

LA CITODIAGNOSTICA AGOASPIRATIVA NELLE PATOLOGIE EPATICHE DEL CANE E DEL GATTO. CONFRONTO CITOLOGIA/ISTOLOGIA IN 90 CASI CONSECUTIVI

GIULIANO BETTINI, MARIA MORINI, LUCIANA MANDRIOLI, GIANFRANCO MILITERNO

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica
Università degli Studi di Bologna - Via Tolara di Sopra, 50 - 40064 Ozzano Emilia (BO)*

Riassunto

È stato condotto uno studio comparativo, al fine di confrontare l'attendibilità della citologia agoaspirativa rispetto all'istologia nella diagnosi delle patologie epatiche del cane e del gatto. In 90 animali (55 cani e 35 gatti) destinati all'esame necroscopico è stato simulato un prelievo citologico dal fegato, il cui esito è stato confrontato con quello dell'esame istologico di un campione prelevato in sede autoptica. La concordanza fra le due metodiche è stata valutata calcolando il coefficiente di confronto k di Cohen. La citologia epatica ha rivelato una soddisfacente capacità diagnostica per le più importanti patologie degenerative (lipidosi, 20 casi, $k=0,84$; colostasi, 18 casi, $k=0,81$; epatopatia steroidea, 9 casi, $k=1$; amiloidosi epatica, 3 casi, $k=1$), per le epatiti acute (8 casi, $k=1$) e per le neoplasie (23 casi, $k=0,88$). Nell'ambito di queste ultime, carcinomi e sarcomi sono risultati meglio riconoscibili dalla citologia (carcinomi, 9 casi, $k=0,88$; sarcomi, 4 casi, $k=1$) rispetto ai linfomi epatici (9 casi, $k=0,78$). In alcune condizioni invece la citologia non ha riconosciuto adeguatamente l'epatopatia principale (epatite cronica, 13 casi, $k=0,15$; cirrosi/sclerosi epatica diffusa, 5 casi, $k=0$; emosiderosi, 3 casi, $k=0,49$). Vengono discussi i principali criteri diagnostici e commentate le difficoltà interpretative.

Summary

A comparative study between cytology and histology has been carried out to assess the reliability of fine-needle aspiration in the diagnosis of canine and feline hepatic disorders. The liver of 90 animals (55 dogs and 35 cats) designed for post mortem was first sampled for cytology; subsequently, a specimen was also taken for histology during the necropsy. The agreement between the two methods has been measured calculating the coefficient kappa of Cohen. Hepatic cytology showed a satisfactory agreement with histology for most important degenerative liver diseases (lipidosis, 20 cases, $k=0.84$; cholestasis, 18 cases, $k=0.81$; glucocorticoid hepatopathy, 9 cases, $k=1$; hepatic amyloidosis, 3 cases, $k=1$), acute hepatitis (8 cases, $k=1$) and tumours (23 cases, $k=0.88$). Among neoplasms, the agreement was better for sarcomas (4 cases, $k=1$) and carcinomas (9 cases, $k=0.88$) than for lymphomas (9 cases, $k=0.78$). As for some disorders, hepatic cytology was not adequate to recognise the leading hepatopathy (chronic hepatitis, 13 cases, $k=0.15$; cirrhosis/diffuse sclerosis, 5 cases, $k=0$; hemosiderosis, 3 cases, $k=0.49$). The diagnostic criteria and the obstacles in correct interpretation are discussed.

INTRODUZIONE

I dati forniti dall'esame clinico, dai test di funzionalità epatica e dalla diagnostica per immagini permettono di riconoscere con sufficiente chiarezza il coinvolgimento o l'eventuale responsabilità del fegato in uno stato morbo-

so, ma solo raramente sono in grado di delineare con esattezza la natura del processo. Una definizione diagnostica completa richiederebbe infatti la valutazione morfologica del tessuto epatico, e l'esame istopatologico di campioni biotici rappresenta sicuramente il sistema di elezione per raggiungere questo scopo. Tuttavia, in certe circostanze l'invasività della tecnica di prelievo, il rischio di emorragie (che in corso di epatopatia può essere aumentato per una concomitante coagulopatia) ed il tempo necessario per l'esecuzione di un esame istologico possono limitare l'applicazione.

“Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 22/6/2001 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 19/7/2001”.

cabilità dell'esame bioptico nella pratica clinica. In questi casi la biopsia citologica agoaspirativa potrebbe utilmente inserirsi nel processo diagnostico, come mezzo in grado di determinare la natura dell'eventuale patologia epatica in tempi rapidi e con invasività minima.

In patologia umana il campionamento citologico del fegato tramite agoaspirazione con ago sottile è ampiamente utilizzato da molti anni e riconosciuto come un sistema diagnostico di soddisfacente affidabilità, soprattutto se opportunamente integrato con i dati clinici e di diagnostica per immagini^{1,2,3,4}. In campo veterinario, invece, la citodiagnostica ha visto una notevole espansione solamente nell'ultimo decennio, e la citologia degli organi interni non è tuttora molto applicata. I distretti più frequentemente campionati sono infatti quelli più direttamente accessibili, come la cute ed i linfonodi, mentre esiste una certa retrosia ad effettuare campionamenti citologici su organi profondi quali fegato, reni, milza, surrenali e pancreas, anche se i rischi collegati alla penetrazione ed all'attraversamento dei tessuti da parte di un ago sottile sono minimi e le strumentazioni di diagnostica per immagini oggi disponibili in molte cliniche veterinarie permettono una sicura definizione del bersaglio da campionare^{5,6,7}.

I pochi studi fino ad ora effettuati sulla citodiagnostica agoaspirativa del fegato nel cane e nel gatto hanno evidenziato risultati incoraggianti, suggerendone un uso efficace^{8,9} e pressoché scevro da complicazioni^{10,11}.

Nel presente lavoro, condotto su una casistica non selezionata di cani e gatti pervenuti al nostro servizio diagnostico per essere sottoposti ad esame necroscopico, si è cercato di valutare la capacità della citodiagnostica applicata al fegato, effettuando caso per caso un paragone fra le risultanze dell'osservazione citologica e dell'esame istologico.

MATERIALI E METODI

Lo studio si è svolto nell'arco di due anni (1998-2000) ed è stato realizzato eseguendo prelievi citologici dal fegato di cani e gatti appena deceduti e conferiti per l'esame necroscopico al nostro Servizio diagnostico. Per la ricerca sono stati selezionati solo animali deceduti da non più di due ore, al fine di evitare la sovrapposizione di fenomeni autolitici. Appena aperta la cavità addominale si procedeva al prelievo citologico dal fegato, tramite ago da 22 Gauge raccordato a siringa da 2,5 ml, ed all'allestimento di almeno due strisci citologici secondo le tecniche standard. Nel caso di patologie focali o multifocali (masse, noduli) il campionamento è stato effettuato direttamente sul focolaio lesivo, mentre nel caso di patologie diffuse il campionamento era condotto a caso, così come quando il fegato non presentava alcuna lesione macroscopica.

I preparati, essiccati all'aria, erano poi colorati con May-Grünwald-Giemsa (MGG) e montati in DPX (Fluka) con vetro coprioggetto. Per ogni caso, ulteriori due o tre strisci venivano fissati con un citofissativo spray (Merkofix®: Merk) e conservati per eventuali ulteriori colorazioni (Perls per l'emosiderina, Rosso Congo per la sostanza amiloide, PAS per il glicogeno, Oil-Red-O per i lipidi).

Durante la necroscopia, condotta secondo routine dal patologo di turno, venivano prelevati campioni di fegato per l'esame istologico, oltre ad eventuali campioni di altri organi

e tessuti secondo quanto ritenuto necessario al fine di pervenire ad una completa definizione diagnostica del caso. In tutti i casi, il campionamento per l'istologia del fegato era effettuato anche dallo stesso settore campionato per la citologia. I campioni destinati all'esame istologico venivano fissati in formalina al 10% tamponata, inclusi in paraffina, sezionati allo spessore di 6 µm e colorati con ematossilina-eosina. Quando ritenuto necessario sono state applicate inoltre metodiche istochimiche ed immunoistochimiche.

Per la diagnostica citologica del fegato si sono considerati i criteri individuati nei testi fondamentali di citologia veterinaria^{12,13,14} ed in lavori specifici^{8,15,9,16,17}, integrati quando necessario con testi e studi della citopatologia umana^{2,3,4}.

I preparati citologici erano osservati al microscopio avendo a disposizione il referto della necroscopia (reperti clinici e macroscopici), ma non quello dell'istologia, che solo successivamente veniva confrontato con l'esito della citologia.

Ai fini strettamente comparativi si è ritenuto opportuno registrare, nella valutazione citologica ed istologica, la presenza o meno di lesioni "elementari" (ad esempio degenerazione vacuolare, presenza di granulociti neutrofili) indipendentemente dalla loro gravità, e la diagnosi morfologica finale (ad esempio epatite cronica). Questa procedura di registrazione è stata motivata dal fatto che nella patologia epatica si osservano spesso numerose lesioni "elementari" variamente associate fra loro (nello stesso campione, ad esempio, si può rilevare "presenza di granulociti neutrofili", "presenza di pigmenti biliari", "degenerazione epatocellulare vacuolare"), e la diagnosi morfologica finale dipende dalla gravità dei singoli rilievi e dai loro rapporti spaziali con il substrato anatomico.

In questo modo è stato possibile valutare separatamente sia la capacità del metodo citologico di riconoscere le lesioni "elementari", sia la possibilità di raggiungere una diagnosi corretta. Le categorie diagnostiche su cui si è saggiata la correlazione cito-istologica sono state ridotte al minimo, in modo da poter eseguire i confronti su un numero significativo di casi. Le principali semplificazioni operate sono state il considerare in un'unica categoria le diagnosi di epatite acuta e purulenta, e quelle di epatite cronica, cronica attiva e colangioepatite cronica, anche per l'obiettivo impossibilità della citologia a discriminare fra epatopatie flogistiche che istologicamente vengono differenziate solo in base alla localizzazione delle lesioni.

Il grado di concordanza fra i due metodi diagnostici (citologia ed istologia) è stato valutato calcolando la concordanza proporzionale ed il coefficiente kappa di Cohen. La concordanza proporzionale (Po) esprime il grado di corrispondenza matematica fra due metodi, e varia da 0 a 1, con 1 che indica una concordanza perfetta¹⁸. Quando due metodiche classificano indipendentemente dei soggetti per categorie nominali, ci si può però attendere un certo grado di concordanza casuale, che sarà tanto più elevato quanto maggiore è la prevalenza della lesione. In questi casi il descrittore statistico più utilizzato è il coefficiente di confronto kappa di Cohen^{19,20,18}, in cui la concordanza proporzionale è depurata dalla possibilità di una concordanza casuale. Anche il k di Cohen varia da 0 a 1. Negli studi comparativi, la concordanza è giudicata pressoché perfetta per k compresi fra 0,81 ed 1, buona fra 0,61 e 0,80, moderata fra 0,41 e 0,60, modesta fra 0,21 e 0,40 e scarsa se inferiore a 0,20²⁰.

RISULTATI

Sono stati valutati complessivamente 95 soggetti, 58 cani e 37 gatti. Di questi, 5 (3 cani e 2 gatti) sono stati scartati dallo studio per l'inadeguatezza dei preparati citologici, causata da eccessiva contaminazione ematica e scarsa cellularità. La casistica su cui si sono eseguite le ulteriori valutazioni si è pertanto ristretta a 90 casi, 55 cani e 35 gatti. Di questi, 16 soggetti (10 cani e 6 gatti) erano affetti da gravi epatopatie responsabili di alterazioni clinicamente rilevate e correlabili con la morte dell'animale (2 epatiti croniche attive, 1 epatite purulenta, 1 epatite acuta, 1 colangiopatie purulenta, 2 colangiopatie croniche, 3 cirrosi, 2 steatosi, 1 shunt portocavale, 1 colangiocarcinoma, 1 fibrosarcoma, 1 stenosi biliare iatrogena acuta). Nei restanti 45 cani e 29 gatti, invece, il fegato non era l'organo più gravemente interessato e si sono quindi rilevate lesioni di importanza secondaria o non sospettate clinicamente.

44 cani (80%) e 17 gatti (48,6%) sono stati inviati alla necropsia dopo il decesso spontaneo. I restanti 11 cani (20%) e 18 gatti (51,4%) sono stati invece sottoposti ad eutanasia.

Nel 26,6% dei casi (16 cani su 55 e 8 gatti su 35) il fegato presentava lesioni a focolaio, mentre nei restanti casi le lesioni erano diffuse (39,2%) o macroscopicamente inapparenti (34,2%).

L'esame istologico del fegato ha fatto rilevare, nei 90 casi considerati, complessivamente 152 lesioni elementari, talora come singole entità, spesso associate fra loro, e 105 epatopatie (in alcuni casi erano infatti presenti più alterazioni epatiche all'interno dello stesso fegato, ad esempio steatosi e metastasi di carcinoma).

In Tabella 1 sono riportati, relativamente alle lesioni elementari ed alle epatopatie, i valori assoluti delle singole tipologie lesive riscontrati con entrambi i metodi (e), solo con la citologia (c) e solo con l'istologia (i); la prevalenza delle lesioni rilevata dalla citologia (Pc) e dall'istologia (Pi); la differenza percentuale tra le due stime di prevalenza (D%P); la prevalenza della lesione, come rilevata dalla citologia (Po) e dall'istologia (Pi); la differenza percentuale tra le due stime di prevalenza (D%P); la differenza percentuale tra le due stime di prevalenza (D%P); la differenza percentuale tra le due stime di prevalenza (D%P).

Tabella 1
Confronto statistico fra rilievi citologici (c) ed istologici (i) in 90 fegati di cane e di gatto

Lesione	e	c	i	t	Pc	Pi	D%P	Po	k
Lesioni elementari									
Presenza di pigmenti biliari	27	3	2	58	33,33	32,22	-3	0,94	0,87
Presenza di pigmenti emosiderinici	3	0	4	63	4,29	10,00	57	0,94	0,57
Degenerazione idropico-vacuolare	17	0	4	69	18,89	23,33	19	0,96	0,87
Degenerazione lipidica	21	3	2	64	26,67	25,56	-4	0,94	0,86
Presenza di sostanza amiloide	3	0	0	87	3,33	3,33	0	1,00	1,00
Presenza di granulociti	10	13	0	67	25,56	11,11	-130	0,86	0,53
Presenza di linfociti e plasmacellule	14	13	2	61	30,00	17,78	-69	0,83	0,55
Presenza di fibroblasti/fibroci	3	0	2	85	3,33	5,56	40	0,98	0,74
Presenza di megacariociti	2	1	0	87	3,33	2,22	-50	0,99	0,79
Epatociti necrotici	2	0	2	86	2,22	4,44	50	0,98	0,66
Presenza di molte emazie	8	0	1	81	8,89	10,00	11	0,99	0,94
Presenza di cellule neoplastiche	19	0	4	67	21,11	25,56	17	0,96	0,88
Nessuna lesione	5	0	0	85	5,56	5,56	0	1,00	1,00
Epatopatie									
Colostasi	14	1	4	71	16,67	20,00	17	0,94	0,81
Emosiderosi	1	0	2	87	1,11	3,33	67	0,98	0,49
Epatopatia steroidea	9	0	0	81	10,00	10,00	0	1,00	1,00
Steatosi/lipidosi	17	2	3	68	21,11	22,22	5	0,94	0,84
Amiloidosi	3	0	0	87	3,33	3,33	0	1,00	1,00
Epatite acuta	8	0	0	82	8,89	8,89	0	1,00	1,00
Epatite cronica	3	7	10	70	11,11	14,44	23	0,81	0,15
Cirrosi / sclerosi epatica	0	0	5	85	0,00	5,56	100	0,94	0,00
Emopoiesi extramidollare	2	0	0	88	2,22	2,22	0	1,00	1,00
Neoplasia epiteliale	8	1	1	80	10,00	10,00	0	0,98	0,88
Neoplasia mesenchimale	4	0	0	86	4,44	4,44	0	1,00	1,00
Linfomi	6	0	3	81	6,67	10,00	33	0,97	0,78
Neoplasia neuroendocrina	0	0	1	89	0,00	1,11	100	0,99	0,00
Peliosi	0	0	1	89	0,00	1,11	100	0,99	0,00
Nessuna patologia rilevante	13	0	0	77	14,44	14,44	0	1,00	1,00

e = lesione o epatopatia osservata sia alla citologia che all'istologia. c = osservata solo alla citologia. i = osservata solo all'istologia. t = assente in entrambi i metodi. Pc = prevalenza della lesione, come rilevata dalla citologia. Pi = prevalenza della lesione, come rilevata dalla istologia. D%P = differenza percentuale tra le due stime di prevalenza. Po = concordanza proporzionale fra citologia ed istologia. k = coefficiente kappa di Cohen.

ferenza percentuale fra le due stime di prevalenza (D%P); la concordanza proporzionale fra citologia ed istologia (Po) ed il coefficiente k di Cohen. La concordanza proporzionale è risultata ottima per tutte le categorie. Il dato risulta però notevolmente ridimensionato nel calcolo del k di Cohen, anche se la maggioranza delle lesioni elementari e delle epatopatie conserva comunque un $k > 0,80$, e solo 4 epatopatie sulle 15 categorie diagnostiche considerate presentano un $k < 0,20$. La concordanza globale, riferita all'intero complesso delle lesioni osservate, è risultata pari all'85,3% per le lesioni elementari ed al 74,6% per le epatopatie.

DISCUSSIONE

Nello studio non si è ritenuto necessario tenere distinti i risultati secondo le due specie animali, in quanto i reperti citologici sono risultati analoghi e le patologie sovrapponibili. La finalità dello studio era inoltre orientata alla valutazione della sensibilità dell'esame citologico e non alla stima dell'incidenza delle patologie epatiche. È tuttavia interessante commentare che, su 90 necroscopie consecutive non selezionate, erano presenti lesioni epatiche direttamente correlabili alla sintomatologia o al decesso dell'animale in ben 16 casi (18%), rappresentate da lesioni su base flogistica (44%), degenerativa (44%) e neoplastica (12%). Il dato, che di per sé già sottolinea l'importanza delle malattie epatiche nella patologia veterinaria, è ulteriormente rafforzato dal fatto che anche nei soggetti privi di evidenze cliniche di epatopatie il fegato presentava spesso delle lesioni. Infatti, su 74 animali che non avevano in anamnesi una sintomatologia epatica, solo 5 erano in effetti privi di deviazioni dalla normalità, mentre negli altri soggetti erano presenti lesioni epatiche, lievi nell'11,3% dei casi e da moderate a gravi nell'88,7%.

Questi rilievi, confermando l'importanza dell'esame del fegato in una valutazione completa dello stato di salute dell'animale, inducono all'importante considerazione che il fegato dovrebbe essere sempre attentamente indagato nella stadiazione delle patologie sistemiche di qualsiasi natura, e che l'esame citologico potrebbe utilmente inserirsi in questo processo.

Lo scopo principale dello studio era il confronto citologia/istologia delle patologie epatiche, ed il prelievo in sede necroscopica ha permesso di campionare con le due metodiche lo stesso distretto. Non può essere negato che il campionamento citologico post-mortem ha facilitato per alcuni versi l'esame citologico, non tanto dal punto di vista della diagnosi, quanto favorendo il prelievo mirato nelle lesioni a focolaio. Nonostante le condizioni ottimali in cui si è condotto il prelievo, il numero dei preparati inadeguati è risultato piuttosto alto (5/95) ed è legato a fenomeni di eccessiva contaminazione ematica e scarsa cellularità. La presenza di un numero di globuli rossi tale da diluire gli elementi diagnostici, fino a rendere il preparato inadeguato, è uno degli inconvenienti più temuti della citologia agoaspirativa che, in organi molto vascolarizzati come il fegato, diviene particolarmente importante. Nella pratica diagnostica si consiglia di esaminare l'adeguatezza degli strisci non appena allestiti, con una colorazione rapida o addirittura non colorati, in modo da poter ripetere immediatamente il campionamento nell'eventualità di preparati non idonei.

L'eterogeneità della casistica ci ha indotto a registrare sia le lesioni "elementari" del fegato che le vere e proprie epatopatie, perché le prime possono essere presenti, nello stesso fegato, da sole o variamente associate, ma non necessariamente in entità tale da assumere un'importanza diagnostica di rilievo.

Tra le lesioni elementari e le epatopatie erano inserite anche le voci "nessuna lesione" e "nessuna patologia rilevante", corrispondenti ad un quadro citologico in cui tutte le componenti dello striscio sono state giudicate nella normalità. I campioni "normali" sono preparati ben cellulati, in cui gli epatociti appaiono come cellule voluminose, isolate o raggruppate in foglietti di piccole dimensioni. Gli epatociti hanno forma da ovoidale-rotondeggiante a poligonale e dimensioni alquanto variabili con dismetrie nucleari anche notevoli, ma rapporto nucleo/citoplasma basso e costante^{8,16,13}. Secondo alcuni autori⁹ il pleomorfismo fisiologico degli epatociti è correlato all'età dell'animale. L'abbondante citoplasma appare finemente granulare ed intensamente colorato in blu-violaceo con il MGG, ed il nucleo è tondeggiante e lievemente eccentrico, con un nucleolo voluminoso ben visibile. Reperti occasionali possono essere rappresentati dall'osservazione di epatociti binucleati e dalla presenza, nel cane, all'interno del nucleo di voluminose inclusioni a struttura cristallina di forma rettangolare, che deformano il nucleo della cellula stessa (Fig. 1). Si tratta di formazioni giudicate prive di significato patologico e di cui, escluso si tratti di precipitati di metalli pesanti²¹, si ignora la natura. Talvolta invaginazioni citoplasmatiche all'interno del nucleo, dovute ad una discontinuità nella membrana nucleare, possono mimare la presenza di inclusi, rendendosi visibili sotto forma di vacuoli tondeggianti (c.d. pseudoinclusi intranucleari)^{12,16,13}. Frequentemente è anche possibile osservare in singoli epatociti la presenza di pigmento biliare intracitoplasmatico, colorato in verde-bluastro scuro. Altre componenti cellulari, presenti in minore quantità, sono rappresentate da cellule epiteliali biliari, di piccole dimensioni e spesso strutturate in formazioni simil-duttali, ed occasionalmente da cellule mesoteliali di provenienza capsulare, disposte in foglietti monostratificati (Fig. 2), oltre a rari macrofagi (cellule di Kupffer) ed alcune cellule endoteliali, che possono derivare da capillari sinusoidali o anche dall'endotelio di vasi di maggiore calibro. Inoltre è sempre presente in maniera più o meno cospicua una componente ematica composta di eritrociti e leucociti. In due casi la "contaminazione" ematica del prelievo ha portato alla evidenziazione di alcune microfilarie (Fig. 3). Complessivamente 5 casi (5,5%) sono stati giudicati privi di lesioni dalla citologia, ed il reperto è stato confermato dall'istologia ($k=1$). In ulteriori 8 casi le lesioni presenti sono state giudicate così lievi da considerare il fegato privo di patologie rilevanti, portando così a 13 il numero di casi in cui citologia ed istologia hanno concordato nel giudicare il fegato privo di patologie rilevanti ($k=1$).

La lesione "elementare" registrata più di frequente (29 casi) è stata la presenza in sede intra ed extracellulare di *pigmenti biliari*, cui corrispondeva, nei casi più conclamati, la formulazione di una diagnosi di epatopatia colostatica (18 casi). Nei casi più lievi si osservava una fine granulazione bruno-verdastra all'interno del citoplasma, che si può rendere evidente anche come reperto occasionale in singoli epatociti. La vera e propria colostasi è invece caratterizzata da una grande quantità di granulazioni biliari presenti nella maggior

parte degli epatociti, che appaiono letteralmente stipati di pigmenti, e dalla concomitante presenza di ammassi ramificati di pigmento in sede extracellulare, interposti fra epatociti contigui, corrispondenti a trombi biliari che otturano i canalicoli (detti anche "cilindri biliari") (Fig. 4). Il risultato ci-

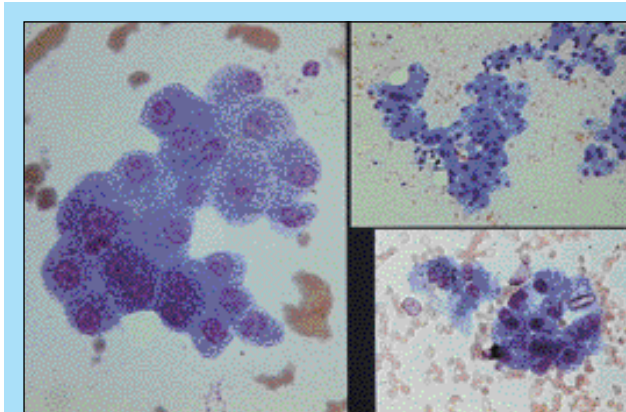


FIGURA 1 - Cane, fegato, agoaspirato. A sinistra: aspetto a forte ingrandimento di epatociti normali (x400). In alto a destra: a piccolo ingrandimento la forma degli ammassi di epatociti suggerisce talvolta la strutturazione delle filiere epatiche (x60). In basso a destra: il nucleo di un epatocita è deformato dalla presenza di una voluminosa inclusione cristallina (x200). May-Grünwald-Giemsa.

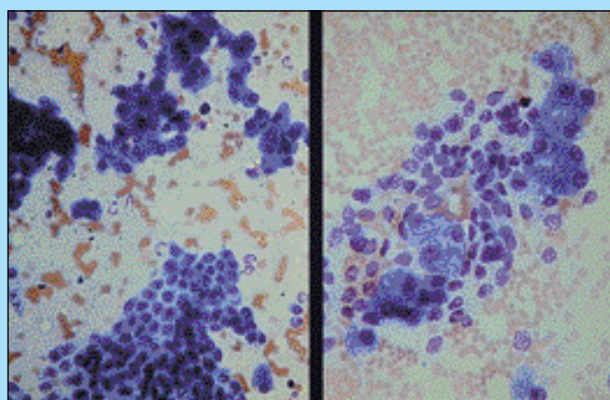


FIGURA 2 - Cane, fegato, agoaspirato. A sinistra: si noti la presenza in alto di gruppi di epatociti con morfologia normale ed in basso di un ampio foglietto di cellule mesoteliali, accidentalmente aspirate dalla capsula di rivestimento del fegato (x200). A destra: ammasso simil-duttale di cellule dell'epitelio biliare frammiste ad alcuni epatociti normali (x200). May-Grünwald-Giemsa.



FIGURA 3 - Cane, fegato, agoaspirato. Presenza di una microfilaria fra alcuni epatociti isolati (x200). May-Grünwald-Giemsa.

tologico ha evidenziato una soddisfacente corrispondenza con l'istologia: $k=0,87$ per la presenza di pigmenti biliari come lesione elementare; $k=0,81$ per la diagnosi di epatopatia colostatica. Inoltre, la non perfetta corrispondenza fra esito citologico ed istologico non è sempre indicativa di un errore del primo metodo: la citologia sarebbe addirittura più sensibile dell'istologia nell'individuazione del ristagno di pigmenti biliari, a causa della parziale perdita di pigmenti che si può avere durante la processazione istologica del campione biotico¹⁶. Questo fenomeno è parzialmente confermato anche dalla nostra casistica, con tre casi di colostasi diagnosticata solo con la citologia. Per questo motivo Meyer e French¹² ritengono che la diagnosi citologica di accumulo intracellulare di bile debba essere considerata attendibile ed indicativa di una colostasi in fase iniziale, in cui non sono ancora evidenti le manifestazioni cliniche di iperbilirubinemia e di ittero. In accordo con quanto già registrato da altri^{8,9}, la colostasi era spesso associata ad altre condizioni patologiche di varia natura: epatiti e/o colangiti (7 casi), degenerazioni degli epatociti (3 casi) e neoplasie (2 casi).

Pigmenti di natura emosiderinica, che appaiono nel preparato citologico come cristalli bluastri strutturati in ammassi, possono comparire in quantità anche notevole all'interno dei macrofagi epatici (cellule di Kupffer) ed in misura minore nel citoplasma degli epatociti, di solito come conseguenza di stati emolitici cronici, nelle anemie immunomediata non rigenerative e nelle anemie aplastiche¹³. L'emosiderosi è risultata una diagnosi con basso indice di concordanza ($k=0,57$ per il riconoscimento di emosiderina, $k=0,49$ per la diagnosi di emosiderosi), in quanto alcuni casi sono stati individuati solamente tramite il successivo esame istologico, probabilmente a causa del fatto che nell'emosiderosi del fegato i macrofagi carichi di emosiderina tendono a raggrupparsi e possono pertanto sfuggire al campionamento con ago. Nei casi dubbi la natura ferrica del pigmento può essere confermata dall'applicazione anche su preparati citologici della colorazione di Perls, che colora l'emosiderina in blu (Fig. 5).

Tra le altre possibili pigmentazioni, non riscontrate nel corso di questo studio ma potenzialmente apprezzabili in un preparato citologico, ricordiamo brevemente l'accumulo di *lipofusina*, condizione para-fisiologica nei soggetti anziani, e quello di *rame*, condizione patologica che può sfociare in una grave tossicosi, spesso associata ad epatiti croniche. Alcune razze canine (Bedlington Terrier, West Highland White Terrier, Dobermann Pinscher) sono particolarmente predisposte all'accumulo intracitoplasmatico di rame, visibile nei preparati citologici come granuli rifrangenti verde pallido¹³. Anche in questo caso la diagnosi differenziale della natura dei pigmenti intracellulari può essere risolta tramite l'applicazione ai preparati citologici di metodi speciali, quali la colorazione con l'acido rubeanico, che colora i precipitati di rame in verde scuro^{9,13}.

Le *degenerazioni epatocellulari*, sono risultate molto comuni e si sono presentate con una gamma alquanto variabile per ciò che concerne la gravità delle lesioni. La differenziazione citologica fra le due forme principali (*degenerazione idropico-vacuolare* e *degenerazione lipidica*) è apparsa accurata ed agevole. Nei preparati citologici la degenerazione idropico-vacuolare è caratterizzata da epatociti più voluminosi del normale e con citoplasma più chiaro, per la presenza di vacuoli dai contorni non ben delimitati, talvolta

addirittura più simili ad aree indefinite ipocolorate, responsabili di un aspetto sbiadito e rigonfio della cellula (Fig. 6). Quadri di questo genere possono essere espressione aspecifica di uno stato di sofferenza degli epatociti (ischemia, tossiemia, infiammazione, colostasi, ecc.), la cui gravità può essere stimata in base al grado di alterazione dei singoli epatociti ed alla compresenza o meno di epatociti normali. Nel cane una tipica degenerazione vacuolare di marcata gravità è quella che si osserva in seguito al trattamento con glucocorticoidi (*epatopatia steroidea*), in cui si verifica la formazione nel citoplasma degli epatociti di ampi vacuoli contenenti acqua e glicogeno che possono determinare un aumento di volume delle cellule anche di parecchie volte superiore al normale. Nel caso in cui la diagnosi di epatopatia steroidea necessiti di una sicura conferma abbiamo verificato la possibilità di evidenziare selettivamente il contenuto in glicogeno dei vacuoli con la colorazione PAS, che conferisce al citoplasma un intenso colore fucsia (Fig. 7). Il k di Cohen è risultato pari a 0,87 per la lesione elementare "degenerazione idropico-vacuolare" (23 casi) ed uguale a 1 per la diagnosi di epatopatia steroidea (9 casi).

La *steatosi* (o *lipidosi*) epatica si presenta con caratteristiche citologiche completamente diverse, rappresentate dalla presenza intracitoplasmatica di vacuoli rotondeggianti, a margini netti, ben definiti, otticamente vuoti. L'aspetto delle vacuolizzazioni citoplasmatiche può essere diverso a seconda della gravità della steatosi e della rapidità di insorgenza. Si possono osservare forme di lipidosi microvescicolare, in cui il citoplasma è infarcito di piccoli vacuoli lipidici, e steatosi macrovescicolari, in cui il progressivo accumulo di lipidi determina la formazione di ampi vacuoli, che nei casi più gravi occupano quasi per intero il citoplasma e spingono il nucleo in periferia²², facendo somigliare l'epatocita ad un adipocita. Anche nella lipidosi, nei casi dubbi, è possibile dimostrare il contenuto lipidico dei vacuoli con colorazioni specifiche per i grassi come l'Oil-Red-O (Fig. 8). La gravità della lipidosi può essere stimata soggettivamente in base al rapporto fra epatociti steatosici e normali, mentre nessun apprezzamento citologico può essere fatto sulla distribuzione della lesione (steatosi panlobulare, centrolobulare, o lobulo-periferica), che nella valutazione istopatologica permette un orientamento patogenetico. La corrispondenza fra citologia ed istologia è risultata soddisfacente: $k=0,86$ per il rilievo di vacuoli lipidici (23 casi), $k=0,84$ per la diagnosi di steatosi/lipidosi (20 casi). In alcuni casi, tuttavia, l'istologia ha svelato che, associata ad una steatosi degli epatociti, erano presenti altre lesioni più gravi ed importanti, che la citologia non aveva individuato, quali la presenza di un infiltrato neoplastico (1 caso) o infiammatorio (1 caso). La lipidosi può infatti essere così imponente da ostacolare il riconoscimento citologico di lesioni concomitanti di altra natura, che possono essere successivamente diagnosticate all'esame istologico¹⁷. Altri problemi interpretativi possono essere legati al fatto che nel gatto una certa vacuolizzazione lipidica degli epatociti si riscontra in condizioni di normalità, per cui sarebbe sempre necessario valutarne il grado di diffusione. Affinché possa essere emessa una diagnosi di lipidosi epatica deve apparire vacuolizzato almeno il 50% degli epatociti osservabili nel preparato¹³. Un'altra difficoltà deriva dalla notevole fragilità degli epatociti steatosici che, nelle manovre di allestimento dello striscio, possono facilmente frammentarsi e determinare la presenza sul fondo di globuli lipidici. Un aspetto simile

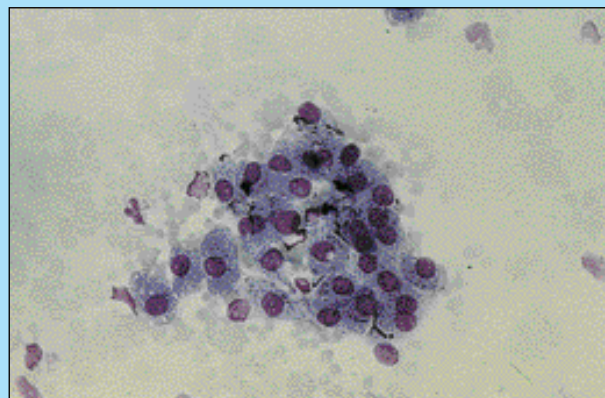


FIGURA 4 - Cane, fegato, agoaspirato. Il ristagno di pigmenti biliari (colestasi) è indicato dalla presenza nel citoplasma degli epatociti di una granulazione bruno-verdastra e dall'osservazione di tipici ammassi ramificati di pigmento negli spazi intercellulari, corrispondenti a canalicoli pieni di bile (x300). May-Grünwald-Giemsa.

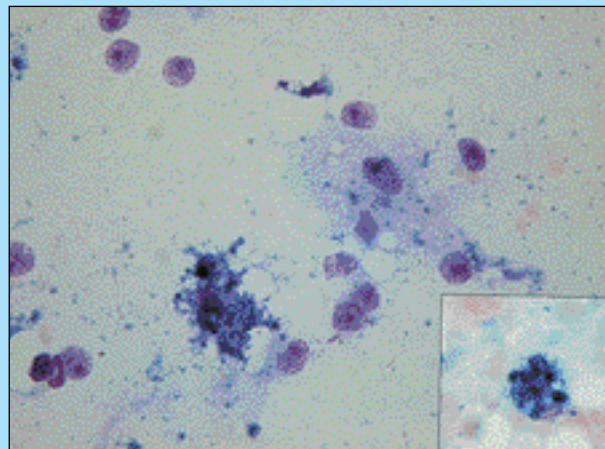


FIGURA 5 - Cane, fegato, agoaspirato. L'accumulo nel fegato di emosiderina è riconoscibile dalla presenza di macrofagi epatici con il citoplasma stipato di granulazioni bluastre (x300). May-Grünwald-Giemsa. Nel riquadro in basso a destra: la natura del pigmento può essere confermata dall'applicazione della colorazione di Perls, che colora l'emosiderina in blu brillante (x400).

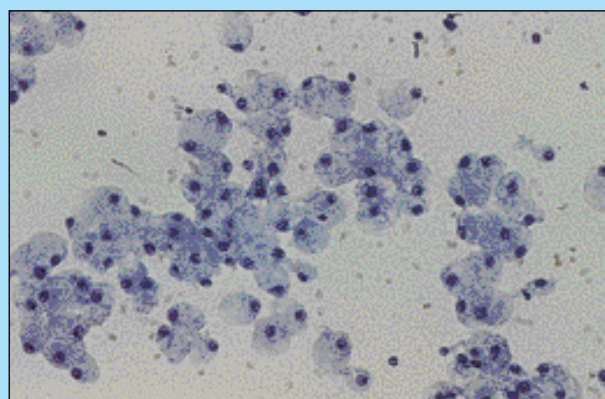


FIGURA 6 - Cane, fegato, agoaspirato. Nella degenerazione idropico-vacuolare gli epatociti appaiono più chiari e più voluminosi, con citoplasma sbiadito contenente vacuoli poco definiti di dimensioni diverse (x200). May-Grünwald-Giemsa.

può però derivare dall'accidentale aspirazione di grasso addominale durante il prelievo che, mescolandosi agli epatociti, può simulare il quadro di una steatosi epatica. Per questo motivo per emettere la diagnosi di lipidosi/steatosi ci si dovrebbe basare prevalentemente sull'osservazione di vacuoli lipidici all'interno degli epatociti⁹.

È infine da ricordare che nelle neoplasie epatocellulari e nelle lesioni nodulari di iperplasia rigenerativa gli epatociti sono spesso vacuolizzati, o anche steatosici. In questi casi la sola morfologia citologica degli epatociti, alterata dalle vacuolizzazioni citoplasmatiche, non è sufficiente ad una interpretazione univoca, che dovrà tenere invece conto dell'anatomia macroscopica del fegato, rilevabile con opportune indagini cliniche: aumento simmetrico nelle epatiti, nodosità singole o multiple nelle neoplasie⁹.

L'*amiloidosi epatica* è una patologia degenerativa caratterizzata dal deposito di sostanza proteica (amiloide) nell'interstizio. In patologia animale l'amiloidosi epatica compare più frequentemente in forma secondaria (deposito di amiloide AA), associata a fenomeni infiammatori o neoplastici, che determinano iperproduzione della proteina di fase acuta SAA. Nei gatti di razza Siamese e nelle razze orientali, l'amiloidosi epatica può anche presentarsi nel contesto di forme sistemiche a predisposizione eredo-familiare²³. Nella nostra casistica abbiamo registrato tre casi di amiloidosi epatica in tre gatti di razza Europea, associata in un caso ad epatite cronica periportale, in due casi ad una grave colangioepatite purulenta. L'esame citologico permette di riconoscere l'amiloidosi con facilità, soprattutto nei casi di deposito grave e diffuso. Con il MGG la sostanza amiloide si colora in viola¹³, ed appare sotto la forma di zolle quadrangolari frammiste agli epatociti, che ad una osservazione superficiale potrebbero essere scambiate, quanto a struttura ed affinità tintoriale, per materiale proveniente dalla degradazione cellulare. L'applicazione ai preparati citologici delle colorazioni speciali che più tradizionalmente vengono eseguite su preparati istologici permette la sicura conferma della diagnosi. Nei nostri casi abbiamo sperimentato la colorazione con Rosso Congo, utilizzando gli stessi tempi in uso per i preparati istologici. I risultati sono stati soddisfacenti in quanto le zolle di sostanza amiloide si sono colorate in rosso intenso, mostrando anche il caratteristico fenomeno della birifrangenza verde in luce polarizzata (Fig. 9). Ovvio limite della citologia è quello di non potere definire con precisione la localizzazione del deposito, nonché il suo grado di diffusione, e quindi non poter valutare la gravità del processo. Nei nostri casi la condizione era così grave e diffusa che la quantità di amiloide aspirata e presente sullo striscio non poneva dubbi riguardo ad un suo corretto riconoscimento e risultava fortemente indicativa della gravità della lesione (amiloidosi epatica, k=1).

Le *epatiti* hanno invece posto qualche problema interpretativo, evidenziando per alcune forme una bassa concordanza fra esame citologico ed istologico. In particolare per le *epatiti croniche* (13 casi) il k di Cohen è soltanto 0,15 e per le forme evolute a *sclerosi epatica* o *cirrosi* (5 casi) è 0. Al contrario le *epatiti acute* (8 casi) sono risultate ben riconoscibili (k=1). Le difficoltà di riconoscere adeguatamente le epatiti croniche con la citologia sono ben comprensibili se si considera che gli aspetti attraverso i quali si giunge alla diagnosi istologica ed alla stadiazione di queste forme sono costituiti dal riconoscimento di un infiltrato linfocitario e/o plasmocitario, dalla sclerosi tissutale e dalla disarchitettura dell'orga-

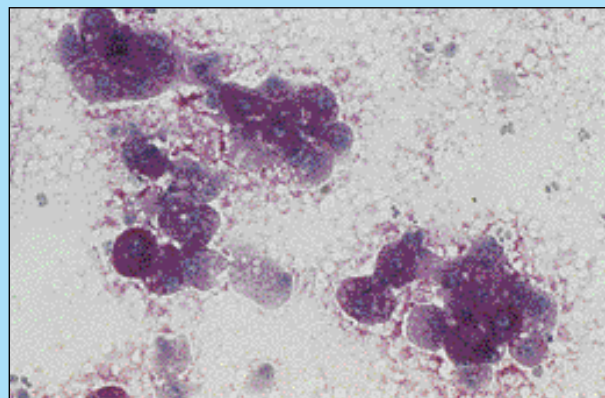


FIGURA 7 - Cane, fegato, agoaspirato. Stesso caso della figura precedente (degenerazione idropico-vacuolare - epatopatia steroidea). L'accumulo citoplasmatico di glicogeno può essere dimostrato svelandone la PAS-positività (x400). Colorazione PAS.

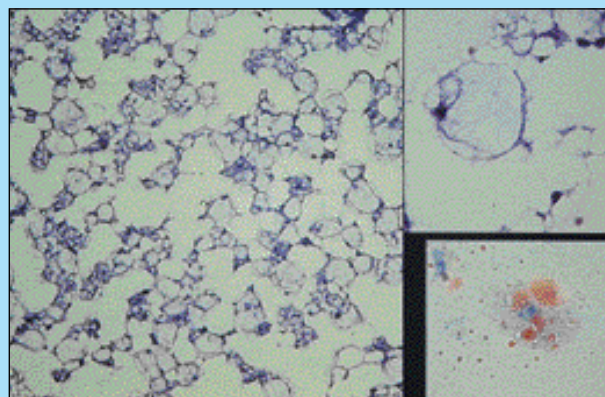


FIGURA 8 - Gatto, fegato, agoaspirato. Lipidosi epatica. A sinistra: nelle forme più gravi l'aspetto dello striscio a piccolo ingrandimento ricorda quello del tessuto adiposo (x100). May-Grünwald-Giemsa. In alto a destra: a forte ingrandimento si osserva come il citoplasma degli epatociti appare sostituito da ampie vacuolizzazioni ben definite, che arrivano a spingere il nucleo in periferia (x300). Si noti la presenza di globuli lipidici liberi sul fondo. May-Grünwald-Giemsa. In basso a destra: quando necessario la natura lipidica delle vacuolizzazioni può essere confermata con l'ausilio di colorazioni citologiche specifiche (x400). Oil-Red-O.

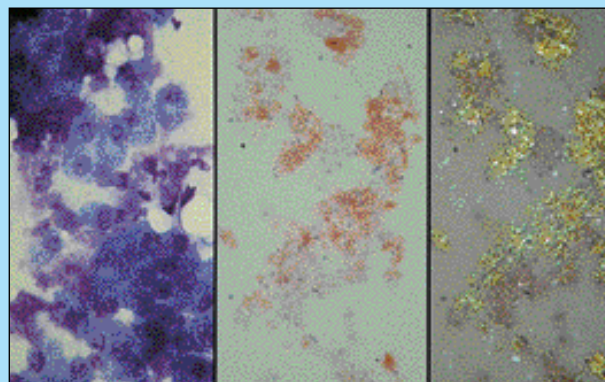


FIGURA 9 - Gatto, fegato, agoaspirato. Amiloidosi epatica. A sinistra: fra gli epatociti si nota la presenza di numerose zolle irregolari di materiale amorpho a colorazione violacea, corrispondenti a sostanza amiloide (x250). May-Grünwald-Giemsa. Al centro: colorazione rossa della sostanza amiloide dopo il trattamento con Rosso Congo (x250). A destra: la specificità della reazione al Rosso Congo è confermata dal rilievo della caratteristica birifrangenza verde all'osservazione in luce polarizzata (x250).

no. Il quadro citologico corrispondente è rappresentato solo dalla presenza, fra gli epatociti, di elementi linfoplasmocitari (Fig. 10). La scarsa concordanza con l'istologia deriva dalla difficoltà di apprezzare la sclerosi organica con la citologia, e di giudicare quindi in modo adeguato la cronicità del processo⁹. Inoltre, nelle epatiti croniche l'infiltrato è spesso modesto e frammisto a connettivo sclerotico, così che le cellule infiammatorie (generalmente si tratta di un infiltrato misto, in prevalenza linfocitario) vengono aspirate in scarsa quantità. Esiste inoltre il rischio di false positività citologiche legate alla quantità di linfociti circolanti, ed anche la possibilità di confusione con alcune forme di infiltrazione linfomatosi del fegato, soprattutto se si tratta di infiltrazione lieve di linfociti ben differenziati. Questi limiti sono stati registrati anche da Center²⁴ e da Stockhaus e Teske⁹, secondo cui la diagnosi citologica di epatite non è facile e non può essere emessa con sufficiente certezza, e da Meyer e French¹², che dubitano della adeguata sensibilità e specificità della diagnostica citologica per le epatiti, tanto più che in condizioni di epatite cronica attiva assumono significato diagnostico e prognostico di rilievo soprattutto il grado di fibrosi e l'entità dei processi rigenerativi (oltre all'estensione dell'infiltrato linfocitario) che, per ovvi motivi, non possono essere valutati con l'esame citologico.

Per le *epatiti acute*, purulente e non, caratterizzate da un infiltrato ricco di neutrofili, in preda o meno a processi autolitici, i riscontri strutturali sono meno essenziali alla formulazione della diagnosi corretta e la concordanza, infatti, è ottima ($k=1$). Anche Center²⁴ ritiene che l'esame citologico del fegato, al contrario di quanto si verifica nelle forme croniche, possa essere adatto al riconoscimento di colangiti/colangioepatiti purulente, a motivo della rilevante presenza di neutrofili in preda a processi autolitici che si verifica in queste condizioni (Fig. 11).

Per la lesione elementare "presenza di granulociti neutrofili" la concordanza è solo moderata ($k=0,53$), a causa dell'errata interpretazione dei leucociti circolanti. Una certa contaminazione ematica degli agoaspirati epatici è inevitabile, e la più importante conseguenza che ne può derivare è la presenza nello striscio di leucociti frammisti agli epatociti che, soprattutto se concomita un certo grado di leucocitosi, può facilmente simulare una epatite. I più importanti caratteri differenziali che consentono di interpretare un'eccessiva presenza di neutrofili come indicazione di una epatite acuta consistono nel riscontro di cellule normalmente non presenti nel sangue (macrofagi, plasmacellule), e di particolari anomalie morfologiche (neutrofili con nuclei picnotici o rigonfi, indicativi dell'esposizione a tossine batteriche) e nell'osservazione di differenze nel numero di leucociti fra le aree dello striscio contenenti solo sangue e nelle aree intorno agli epatociti. Nei casi dubbi potrebbe essere utile confrontare il numero dei leucociti nello striscio con quello presente in uno striscio di sangue periferico.

In due casi è stato possibile segnalare la presenza, associata alle componenti cellulari normalmente visibili, di alcuni megacariociti e di numerose forme mieloidi a diversi stadi maturativi (condizione che ne permette la differenziazione con forme flogistiche) ed è stata formulata una diagnosi di *emopoiesi extramidollare*, che si può osservare in associazione ad anemia rigenerativa oppure a patologie sistemiche su base infiammatoria. La citologia si è dimostrata in grado di riconoscere adeguatamente questa con-

dizione ($k=1$), soprattutto grazie alla morfologia tipica dei megacariociti. Patologie da mettere in diagnosi differenziale possono essere rappresentate da infiltrazioni neoplastiche in corso di leucemia mieloide⁹ e dai mielolipomi, eterotopie midollari occasionalmente riscontrate a livello epatico, che se aspirati potrebbero suggerire la diagnosi di emopoiesi extramidollare¹³.

Un'importante categoria diagnostica è rappresentata dalle *neoplasie*, rilevate dall'istologia in 23 casi su 90 (25,5%). Il sospetto citologico di una neoplasia epatica è dato dal riscontro di cellule estranee che, secondo i criteri classici della citologia, vengono poi giudicate nella loro malignità e valutate per riconoscerne la derivazione epiteliale, mesenchimale o rotondocellulare. Se vengono aspirati noduli voluminosi lo striscio è verosimilmente privo di epatociti, mentre nel caso di noduli più piccoli o di infiltrazione diffusa, nello striscio si rileva la compresenza di

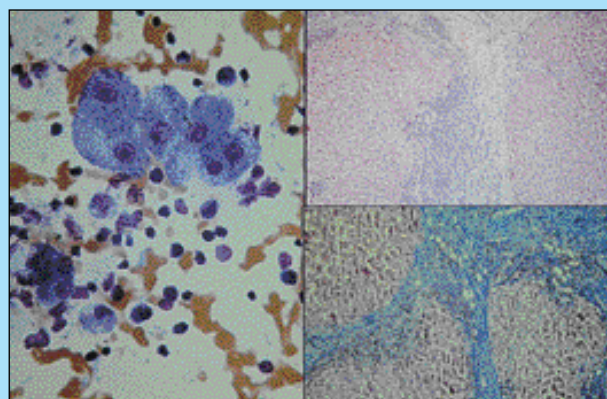


FIGURA 10 - Gatto, fegato. Epatite portale cronica. A sinistra: nell'agoaspirato si rileva la presenza, accanto ad alcuni epatociti con morfologia normale, di alcune cellule infiammatorie, per lo più riferibili a linfociti (x300). May-Grünwald-Giemsa. In alto a sinistra: immagine istologica dello stesso caso, in cui si nota la gravità dell'infiltrazione flogistica e della sclerosi organica, superiore a quanto ipotizzabile sulla base del solo preparato citologico (x25). Ematossilina-eosina. In basso a sinistra: marcata disarchitettura della struttura epatica causata dall'abbondante proliferazione di tessuto connettivo denso in partenza dagli spazi portobiliari (x25). Colorazione tricromica di Masson.

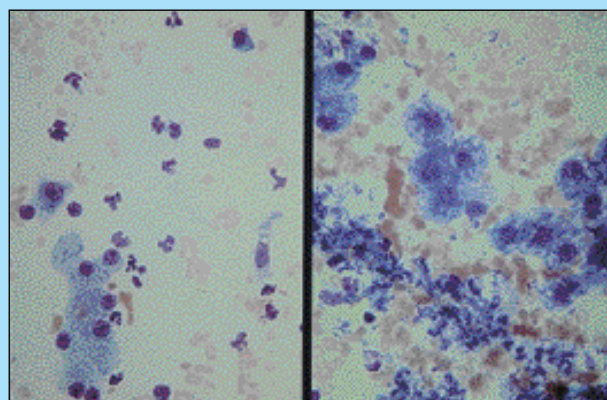


FIGURA 11 - A sinistra: cane, fegato, agoaspirato. Accanto ad alcuni epatociti morfologicamente normali si rileva la presenza di numerosi granulociti neutrofili ben conservati. Epatite acuta (x200). A destra: gatto, fegato, agoaspirato. Si osservano numerosi granulociti in preda a fenomeni autolitici di vario grado. Epatite acuta (diagnosi istologica: colangioepatite purulenta) (x250). May-Grünwald-Giemsa.

elementi neoplastici e di epatociti, che possono mostrare quadri di sofferenza diversi. Nella nostra esperienza gli epatociti aspirati assieme a cellule neoplastiche mostravano spesso quadri di ristagno di pigmenti biliari e di degenerazione vacuolare o steatosica. In generale, la citologia è riuscita a riconoscere adeguatamente la presenza di cellule neoplastiche ($k=0,88$), ed anche a valutare con buona accuratezza la tipologia della neoplasia: neoplasia epiteliale ($k=0,88$), neoplasia mesenchimale ($k=1$), linfoma ($k=0,78$).

Nella nostra casistica non erano comprese neoplasie di derivazione epatocellulare, che peraltro sono piuttosto rare nel cane e nel gatto. In letteratura è ampiamente sottolineata la difficoltà a distinguere fra *iperplasia nodulare*, *adenomi epatocellulari* e *carcinomi epatocellulari* ben differenziati, caratterizzati dalla presenza poco specifica di epatociti binucleati con caratteri di moderata anaplasia^{12,9,13,14}. Nella diagnostica istopatologica, infatti, i criteri cui si fa riferimento nella differenziazione fra le varie forme di proliferazione patologica degli epatociti sono per lo più di ordine strutturale. È solo nei carcinomi epatocellulari più anaplastici, in cui gli aspetti di malignità sono facilmente riconoscibili (pleomorfismo cellulare e nucleare, nucleoli multipli) che i criteri citologici acquisiscono importanza. In citopatologia umana, dove i tumori epatocellulari sono più frequenti, le caratteristiche citologiche che indirizzano la diagnosi verso questo tipo di neoplasia sono rappresentate dalla presenza di epatociti neoplastici con caratteri di malignità poco evidenti, per lo più rappresentati da atipie nucleari e macronucleoli, spesso presenti come nuclei nudi per la loro patologica fragilità, raggruppati in ammassi ovalari o rotondeggianti, oppure a formare trabecole di forma irregolare, spesso frammisti a tralci di cellule endoteliali².

L'unica neoplasia epiteliale primitiva era rappresentata nella nostra casistica da un *colangiocarcinoma*, in cui le cellule neoplastiche aspirate apparivano come elementi cuboidali o colonnari, di piccole dimensioni se poste a confronto con epatociti, disposte in ammassi irregolari e disordinati, con perdita della polarità nucleare e con un assetto spesso simil-tubulare o simil-acinoso. I nuclei delle cellule tumorali apparivano di forma rotonda od ovalare, con nucleoli poco visibili, citoplasma confinato in una piccola area attorno al nucleo e privo di pigmenti (Fig. 12). Quest'ultima caratteristica permette la differenziazione fra carcinomi epatocellulari e colangiocarcinomi⁴, anche se la differenziazione più difficile è quella nei confronti di metastasi epatiche di carcinomi extraepatici. In questi casi i campioni citologici possono essere infatti costituiti da cellule troppo poco differenziate per identificarne la provenienza, e quindi risultare indicativi soltanto di una derivazione epiteliale del processo. Il riscontro di questi reperti indirizza verso una generica diagnosi di carcinoma^{9,25} e lascia ad ulteriori valutazioni anatomico-cliniche la discriminazione fra neoplasia primitiva e secondaria.

Nelle otto *metastasi epatiche di carcinomi* (5 di origine mammaria, due da adenocarcinomi del pancreas ed un caso da un adenocarcinoma della mucosa nasale), il quadro citologico era dominato dalla presenza di cellule tumorali poligonali con evidenti caratteri di malignità, presenti sia come elementi isolati che raggruppate in piccoli ammassi, disposti nelle forme meglio differenziate a formare strutture similghigliandolari (Fig. 13). In alcuni casi la presenza di ampie vacuolizzazioni citoplasmatiche suggeriva inoltre

un'attività secretoria delle cellule tumorali, ma la localizzazione primaria era comunque impossibile da stabilire sulla base del solo esame citologico.

Anche una metastasi epatica di un *chemodectoma* è stata interpretata come una metastasi di carcinoma, anche se, in effetti, il caso si allontanava parzialmente dal tipico quadro delle neoplasie epiteliali. Le caratteristiche comuni alle neoplasie endocrine e neuroendocrine sono rappresentate da un'abbondante popolazione cellulare estranea costituita da cellule di piccole dimensioni e fragili, che sugli strisci appaiono in maggioranza come "nuclei nudi", rotondi, con cromatina compatta e nucleoli poco evidenti. Le cellule intatte si presentano di forma poliedrica, ma più piccole degli epatociti, isolate o in piccoli ammassi, con citoplasma relativamente abbondante debolmente colorato in rosa o in azzurro (Fig. 14). Nelle zone in cui prevalgono i nuclei nudi si trova sul fondo un materiale amorfo con la

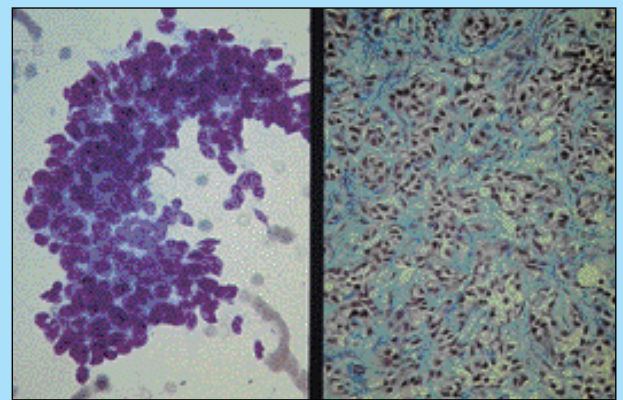


FIGURA 12 - Cane, fegato. Colangiocarcinoma. A sinistra: nel preparato ottenuto per agoaspirazione si osserva un ammasso di cellule epiteliali neoplastiche, di piccole dimensioni e disposte irregolarmente (x250). May-Grünwald-Giemsa. A destra: immagine istologica dello stesso caso. Si noti come la proliferazione carcinomatosa è accompagnata da un'ingente fibroplasia, non evidente nei preparati citologici (x160). Colorazione tricromica di Masson.

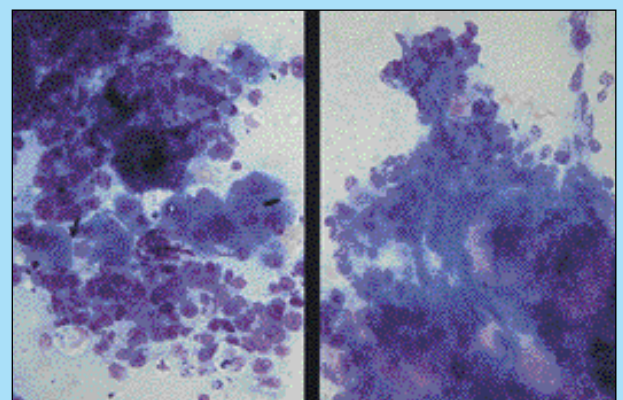


FIGURA 13 - A sinistra: cane, fegato, agoaspirato. La maggior parte del campo è occupata da cellule più piccole degli epatociti, disposte disordinatamente, con elevato rapporto nucleo/citoplasma (x250). Diagnosi citologica: carcinoma. Diagnosi istologica: metastasi di adenocarcinoma del pancreas. A destra: cane, fegato, agoaspirato. Voluminoso ammasso tridimensionale di cellule carcinomatose (x250). Diagnosi citologica: carcinoma. Diagnosi istologica: metastasi di carcinoma della mammella. May-Grünwald-Giemsa.

stessa affinità tintoriale del citoplasma^{13,14}. Nei casi dubbi, la natura delle cellule può essere confermata evidenziando con metodiche istochimiche (colorazione di Grimelius) o immunocitochimiche (cromogranina A) la presenza di granulazioni specifiche.

Le *neoplasie mesenchimali* sono risultate più rare delle neoplasie epiteliali (4 casi). Si trattava anche in questi casi di metastasi di sarcomi, in due casi da fibrosarcomi (cutanei) ed in due casi da emangiosarcomi (intestino, milza), facilmente riconosciuti dalla citologia ($k=1$) dall'aspetto caratteristico delle cellule mesenchimali, allungate e con nucleo ovale, e con evidenti atipie nucleari e nucleolari (Figg. 15, 16, 17). La quantità di cellule tumorali presenti in un agoaspirato da un sarcoma può essere estremamente variabile, in relazione alla densità cellulare del tessuto campionato ed alla quantità di collagene che circonda le cellule. Negli emangiosarcomi le cellule sarcomatose sono frammiste ad abbondanti eritrociti.

Le neoplasie a cellule rotonde erano tutte rappresentate da *linfomi* (9 casi, 4 cani e 5 gatti). Per questo tipo di neoplasia la concordanza è risultata relativamente più bassa ($k=0,78$), a causa dell'errore di interpretazione di tre casi in cui l'interessamento linfomatoso del fegato era limitato, nei preparati istologici, ad una lieve infiltrazione linfoide degli spazi portal. Nei corrispondenti preparati citologici l'esiguità della popolazione linfocitaria ha fatto propendere in due casi per una epatite linfocitaria cronica, mentre in un caso si è addirittura ipotizzato che i linfociti fossero relativi ad un'eccessiva contaminazione del prelievo. Nei casi più conclamati e di più facile interpretazione il quadro è invece caratterizzato dalla presenza, fra gli epatociti, di un'abbondante popolazione rotondocellulare, facilmente identificabile nella sua natura linfoide anche grazie alla presenza sul fondo dei caratteristici lymphoglandular bodies, contraddistinta da notevole monomorfismo (Fig. 18).

CONCLUSIONI

In generale citologia ed istologia hanno manifestato una buona corrispondenza delle lesioni "elementari" (85,3%), e soddisfacente, anche se inferiore, per le epatopatie (74,6%). Questa differenza è facilmente interpretabile se si considera che la citologia è in grado di riconoscere con buona accuratezza la maggior parte delle lesioni "elementari" e che il preparato citologico mostra, variamente associate, tutte le componenti cellulari presenti nel corrispondente preparato istologico. La citologia ha però il limite di osservare le lesioni elementari separatamente, private di quei rapporti strutturali che, per molte patologie (ad esempio le epatiti croniche o la cirrosi), sono fondamentali per formulare una diagnosi corretta. Per alcune patologie la precisione diagnostica è sicuramente migliorabile con il ricorso a colorazioni "speciali" analoghe a quelle utilizzate dall'istopatologia, di facile applicazione anche ai preparati citologici. A tale scopo può essere consigliabile allestire sempre uno o due strisci da conservare non colorati.

Le incongruenze fra diagnosi citologica ed istologica sono derivate, infatti, nella maggioranza dei casi dal fatto che la lesione non è stata osservata all'esame citologico, oppure se vista non è stata adeguatamente considerata, mentre i veri e propri errori di interpretazione sono stati rari. Erro-

ri di questo tipo hanno generato dei falsi negativi che, come sopra discusso, hanno riguardato le epatiti croniche, le sclerosi e le cirrosi epatiche che la citologia può risolvere con difficoltà. Un altro tipo di incongruenza è derivato

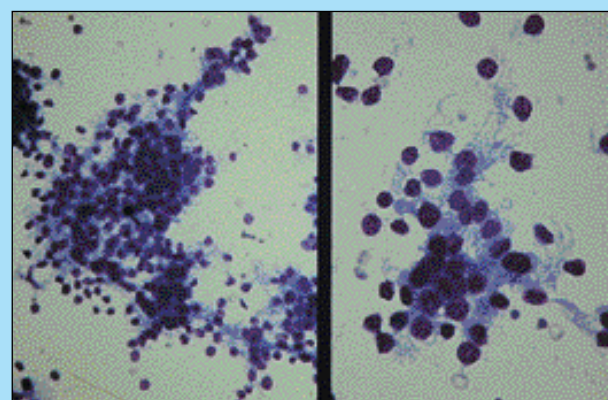


FIGURA 14 - Cane, fegato, agoaspirato. Metastasi epatica di chemodectoma. A sinistra: ammasso di cellule tumorali di aspetto epiteliale, presenti come elementi singoli e raggruppate in ammassi di forma irregolare (x200). A destra: le cellule sono caratterizzate da nucleo piccolo ed ipercromatico privo di dettagli e da citoplasma molto chiaro, finemente vacuolizzato e con margini poco definiti (x300). May-Grünwald-Giemsa.

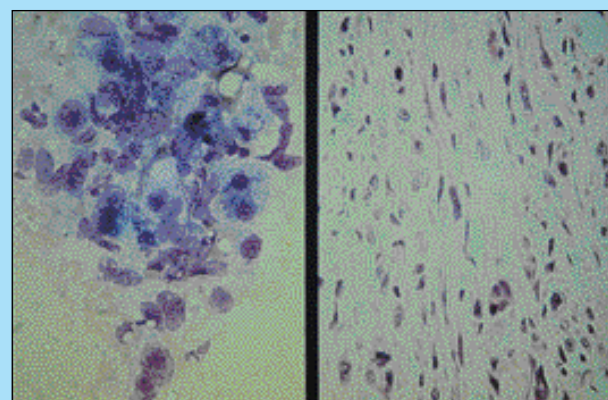


FIGURA 15 - Cane, fegato, agoaspirato. Metastasi epatica di fibrosarcoma. A sinistra: presenza di cellule mesenchimali neoplastiche con marcate anomalie nucleari (x250). May-Grünwald-Giemsa. A destra: aspetto istologico dello stesso caso (x250). Ematossilina-eosina.

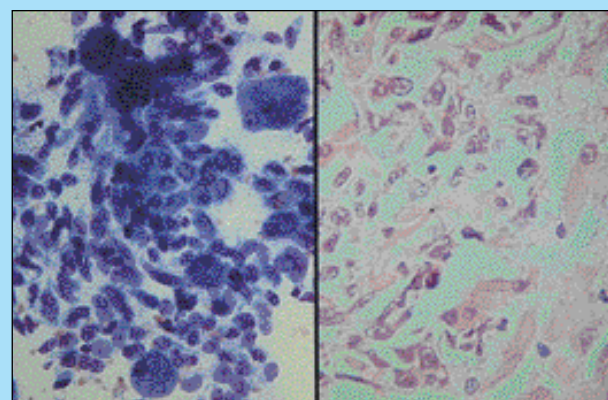


FIGURA 16 - Gatto, fegato, agoaspirato. Metastasi epatica di fibrosarcoma. A sinistra: presenza di numerose cellule sarcomatose (x250). May-Grünwald-Giemsa. A destra: aspetto istologico dello stesso caso (x400). Ematossilina-eosina.

dall'osservazione, nei preparati citologici, di "lesioni" che non hanno trovato nessun riscontro nell'esame istologico. Si trattava in questo caso di falsi positivi, che derivavano quasi integralmente dalla già commentata difficoltà a discriminare fra leucociti di provenienza ematica e leucociti associati ad un lieve processo infiammatorio.

L'esame citologico del fegato sembra comunque poter rivestire un ruolo di un certo interesse nell'ambito della diagnostica clinica, anche se la precisione della definizione nosologica appare inferiore rispetto a quanto raggiungibile con l'esame istologico di biopsie dal fegato. Anche se poco adatto alla diagnosi e alla stadiazione delle epatopatie croniche, infiammatorie e non, il metodo è in grado di riconoscere bene le epatiti acute ed i vari processi degenerativi che frequentemente colpiscono il fegato, di giudicare con precisione le condizioni di normalità del fegato e di riconoscere con buona accuratezza le patologie neoplastiche. Per questi motivi, e per la relativa semplicità, velocità ed economicità della metodica, la biopsia agoaspirativa potrebbe a ragione rappresentare un primo "step" diagnostico nell'indagine delle sofferenze epatiche, dal quale ricavare informazioni comunque utili che, secondo i casi, potranno contribuire alla formulazione di una diagnosi corretta oppure indirizzare verso ulteriori indagini di altro tipo.

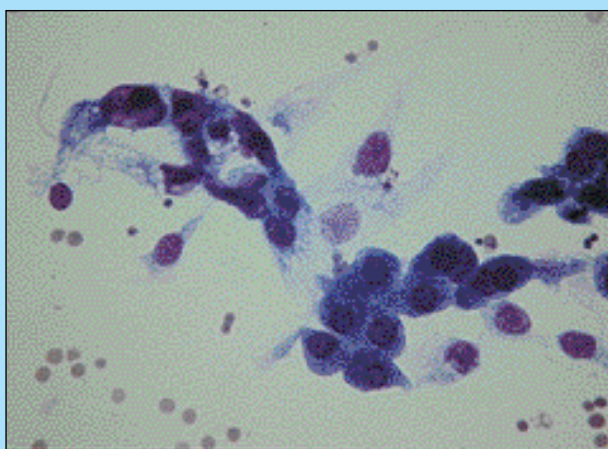


FIGURA 17 - Cane, fegato, agoaspirato. Metastasi epatica di emangiosarcoma (x400). May-Grünwald-Giemsa.

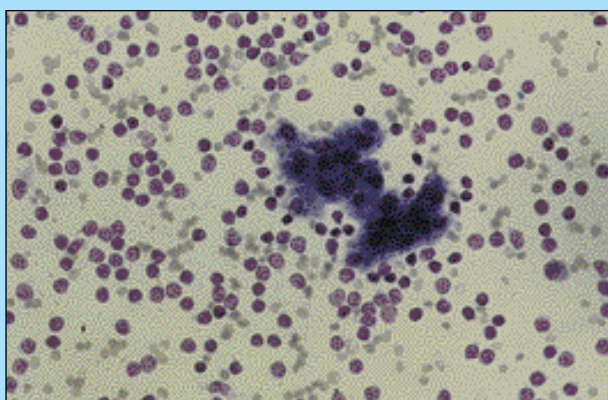


FIGURA 18 - Gatto, fegato, agoaspirato. Presenza nello striscio di numerose cellule rotonde monomorfe, riferibili a linfociti ben differenziati (x250). Linfoma. May-Grünwald-Giemsa.

Parole chiave

Fegato, citologia, cane, gatto, epatite, epatopatia steroidea, lipidosi, steatosi, amiloidosi, neoplasie.

Key words

Liver, cytology, dog, cat, hepatitis, glucocorticoid hepatopathy, lipidosis, steatosis, amyloidosis, tumours.

Bibliografia

1. Perry MD, Johnston WW: Needle biopsy of the liver for the diagnosis of nonneoplastic liver diseases. *Acta Cytol* 29: 385-390, 1985.
2. Koss LG, Zajicek J: Aspiration Biopsy. In: *Diagnostic Cytology and its Histopathologic Bases*. Ed by LG Koss. Vol II. Philadelphia, JB Lippincott Co, 1992, pp 1234-1402.
3. De May RM: Liver. In: *The Art & Science of Cytopathology*. Ed by RM De May. Vol II. Chicago, ASCP Press, 1996, pp 1017-1052.
4. McKee GT: *Cytopathology*. London, Mosby-Wolfe, 1997.
5. Burkhard MJ, Meyer DJ: Invasive Cytology of Internal Organs. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 26 (5): 1203-1222, 1996.
6. Caniatti M: Guided transcutaneous fine needle biopsy (FNB) in abdominal and pelvic disorders. *Proc. 4th European FECAVA SCIVAC Congress*, Bologna, 1998, pp 451-452.
7. Meyer DJ: Hepatic Pathology. In: *Strombek's Small Animal Gastroenterology*. Ed by WG Guilford, SA Center, DR Strombek, et al. Philadelphia, WB Saunders Co, 1996, pp 633-653.
8. Kristensen AT, Weiss DJ, Klausner JS, Hardy RM: Liver Cytology in Cases of Canine and Feline Hepatic Disease. *Compend Contin Educ Pract Vet* 12 (6): 797-808, 1990.
9. Stockhaus C, Teske E: Klinische Anwendbarkeit der Leberzytologie bei Hund und Katze. *Kleintierpraxis* 42 (9): 687-700, 1997.
10. Leveillé R, Paugh Partington B, Biller DS, Miyabayashi T: Complications after ultrasound-guided biopsy of abdominal structures in dogs and cats: 246 cases (1984-1991). *JAVMA* 203 (3): 413-414, 1993.
11. Menard M, Papageorges M: Ultrasound-guided liver fine needle biopsies: results of 1408 cases. *Proc. 16th ACVIM Forum*, San Diego, 1998, p 598.
12. Meyer DJ, French TW: The Liver. In: *Diagnostic Cytology of the Dog and Cat*. Ed by RL Cowell, RD Tyler. Goleta, American Veterinary Publications, 1993, pp 189-197.
13. Blue JT, French TW, Mayer DJ: The Liver. In: *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. Ed by RL Cowell, RD Tyler, JD Meinkoth. St. Louis, Mosby, 1999, pp 183-194.
14. Baker R, Lumdsen JH: The Gastrointestinal Tract. In: *Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat*. Ed by R Baker, JH Lumdsen. St. Louis, Mosby, 2000, pp 179-181.
15. Teske E, Brinkhuis BGAM, Bode P, et al: Cytological detection of copper for the diagnosis of inherited copper toxicosis in Bedlington terriers. *Vet Rec* 131: 30-32, 1992.
16. Roccabianca P: Citologia epatica. In: *Lezioni di Citologia Diagnostica Veterinaria*. Fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, Brescia, 1998, pp 131-141.
17. Willard MD, Weeks BR, Johnson M: Fine-needle aspirate cytology suggesting hepatic lipidosis in four cats with infiltrative hepatic disease. *J Feline Med Surg* 1: 215-220, 1999.
18. Byrt T, Bishop J, Carlin JB: Bias, prevalence and kappa. *J Clin Epidemiol* 46 (5): 423-429, 1993.
19. Cohen J: A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 20: 37-46.
20. Landis JR, Koch GG: The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33: 159-174.
21. Kelly WR: The Liver and Biliary System. In: *Pathology of Domestic Animals*. Ed by KVF Jubb, PC Kennedy, N Palmer. Vol II. San Diego, Academic Press, 1993, pp 319-406.
22. Center SA: Hepatic Lipidosis, Glucocorticoid Hepatopathy, Vacuolar Hepatopathy, Storage Disorders, Amyloidosis, and Iron Toxicity. In: *Strombek's Small Animal Gastroenterology*. Ed by WG Guilford, SA Center, DR Strombek et al. Philadelphia, WB Saunders Co, 1996, pp 766-801.
23. Van der Linde-Sipman JS, Niewold TA, Tooten PC, et al: Generalized AA-amyloidosis in Siamese and Oriental cats. *Vet Immunol Immunopathol* 56: 1-10, 1997.
24. Center SA: The feline cholangitis/cholangiohepatitis syndrome. *Proc. 15th ACVIM forum*, Lake Buena Vista, 1997, pp 409-412.
25. Alleman AR: Cytologic evaluation of the liver. *Proc. 15th ACVIM Forum*, Lake Buena Vista, 1997, pp 4-6.