D. C. Fine-needle Aspiration of Palpable Breast Masses. **Archives Surgery**, v. 118, n. 7, p. 859-863, 1983.
- 2- ALLEN, S. W.; PRASSE, K. W.; MAHAFFEY, E. A. Cytologic Differentiation of Benign from Malignant Canine Mammary Tumors. **Veterinary Pathology**, v. 23, n. 6, p. 649-655, 1986.
- 3- DALECK, C. R.; FRANCHESCHINI, P. H.; ALESSI, A. C.; SANTANA, A. E.; MARTINS, M. I. M. Aspectos clínicos e cirúrgicos do Tumor Mamário Canino. **Ciência Rural**, v. 28, n. 1, p. 95-100, 1998.
- 4- DZIURA, B. R.; BONFIGLIO, T. A. Needle Cytology of the Breast. A quantitative and qualitative study of the cells of Benign and Malignant Ductal Neoplasia. **Acta Cytologica**, v. 23, n. 4, p. 332-340, 1979.
- 5- FOWLER, E. H.; WILSON, G. P.; KOESTNER, A. Biologic Behavior of Canine Mammary Neoplasms based on a Histogenetic classification. **Veterinary Pathology**, v. 11, n. 3, p. 212-229, 1974.
- 6- GILBERTSON, S. R.; KURZMAN, I. D.; ZACHRAU, A. I.; YHURVITZ, A. I.; BLACK, M. M. Canine Mammary Epithelial Neoplasms: Biologic Implications of Morphologic Characteristic Assessed in 232 Dogs. **Veterinary Pathology**, v. 20, n. 20 p. 127-142, 1983.
- 7- GRIFFITHS, G. L.; LUMSDEN, J. H.; VALLI, V. E. O. Fine Needle Aspiration Cytology and Histologic Correlation in Canine Tumors. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 13, n. 1, p. 13-17, 1984.
- 8- HELLMÉN, E.; LINDGREN, A. The Accuracy of Cytology in Diagnosis and DNA Analysis of Canine Mammary Tumors. **Journal of Comparative Pathology**, v. 101, n. 4, p. 443-450, 1989.
- 9- MacEWEN, E. G. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. **Cancer and Metastases Review**, v. 9, n. 2, p. 125-136, 1990.
- 10- MEYER, D. J. The management of cytology specimens. **Compendium Continuing Education Practitioner Veterinary**, v. 9, n. 1, p. 10-17, 1987.
- 11- MILLS, J. N. Diagnosis from Lymph Node Fine-Aspiration Cytology. **Australian Veterinary Practitioner**, v. 14, n. 1, p. 14-18, 1984.
- 12- PELETEIRO, M. C. Tumores mamários na cadela e na gata. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. LXXXIX, n. 509, p. 10-29, 1994.
- 13- ROUQUAYROL, M. Z. Aplicação da Evidência Clínico-Epidemiológica nas Decisões Clínicas. In: ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia e Saúde**, 4.ed. São Paulo: Medsi, 1994. p. 200-206.
- 14- TAKEDA, T.; TAKASO, K.; ISONO, S.; OSHIBE, K.; YOSHIDA, R. Studies on Cytologic Characteristics of Mammary Aspiration Smears Based on Histologic Types. **Acta Cytologica**, v. 21, n. 3, p. 424-428, 1977.
- 15- VILAPLANA, E. V.; AYALA, M. J. The Cytologic Diagnosis of Breast Lesions. **Acta Cytologica**, v. 19, n. 6, p. 519-526, 1975.
- 16- WALLGREN, A.; SILFVERSWÄRD, C.; ZAJICEK, J. Evaluation of Needle Aspirates and Tissue Sections as Prognostic Factors in Mammary Carcinoma. **Acta Cytologica**, v. 20, n. 4, p. 313-318, 1976.
- 17- MacEWEN, E. G.; WITHROW, S. J. Tumors of the mammary gland. In: WITHROW, S. J.; MacEWEN, E. G. **Small animal clinical oncology**. 2nded. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. p. 356-372.

Recebido para publicação: 14/06/1999
Aprovado para publicação: 19/03/2001