Citologia aplicada à área animal: fibroadenoma em gata, discussão de um caso clínico

Eliseu C[1] *, Murça I[1], Simões I[2], Cassali G[3], Sousa V[2,4,5], Agapito P[1,2,5]

[1] Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Coimbra, Coimbra, Portugal
[2] Serviço de Anatomia Patológica no Centro Hospitalar da Universidade de Coimbra, Portugal
[3] Laboratório de Patologia Comparada, Departamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil
[4] Instituto de Anatomia Patológica e Patologia Molecular da Faculdade de Medicina na Universidade de Coimbra, Portugal
[5] Centro de Diagnóstico Anátomo-Patológico (CEDAP), Coimbra, Portugal

Recebido: outubro 2021/ Publicado: dezembro 2022

***Autor correspondente:**

Catarina Eliseu
catarinaeliseu15@gmail.com

RESUMO

Semelhanças biológicas, genéticas, histopatológicas, moleculares e morfológicas têm sido estabelecidas entre tumores humanos e neoplasias espontâneas em animais de estimação. Como tal, neoplasias espontâneas em animais de companhia têm sido reconhecidas como vantajosas para o estudo da oncobiologia comparada. Embora seja difícil estimar a sua prevalência e incidência, sabe-se que tumores mamários são o tipo de neoplasia mais frequente em cadelas e o terceiro grupo mais frequente em gatas. Neste artigo é apresentado um caso clínico de um nódulo mamário, de uma gata de 8 anos de idade e cujo esfregaço citológico, corado pelo método de *Giemsa*, revelou a presença de conjuntos de células ductais, dispostas em monocamada e com ligeira atipia, raras células mioepiteliais, macrófagos e fundo com alguma serosidade associada. O objetivo deste trabalho consiste na partilha de informação referente à área animal, salientando o carácter de transversalidade da citologia, com a apresentação de um caso clínico e correlação entre a sua citologia e histologia. O resultado citológico atribuído foi de fibroadenoma, no entanto, a histologia revelou tratar-se de um tumor filóide.

Palavras-chave: animais de estimação, tumores mamários, gata, fibroadenoma, tumor filóide

INTRODUÇÃO

Tumores espontâneos em animais de companhia têm sido alvo de estudos de oncobiologia comparada, devido ao facto de possuírem tecidos com características morfológicas e comportamentos biológicos semelhantes aos humanos e permitirem, simultaneamente, o desenvolvimento do conhecimento científico relativo a diversos tipos de neoplasias[1].

Roedores criados em laboratório são úteis para perceber os mecanismos que levam ao desenvolvimento de cancro[2]. Ratos geneticamente modificados permitiram provar, *in vivo*, conceitos como oncogenes e supressores tumorais, bem como o seu papel no equilíbrio da proliferação celular de organismos multicelulares[2]. Para além disso, possibilitaram ainda compreender de que modo vias de sinalização, fatores epigenéticos, reguladores genéticos, entre outros, intervêm no processo oncológico[2]. Porém, este modelo falha em representar a complexa interação e heterogeneidade entre as células cancerígenas e as células do sistema imunológico[2]. Em relação a este aspeto, tumores espontâneos em canídeos e felinos mostram-se vantajosos, uma vez que se desenvolvem na presença de um sistema imunológico intacto[2]. Para além disso, a sua menor longevidade permite estudar o prognóstico de forma mais célere, de modo a extrapolar os resultados mais rapidamente[1]. Assim, a população de animais de companhia revela-se uma fonte vasta e subvalorizada de amostras disponíveis para estudo[1]. O maior obstáculo prende-se com a escassez de ferramentas investigacionais, como são exemplo vários anticorpos e produtos recombinantes disponíveis para camundongos e humanos, que não apresentam reatividade entre espécies[2]. A impossibilidade em padronizar o ambiente em que vivem é muitas vezes alvo de críticas a este modelo em detrimento do modelo roedor, no entanto, este facto mostra-se profícuo quando se trata de imitar os aspetos translacionais relacionados com biologia tumoral[2]. É possível compreender o potencial dos animais de companhia como modelos de estudo entre investigação básica, realizada com roedores, e a translação para os humanos, na medida em que existe alta conservação genómica, condições semelhantes do ponto de vista genético e de fatores de risco ambientais, o que permite comparar padrões de evolução oncológicos, entre outros[2].

Este modelo permite uma combinação de novas perspetivas relativas a inibidores moleculares específicos e terapias direcionadas na área da oncologia comparada. Esta abordagem comparativa também pode ser aplicada em doenças infeciosas, inflamatórias e pré-malignas e deste modo, beneficiar tanto a medicina humana como a medicina veterinária[2].

O cancro da mama é o tipo de tumor maligno mais incidente e a principal causa de morte entre mulheres por neoplasia. Em 2008, cerca de 1.38 milhões de novos casos foram declarados, enquanto que em 2012, esse valor aumentou para 1.67 milhões[3] e em 2020, esta patologia foi responsável por 684 996 mortes[4].

Em gatas, os tumores mamários são o terceiro tipo de neoplasia mais comum[5], apresentando elevada taxa de malignidade (cerca de 85-95%) e afetando geralmente idades mais avançadas (média de 10-12 anos)[6]. Grande parte dos casos termina num desfecho fatal (com uma taxa média de sobrevivência a partir do momento do diagnóstico de 6-12 meses[7]) e a idade e raça do animal revelam-se importantes fatores de prognóstico. Gatas siamesas possuem duas vezes maior predisposição para o desenvolvimento de neoplasias mamárias mais precocemente[8]. Gatas domésticas de pelo curto também se mostram mais vulneráveis ao aparecimento deste tipo de tumores[6].

É reconhecido que a componente hormonal tem influência na proliferação celular de tecido mamário e que esta proliferação pode ser estimulada por progestagénios, tanto no

decurso da gravidez, como durante o período diestro ou por meios iatrogénicos[9]. A toma de progestina, um composto químico anticoncecional com efeitos semelhantes aos da progesterona, mostrou ser uma prática que levava a hipertrofia glandular (o que não é muito comum ocorrer neste animal) e que poderia originar o aparecimento de várias neoplasias malignas[8]. Em gatas entre os 6 meses e 1 ano e meio de idade está descrita a hiperplasia fibroadenomatosa da mama, originada pela influência de progesterona, quer natural, quer iatrogénica, e que leva ao aumento, muitas vezes acentuado, de células secretoras, edema e hiperplasia de células do estroma[9].

A esterilização confere proteção contra o desenvolvimento de neoplasias mamárias, entre outras doenças, e pode ser realizada em gatos a partir das seis a oito semanas de vida[10].

Muitos dos tumores mamários, nomeadamente os de maior tamanho e carácter invasivo, aderem à pele e têm um aspeto ulcerativo[5]. Em vários aspetos, semelhantes àquilo que são os carcinomas triplo-negativos em mulheres[11]. Também é comum ocorrer invasão dos nódulos linfáticos e existência de metástases em mais de 80% dos casos[12].

Na clínica veterinária, o diagnóstico de um tumor envolve um conjunto multidisciplinar de exames físicos, imagiológicos, histopatológicos, citopatológicos, moleculares e imunohistoquímicos, com o intuito de aumentar a acuidade diagnóstica[13]. Em patologia veterinária, a citologia funciona como um exame de triagem, indicada para distinguir processos hiperplásicos, inflamatórios, neoplásicos e displásicos[14]. Para além disso, a citologia revela-se uma mais-valia em termos de recursos, na medida em que pode ser utilizada no consultório veterinário, de modo a dar uma ideia inicial do diagnóstico e prognóstico, bem como da existência ou não de regressão espontânea do nódulo, aquando do fim do tratamento hormonal ou gonadoectomia (castração/esterilização), sem necessidade de ressecção do mesmo[14].

Apesar de pouco agressivo, a citologia é um meio de diagnóstico invasivo que contém algumas limitações. A perda da arquitetura tecidular impossibilita muitas vezes a visualização da relação intercelular dos tecidos. Por essa razão, deve ser tido em conta todo o contexto clínico do animal. Para além disso, é essencial compreender que os resultados são sempre dependentes de vários fatores, como a qualidade das amostras e a experiência do citopatologista que as avalia. Uma das limitações mais importantes passa pela dificuldade em interpretar e classificar algumas lesões, semelhante ao que muitas vezes acontece na citologia humana. Uma vez que a citologia é considerada, pela comunidade científica, como um complemento à histologia, esta, por si só, não permite chegar a um diagnóstico final definitivo, no entanto, permite decisões mais rápidas no que concerne ao diagnóstico[15].

Em relação à colheita de material biológico pela técnica de punção aspirativa por agulha fina (PAAF), esta mostra-se vantajosa, uma vez que é rápida, pouco dispendiosa e apresenta baixo risco para o animal[13]. Por norma, o material colhido é corado pelo método de *Giemsa* e *Diff-Quick*®[15]. A coloração de *Papanicolaou*, considerada como a técnica de coloração *gold standard* para citologia esfoliativa em tumores humanos, não é muito utilizada em citologia veterinária devido à maior complexidade do procedimento[16,17].

Como referido, o exame histológico realizado em tecido colhido da lesão, é considerado o *gold standard* para o diagnóstico de neoplasias mamárias[6]. O exame anatomopatológico pode ser feito em diversos tipos de amostras: biópsias, peças de nodulectomia, mastectomia simples, mastectomia em bloco, mastectomia radical (unilateral/bilaterial). De acordo com *Cassali et al*[14], as amostras deverão ser preservadas em

formaldeído a 4% e feita a descrição macroscópica, sendo registados os aspetos relativos ao peso, medidas, tipo de crescimento, formato, superfície externa ou de corte, cor, consistência, descrição das alterações da papila mamária e margens. O número e tamanho dos fragmentos representativos para recolha aquando da macroscopia, estão relacionados com o tamanho/diâmetro do tumor, devendo medir cerca de 1,5 x 1,5 cm, evitando áreas de necrose. Para além disso, a avaliação dos nódulos linfáticos é importante para o estadiamento tumoral e prognóstico associado.

Para se poder planear a abordagem terapêutica, é necessário classificar o tumor do ponto de vista histológico, grau e estadiamento[7].

Em Portugal, a prática corrente da patologia veterinária utiliza a *Histological classification of mammary tumors of the dog and the cat*, da Organização Mundial de Saúde (OMS). A nível histológico, as neoplasias mamárias felinas são classificadas de acordo com critérios de diagnóstico baseados em características morfológicas, divididas em quatro categorias fundamentais (**Tabela 1**).

Tabela 1. Classificação de neoplasias mamárias felinas (Organização Mundial de Saúde)

CATEGORIAS FUNDAMENTAIS
DISPLASIA / HIPERPLASIA MAMÁRIA
TUMORES BENIGNOS
TUMORES MALIGNOS
TUMORES NÃO CLASSIFICADOS

Para classificar os tumores de acordo com o grau histológico, é utilizada uma adaptação da classificação de *Elston* e *Ellis* que avalia o tumor de acordo com o seu grau de pleomorfismo, quer nuclear, quer celular, bem como se ocorre formação de túbulos e atividade mitótica[7]. A classificação do estadiamento das lesões é efetuada com recurso a um sistema de estadiamento modificado para tumores mamários em felinos[5]. Contudo, é relevante mencionar que durante a realização deste trabalho foi utilizada a classificação histológica de tumores mamários felinos, modificada por *Cassali at al*[5]. Esta classificação engloba o termo tumor filóide, que não está contemplado na classificação da OMS mencionada anteriormente.

Os métodos imunohistoquímicos podem, entre outros aspetos, ser utilizados para diferenciar vários tipos de tumor, bem como para a determinação de fatores preditivos e de prognóstico[5].

Tabela 2. Marcadores imunohistoquímicos com utilidade no estudo de tumores mamários felinos

p63	Molécula proteica da família do gene p53 que marca células mioepiteliais[(18)]
CK 5, CK6, CK14, CK17, calponina, vimentina e actina α do músculo liso	Marcadores de células mioepiteliais[(6)]
CK7, CK8, CK18 e CK19	Marcadores de células epiteliais luminais[(6)]
ki-67	Marcador do índice proliferativo[(5)]
Cicloxigenase-2	Existe uma associação entre a expressão desta proteína e a tumorigénese[(5)]
Recetores de progesterona e estrogénio	Analisados em conjunto com HER2, CK5/6 e recetor do fator de crescimento epidérmico, podem ser úteis para esclarecer, a nível molecular, o fenótipo de diferentes tipos de tumores mamários[(6)]

CK-citoqueratina

Em relação ao tratamento, o mais comum é a realização de cirurgia para remoção do tumor. Esta pode ser feita isoladamente ou em associação com quimioterapia, sendo a mastectomia radical o método cirúrgico mais utilizado. A escolha desta técnica permite uma diminuição significativa de reaparecimento local do tumor, sendo removidos os gânglios linfáticos inguinais em conjunto com a glândula mamária. No geral, os gânglios linfáticos axilares só são removidos quando se encontram aumentados e perante a identificação de células

neoplásicas no esfregaço citológico. Após cirurgia, podem ser utilizados compostos quimioterápicos como a ciclofosfamida e a doxorrubicina. O objetivo da utilização destes compostos, como terapia adjuvante, é de prolongar a sobrevida livre de doença. Os resultados desta prática têm-se mostrado controversos, pelo que são necessários mais estudos nesta área[7].

Por fim, o prognóstico está intimamente relacionado com a classificação histológica, extensão da cirurgia e o tamanho do tumor, sendo este último o fator mais relevante[5,7]. Embora ainda não existam resultados consistentes, atualmente, novos marcadores moleculares têm sido estudados, quer do ponto de vista de utilidade prognóstica, quer como alvos terapêuticos[7].

APRESENTAÇÃO DO CASO

O caso apresentado neste trabalho remete para um esfregaço citológico de um nódulo correspondente à mama abdominal esquerda de uma gata com 8 anos de idade, com traços característicos de comum europeu e pelagem tigrada. A gata não estava esterilizada e tomava anticoncecionais. Não existia informação relativamente ao anticoncecional tomado, contudo, supõe-se que seja constituído à base de progesterona ou um análogo. A amostra foi recolhida por PAAF e o tumor removido cirurgicamente.

O esfregaço citológico foi corado pelo método de *Giemsa* e analisado ao microscópio ótico. Procedeu-se a avaliação histopatológica do tumor removido e comparam-se os resultados.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DO CASO

Após observação dos diferentes campos citológicos, identificaram-se conjuntos de células ductais, dispostas em monocamada, sem pleomorfismo, com núcleos monomórficos e cromatina dispersa, não evidenciando critérios de malignidade (**Figura 1 A-C**).

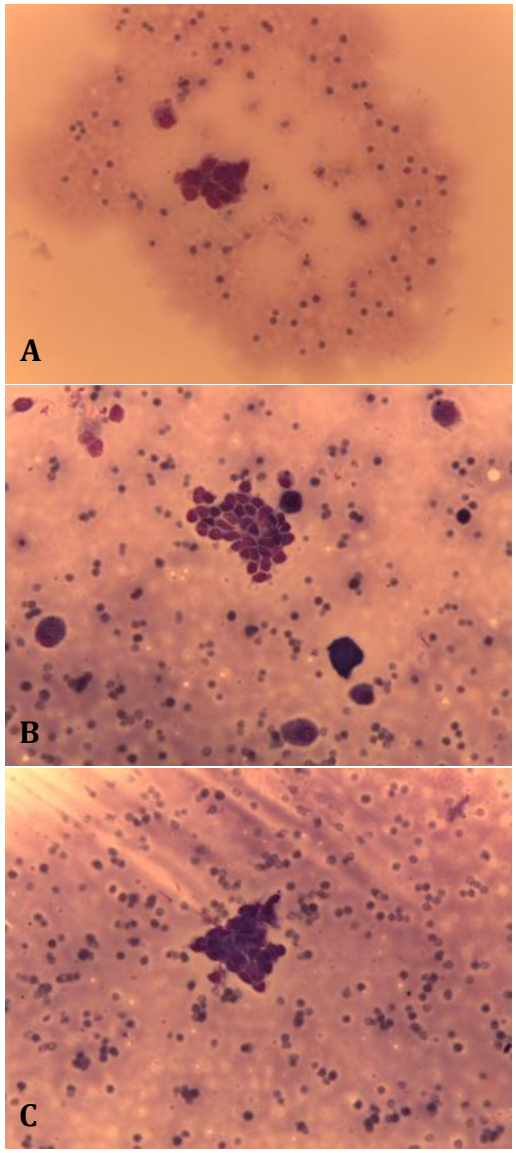

Figura 1 – Esfregaço citológico onde se observam grupos de células ductais em monocamada com ligeira atipia, serosidade de fundo, macrófagos (em A e B) e raras células mioepiteliais (em B). Coloração pelo método de Giemsa. Ampliação: 40 x.

Foram também identificados macrófagos, raras células mioepiteliais e fundo com alguma serosidade associada, visíveis na **Figura 1**.

A presença de macrófagos poderia ser indicativa de lesão quística. Este tipo de lesões deve-se à retenção de secreções de estruturas ductais distendidas e podem aparecer tanto em neoplasias malignas como benignas[9].

Durante o ciclo éstrico normal, um aspirado citológico é escasso em células secretoras e a presença de células mioepiteliais

é ainda mais rara, pelo que a hiperplasia mamária ocorre quando existe uma proliferação celular, com características normais. É importante mencionar que, nestes animais, a hiperplasia da glândula mamária é também fortemente influenciada pelo estado hormonal, pelo que o período diestro do ciclo, a gravidez e o uso de anticoncecionais podem estimular o crescimento das células[9]. Desta forma, o facto de a gata ter sido submetida à toma de anticoncecionais poderia ter potenciado o surgimento do tumor.

Fibroadenoma e tumor filóide são facilmente confundíveis, uma vez que estas lesões fibroepiteliais apresentam um padrão bifásico, com proliferação de componentes estromais e epiteliais. Um fibroadenoma consiste numa neoplasia benigna, enquanto o tumor filóide pode ser benigno ou apresentar características *bordeline* ou de malignidade[14]. Entre outros aspetos que podem ser tidos em conta, a presença de componentes hipercelulares estromais é um fator crucial para a distinção destas lesões. Por norma, uma maior componente estromal encontra-se associada a tumores filóides[19]. Devido à escassa quantidade de componente estromal nos campos observados, acabou por se atribuir um resultado citológico de fibroadenoma.

Na avaliação macroscópica observou-se a presença de um quisto, comprovando que a lesão apresentava componente quística associada. Na avaliação histológica, observou-se lúmens em forma de fenda, recobertos por epitélio e células mioepiteliais, bem como o estroma muito proliferativo, que se sobrepunha ao epitélio, conferindo-lhe um carácter foliáceo característico, o que levou ao diagnóstico histológico de um tumor filóide[14].

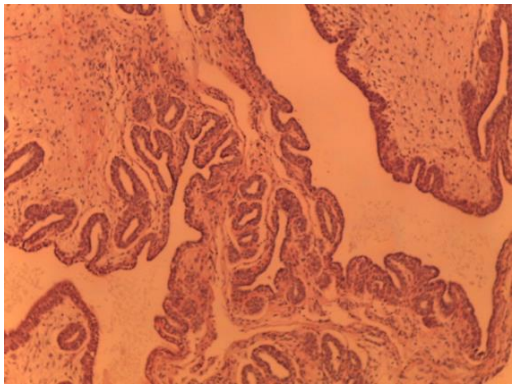

Figura 4 - Aspetos histológicos compatíveis com tumor filóide. Coloração pelo método de Hematoxilina e Eosina. Ampliação: 20x.

CONCLUSÃO

O diagnóstico citológico atribuído pelos autores foi de fibroadenoma, uma vez que a amostra era constituída essencialmente por pequenos grupos de células epiteliais em monocamada. Observavam-se raros fragmentos de estroma, pelo que não apresentava aspetos citológicos suficientes para se classificar como tumor filóide. Por outro lado, a sua classificação torna-se praticamente impossível sem métodos complementares de diagnóstico, nomeadamente a imunocitoquímica.

Neste trabalho não foi possível complementar a histologia com o estudo dos recetores de progesterona, geralmente presentes em elevada concentração nas alterações de origem hormonal. A toma de anticoncecionais e consequente influência hormonal poderá ter potenciado o aparecimento da neoplasia, no entanto, não é possível sustentar esta afirmação com os dados disponíveis.

À semelhança do que acontece na patologia humana, a histologia é considerada o *gold standard* para o diagnóstico destas lesões. Contudo, apesar de isoladamente não permitir o diagnóstico da lesão, o uso da citologia em medicina veterinária funciona como um método de diagnóstico inicial para distinguir entre processos benignos/malignos, revelando-se vantajoso em termos de recursos.

Financiamento

Não houve bolsas/subsídios para a realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MacEwen EG. Spontaneous tumors in dogs and cats: Models for the study of cancer biology and treatment. CANCER METASTASIS Rev [Internet]. 1990 Sep;9(2):125–36. Available from: http://link.springer.com/10.1007/BF00046339
2. Kieslinger M, Swoboda A, Kramer N, Pratscher B, Wolfesberger B, Burgener IA. Companion Animals as Models for Inhibition of STAT3 and STAT5. Cancers (Basel) [Internet]. 2019 Dec 17;11(12):2035. Available from: https://www.mdpi.com/2072-6694/11/12/2035
3. Akram M, Iqbal M, Daniyal M, Khan AU. Awareness and current knowledge of breast cancer. Biol Res [Internet]. 2017 Dec 2;50(1):33. Available from: http://biolres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40659-017-0140-9
4. Risk L, Age IB. Breast Cancer Facts and Figures 2000. Cancer Pract. 2000;8(2):55–7.
5. Cassali G, Jark P, Gamba C, Damasceno K, Estrela-Lima A, Nardi, A, et al. Consensus Regarding the Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine and Feline Mammary Tumors - 2019. Brazilian J Vet Pathol [Internet]. 2020 Nov 26;13(3):555–74. Available from: http://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2020/11/v13-n3-1.pdf
6. Valentina Zapulli, Laura Peña, Roberta Rasotto, Michael H. Goldschmidt, Adelina Gama JLS. Surgical Pathology of Tumors of Domestic Animals Volume 2: Volume 2: Mammary Tumors: Mammary Tumors, Volume 2. Matti Kiupel, editor. Davis Thompson Foundation; 2019. 270 p.
7. Antunes SC da S. Feline Mammary Tumours: a Literature Review. 2014;(July). Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/18a4/efb8f8ca16138b5b1ccee4b33774314a7c35.pdf
8. Hahn KA, Bravo L, Avenell JS. Feline breast carcinoma as a pathologic and therapeutic model for human breast cancer. In Vivo [Internet]. 1994;8(5):825–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7727731
9. Maria da Conceição Peleteiro, Marta Santos, Ricardo Marcos, Correia Jorge HP. Atlas de Citologia Veterinária. LIDEL; 2011. 308 p.
10. Howe L. Current perspectives on the optimal age to spay/castrate dogs and cats. Vet Med Res Reports [Internet]. 2015 May;171. Available from: http://www.dovepress.com/current-perspectives-on-the-optimal-age-to-spaycastrate-dogs-and-cats-peer-reviewed-article-VMRR
11. Dagher E, Simbault L, Abadie J, Loussouarn D, Campone M, Nguyen F. Identification of an immune-suppressed subtype of feline triple-negative basal-like invasive mammary carcinomas, spontaneous models of breast cancer. Tumor Biol [Internet]. 2020 Jan 21;42(1):101042831990105. Available from: http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1010428319901052
12. Shafiee R, Javanbakht J, Atyabi N, Bahrami A, Kheradmand D, Safaei R, et al. Comparative value of clinical, cytological, and histopathological features in feline mammary gland tumors; an experimental model for the study of human breast cancer. Diagn Pathol [Internet]. 2013 Dec 13;8(1):875. Available from: http://diagnosticpathology.biomedcentral.com/articles/10.1186/1746-1596-8-136
13. Cassali GD, Gobbi H, Malm C, Schmitt FC. Evaluation of accuracy of fine needle aspiration cytology for diagnosis of canine mammary tumours: comparative features with human tumours. Cytopathology [Internet]. 2007 Jun 5;18(3):191–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573766
14. Cassali G, Ferreira E, Campos Cecilia Bonolo. Patologia Mamária Canina. Do Diagnóstico ao Tratamento. 1st ed. Medvet; 2017. 224 p.
15. Gomes RA. Estudo Comparativo da Análise Citológica e Histopatológica de Massas Cutâneas e Subcutâneas em Cães e Gatos. Univerisade Lisboa - Fac Med Veterinária. 2015;
16. Gill GW. Cytopreparation [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013. (Essentials in Cytopathology; vol. 12). Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4614-4933-1
17. SAWA M, YABUKI A, MIYOSHI N, ARAI K, YAMATO O. Rapid-Air-Dry Papanicolaou Stain

in Canine and Feline Tumor Cytology: A Quantitative Comparison with the Giemsa Stain. J Vet Med Sci [Internet]. 2012;74(9):1133–8. Available from: http://jlc.jst.go.jp/DN/JST.JSTAGE/jvms/12-0046?lang=en&from=CrossRef&type=abstract

18. Gama A. A novel myoepithelial cell marker in canine mammary tissue. Vet J [Internet]. 2011 Dec;190(3):303–4. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1090023311001651

19. Costa R, Estrada T, Faria C, Sousa V, Agapito P. Fibroadenoma e Tumor Filóide: Semelhanças e Diferenças-Uma Revisão. Citotech Online. 2019;24–36.