

# Nodulo fibroistiocitario splenico in un cane in età geriatrica presentato con diagnosi iniziale di linfoma

## RIASSUNTO

Viene descritto il caso controverso di un cane con neoplasia nodulare splenica inizialmente considerata come linfoma T e successivamente diagnosticata come nodulo fibroistiocitario. Le condizioni generali post-splenectomia del cane si mantenevano buone e non veniva effettuato alcun protocollo chemioterapico. Veniva inoltre richiesta la revisione del caso. Alla rivalutazione dei preparati istologici la neoplasia risultava costituita da una popolazione cellulare comprensiva di cellule istiocitarie, fibroblasti e linfociti. I risultati della immunofenotipizzazione dimostravano una positività variabile per vimentina, desmina ed actina. L'indagine con i marker linfocitari rivelava la presenza di linfociti B, CD79 positivi organizzati in aggregati follicolari, e linfociti T, CD3 positivi infiltranti diffusamente la neoplasia. La ipotesi iniziale di linfoma splenico a cellule T veniva esclusa e la diagnosi conclusiva era di nodulo fibroistiocitario splenico. Il tempo di sopravvivenza del cane è stato di 12 mesi post-splenectomia.

## INTRODUZIONE

I noduli fibroistiocitari costituiscono un gruppo pleomorfo di neoplasie di derivazione istogenetica combinata fibroblastica ed istiocitaria, che possono insorgere in localizzazioni anatomiche differenti. In particolare la localizzazione splenica è stata descritta in varie specie animali<sup>1,2,3,4</sup> e nell'uomo<sup>5</sup>. Microscopicamente sono caratterizzati da una composizione cellulare variabile che è la risultante della proliferazione localizzata (nodulare) di fibroblasti e cellule istiocitarie in associazione a linfociti e plasmacellule<sup>5</sup>. I noduli splenici fibroistiocitici formano un continuum tra iperplasia linfoide nodulare (>70% linfociti inframezzati a cellule fibroistiocitiche-grado 1) e neoplasie stromali maligne (sarcoma istiocitico), queste ultime costituite primariamente da cellule fibroistiocitiche con <40% linfociti (grado 3). Le caratteristiche morfologiche, messe in relazione al tempo medio di sopravvivenza post-splenectomia, sembrano correlare con il comportamento biologico<sup>6</sup>. I noduli fibroistiocitari caratterizzati da un'alta proporzione di linfociti reattivi ed una bassa attività mitotica (grado 1 e 2) sono associati ad una alta % di sopravvivenza pari a 12 mesi post splenectomia, mentre nel caso dei sarcomi pleomorfi (grado 3) la % di sopravvivenza a 12 mesi è notevolmente inferiore (<40%)<sup>6</sup>. L'importanza del corretto inquadramento diagnostico si basa sulla correlazione tra istotipo e comportamento biologico, che è suscettibile di cambiamento in funzione di un trattamento appropriato, chirurgico (splenectomia) e farmacologico (agenti chemioterapici).

Questo lavoro segnala il caso controverso di un cane con neoplasia nodulare splenica inizialmente presentata come linfoma a cellule T, e successivamente diagnosticata come nodulo fibroistiocitario splenico sulla base della revisione istopatologica e citologica del caso supportata dall'ausilio della immunoistochimica.

## CASO CLINICO

Il caso riguarda un cane meticcio femmina di 12 anni la cui anamnesi riferiva una vaga sintomatologia di astenia, disoressia e dimagrimento. Al fine di un inquadramento diagnostico l'animale veniva sottoposto ad esame obiettivo generale e ad una serie di esami collaterali tra cui prelievi ematici per la valutazione del profilo ematologico e biochimico, indagine sierologica per la determinazione di anticorpi specifici nei confronti di *Leishmania sp* e *Rickettsia sp*, e valutazione ecografica dell'addome.

L'esame obiettivo generale era suggestivo di marcata splenomegalia. Le analisi ematologico-biochimiche evidenziavano una moderata leu-

**M. Gregori**

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Profilassi degli Alimenti, Università di Pisa

**A. Ognibene**

Veterinario libero professionista, Modena

**D. Bernabei, I. Caspelli**

Centro Oncologico Modenese: Emolinfopatologia, Modena

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 06/11/2008 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 04/06/2009".

cocitosi con neutrofilia, iperpiastrinemia ed aumento della fosfatasi alcalina (Tabella 1). La valutazione sierologica per *Leishmania* e *Rickettsia* dava esito negativo. L'ecografia addominale evidenziava una marcata splenomegalia con disomogeneità parenchimali. Veniva quindi effettuata una laparotomia esplorativa con splenectomia. All'esame anatomico-patologico della milza si rilevava una neoformazione nodulare deformante il

profilo d'organo che, sulla superficie di taglio, risultava costituita dalla confluenza di noduli multipli con focolai necrotico-emorragici. Un campione di tessuto veniva fissato in formalina tamponata al 10% e processato per l'istologia. Venivano inoltre allestiti dei preparati citologici effettuati per impronta dalla superficie d'organo colorati con May Grunwald Giemsa (MGG).

Citologicamente si osservava una popolazione cellulare costituita in prevalenza da cellule della linea linfoide, riferibili a centroblasti, immunoblasti e plasmacellule. Istologicamente si rilevava perdita della normale architettura del parenchima splenico con proliferazione diffusa di una popolazione di blasti della serie linfoide di dimensioni medie con nuclei rotondi, indentati positivi alla immunofenotipizzazione con CD3 (marker dei linfociti T). Sulla base dei quadri osservati la diagnosi iniziale era di linfoma T. Il cane si presentava al primo follow up post-splenectomia in condizioni generali buone e senza evidenza di linfadenopatia né di interessamento degli organi interni, fegato in particolare. Veniva richiesta la revisione del caso da parte di un secondo patologo prima di sottoporre il cane ad un protocollo chemioterapico per linfoma splenico.

Alla rivalutazione istopatologica del caso veniva descritta una neoplasia caratterizzata da composizione cellulare pleomorfa e organizzata in un mosaico di pattern istologici. Il primo pattern cito-architetturale osservato era costituito da proliferazione di cellule mesenchimali fusate organizzate in fasci in assetto storiforme (Figura 1a, 1b). Il secondo pattern era dominato dalla presenza di cellule poligonali istiocitarie con citoplasma vacuolizzato organizzate in un tappeto cellulare lasso con occasionali cellule multinucleate (Figura 2a, 2b). Il terzo pattern era caratterizzato da un denso tappeto di linfociti (Figura 3a, 3b). La eterogeneità cellulare osservata nei preparati citologici correlava con i pattern cito-architetturali.

TABELLA 1 Emogramma, leucogramma e profilo biochimico del cane durante la visita clinica iniziale		
Parametro	Valore medio	Intervallo di riferimento
RBC ( $10^6/\mu\text{L}$ )	4.45*	5.70-8.80
MCV	65	60-76
MHC	19	20-25
MHCH	33	32-39
Leucociti ( $10^3/\mu\text{L}$ )	22.9*	5.2-13.9
Neutrofili ( $10^3/\mu\text{L}$ )	20.2*	3.8-8.8
Linfociti ( $10^3/\mu\text{L}$ )	1.8	1.3-4.1
Monociti ( $10^3/\mu\text{L}$ )	0.9	0.2-1.1
Piastrine ( $10^3/\mu\text{L}$ )	692*	143-440
Emoglobina (g/dL)	9.8*	12.9-18.4
Ematocrito (%)	28.7*	38.6-54.5
Volume corpuscolare medio (fL)	65.0	59-71
ALP (IU/L)	311*	20-150
ALT (IU/L)	35	10-118
Bil tot (IU/L)	0.5	0.1-0.6
Proteine totali plasmatiche (mg/dl)	8.2	5.4-8.2
albumina plasmatica (g/dl)	2.8	2.5-4.4
globuline plasmatiche (g/dl)	5.4*	2.3-5.2
urea (mg/dl)	12	7-25
creatinina (mg/dl)	1.0	0.3-1.4

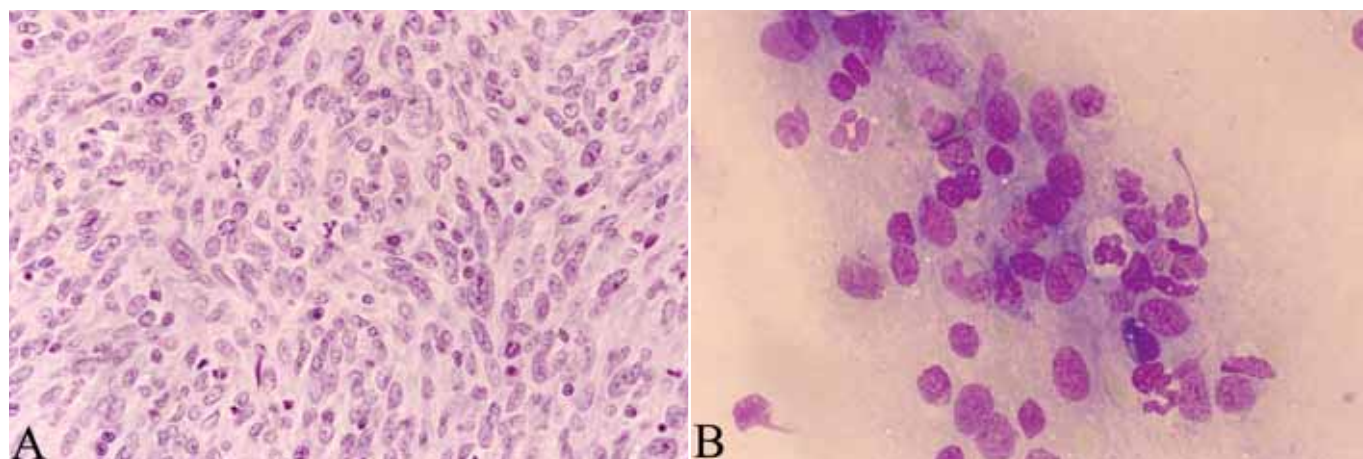


FIGURA 1 - Milza, nodulo fibroistocitario. **A)** Istotipo. Proliferazione di cellule fusiformi di natura fibrocitica/fibroblastica organizzate in pattern storiforme (H&E, ingrandimento 40x). **B)** Citotipo correlato: cellule allungate fusate con margini citoplasmatici indistinti e nuclei ovali allungati (MGG, ingrandimento 60x).



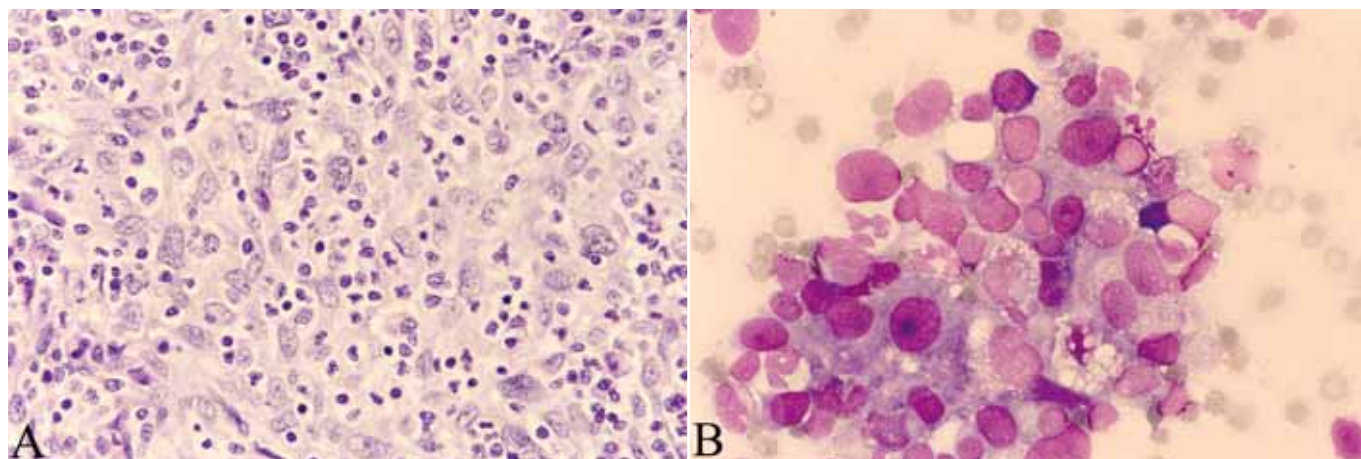


FIGURA 2 - Milza, nodulo fibroistocitario **A**) Istotipo. Proliferazione di cellule di aspetto "istiocitoide" organizzate in aggregati lassi con interposizione di neutrofili e piccoli linfociti (H&E, ingrandimento 40x). **B**) Citotipo correlato: cellule poligonali di dimensioni medio-grandi con citoplasma abbondante e vacuolizzato, nuclei rotondi con nucleoli ipercromatici prominenti. Contestualmente sono presenti piccoli linfociti. (MGG, 60X).

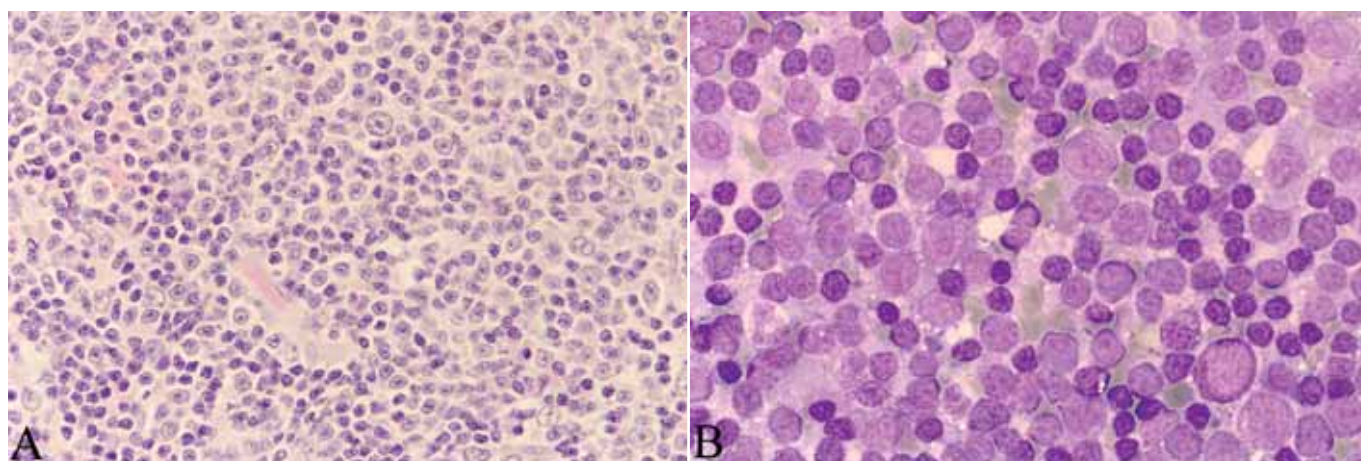


FIGURA 3 - Milza, nodulo fibroistocitario. **A**) Istotipo. Proliferazione di una popolazione linfoide eterogenea comprensiva di occasionali cellule macronucleolate sparse (H&E, 40x) **B**) Citotipo correlato: blasti della serie linfoide di dimensioni medio grandi riferibili a centroblasti-immunoblasti. Contestualmente sono presenti piccoli linfociti e grandi cellule linfoidi macronucleate (MGG, ingrandimento 60X).

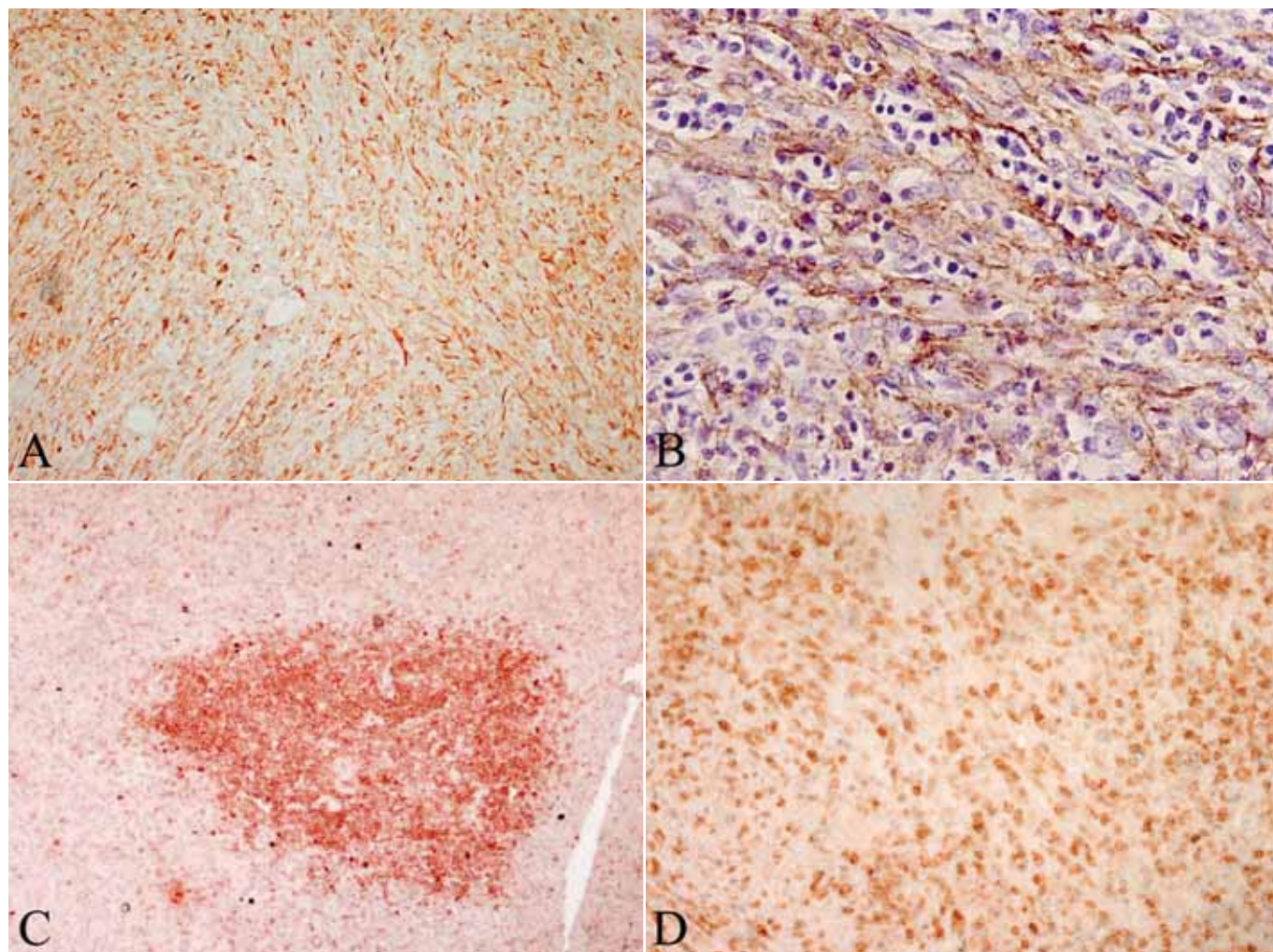
li descritti istologicamente. La diagnosi iniziale di linfoma splenico è stata confutata a favore della più plausibile ipotesi di una neoplasia di origine fibroistocitaria. L'indagine immunoistochimica permetteva di tipizzare le diverse popolazioni cellulari coinvolte. Il pannello di anticorpi utilizzato era comprensivo di: vimentina (1:200, mouse anti-bovine monoclonal, DAKO), desmina (1:50, mouse anti-porcine monoclonal, DAKO), actina muscolare liscia (1:8000, mouse anti-human monoclonal, Sigma), CD3 (1:100, mouse monoclonal, Serotek), CD79 (1:200, mouse monoclonal, Serotek), Mac 387 (1:100 mouse, anti-human monoclonal, DAKO), Ki67 (1:200, rabbit polyclonal, DAKO).

La maggior parte delle cellule fusiformi, organizzate prevalentemente in assetto storiforme, presentava una positività diffusa alla vimentina (Figura 4a) mentre una minore percentuale di cellule risultava positiva alla desmina. Si rilevava inoltre una positività diffusa per l'actina muscolare liscia nelle

cellule costitutive il network pre-esistente vascolare della polpa rossa (Figura 4b). I risultati della immunofenotipizzazione con i marker linfocitari CD3 e CD79 evidenziavano positività per il CD79 in una bassa percentuale di linfociti organizzati in aggregati follicolari (Figura 4c). Le cellule positive CD3, linfociti T reattivi, erano largamente rappresentate ed infiltravano diffusamente la neoplasia (Figura 4d). Positività al Mac 387 era rilevabile in cellule macrofagiche sparse. In alcune aree della neoplasia, si rilevavano inoltre foci di cellule che presentavano positività nucleare per Ki67 (indice di proliferazione).

Sulla base dei rilievi anatomo-istopatologici e citologici descritti la diagnosi finale era di nodulo fibroistocitario splenico grado 2 costituito da proliferazione di cellule fibroistocitiche con una relativamente alta percentuale (50-60%) di linfociti reattivi. Non è stato effettuato alcun protocollo chemioterapico. Durante il periodo di follow up le condizioni del cane si mantenevano generalmente





**FIGURA 4** - Immunoistochimica (metodo streptavidina biotina perossidasi). **A)** Positività diffusa per vimentina nel citoplasma delle cellule mesenchimali neoplastiche; **B)** Le cellule costitutive il network pre-esistente sinusoidale del parenchima splenico sono positive per l'actina muscolare liscia; (controcolorazione con Ematossilina, 40x). **C)** Linfociti B CD79 immunoreattivi (positività di membrana) organizzati in aggregati follicolari; **D)** Linfociti T CD3 positivi infiltranti diffusamente la neoplasia; (sezione non controcolorata con Ematossilina, 100x).

buone per i 10 mesi successivi all'intervento di splenectomia. In seguito si verificava un rapido deterioramento del quadro clinico. Le analisi ematologiche e biochimiche erano indicative di colestasi e di un generico stato infiammatorio (iperprotidemia, leucocitosi con neutrofilia) (Tabella 2). Il cane moriva 2 mesi dopo per collasso cardiocircolatorio, contestualmente non veniva effettuato un esame necroscopico.

## DISCUSSIONE

I noduli fibroistiocitari splenici sono caratterizzati da una composizione cellulare polimorfa e da un mosaico di pattern istologici<sup>6</sup>. Questa eterogenicità può rendere ragione delle difficoltà nella interpretazione e caratterizzazione della natura della neoplasia. L'esame citologico effettuato per impronta sulla superficie di taglio può risultare di ausilio per identificare il citotipo relativo alle diverse popolazioni cellulari coinvolte. La citologia da sola

può tuttavia risultare causa di un errore diagnostico nei confronti di un linfoma splenico primario se si ipotizza che i noduli fibroistiocitici rilascino in maggioranza cellule linfoidi piuttosto che cellule fusate. L'istologia serve a valutare distribuzione ed architettura della lesione. Indagini immunoistochimiche sono inoltre un supporto valido per caratterizzare la natura della lesione.

Nel presente caso la diagnosi iniziale di linfoma splenico a cellule T veniva successivamente confutata e definitivamente scartata, sulla base dei risultati emersi da una rivalutazione del caso. I principali punti di disaccordo con la prima interpretazione erano i seguenti: le cellule linfoidi non mostravano caratteri citologici di atipia; si evidenziava una marcata eterogenicità della composizione cellulare comprensiva di istiociti, fibroblasti e linfociti organizzati in pattern cito-architeturali distinti. Infine, i risultati della immunofenotipizzazione con marker linfocitari CD3 e CD79 mostravano una positività variabile nell'ambito della popolazione linfoide. La proliferazione di

una popolazione polimorfa di linfociti B e T veniva interpretata come una risposta reattiva cellulo-mediata. La immunofenotipizzazione con marker linfocitari è risultata importante per escludere un tumore a cellule rotonde, linfoma T in particolare<sup>7</sup>. Nel caso descritto dunque la diagnosi differenziale con un linfoma T risultava importante sia a fini prognostici sia al fine di indirizzare la scelta terapeutica.

La desmina è un marker utilizzato per tipizzare neoplasie di origine muscolare nel cane quali il rabdomiosarcoma ed il leiomiomasarcoma, mentre la actina viene utilizzata per la caratterizzazione dei leiomiomasarcomi<sup>8</sup>. La presenza di focolai a differenziazione mioide -positivi alla desmina, nel contesto della neoplasia sollevava problemi nella interpretazione della natura della lesione: neoplasia mesenchimale con aree di differenziazione miofibroblastica vs sarcoma miofibroblastico<sup>9</sup>. Il grado di differenziazione mioide richiesto per tipizzare come sarcoma miofibroblastico una neoplasia sarcomatosa splenica non è stata ancora definita quantitativamente in medicina umana<sup>9</sup>. Sulla base della conoscenza degli autori, in letteratura non sono stati descritti negli animali domestici casi di sarcoma miofibroblastico ad insorgenza primitiva nella milza, anche se è comune il rilievo di sarcomi splenici con aree di differenziazione mioide<sup>10</sup>.

Dal punto di vista diagnostico un ulteriore problema per il patologo e di conseguenza per il clinico riguardava la differenziazione tra forma reattiva o neoplastica. Sulla base degli aspetti istologici osservati, caratterizzati da mancanza di monomorfismo e presenza di infiltrato infiammatorio diffuso linfocitario, occorreva prendere in considerazione l'ipotesi diagnostica di una lesione non neoplastica. In umana è stata descritta una lesione simil-sarcomatosa splenica, definita "pseudo tumore infiammatorio" (Inflammatory Pseudo Tumor, IPT)<sup>11</sup>. IPT è una entità patologica complessa caratterizzata dalla proliferazione di cellule mesenchimali istiocitoidi con una marcata componente infiammatoria reattiva, la cui natura neoplastica o non neoplastica non è ancora stata definita con certezza<sup>12,13</sup>. Recentemente il caso di un IPT è stato descritto in un cane<sup>13</sup> presentato con rilievi clinicomorfologici simili a quelli descritti nel presente caso. IPT e noduli benigni fibroistocitari possono essere considerati differenti espressioni dello stesso processo patologico e risultano caratterizzati da un simile comportamento biologico.

Nel caso descritto la complessa interpretazione dei rilievi istopatologici, citologici e immunoistochimici ha portato alla diagnosi finale di nodulo fibroistocitario splenico classificato come grado 2. I risultati del follow up, concordano con i tempi medi di sopravvivenza riportati in letteratura<sup>6</sup>. Le più recenti linee guida di trattamento per le neoplasie istiocitarie suggeriscono indicazione per la chemioterapia<sup>14</sup>.

l'otologico  
di  
**prima scelta**

202/MC08

MARCHIO REGISTRATO

- **Antibatterico, su gram + e gram -**
- **Antimicotico, sia lieviti che funghi**
- **Sinergismo dimostrato tra Miconazolo e Polimixina B**
- **Antinfiammatorio**
- **Basso rischio resistenze**
- **Non ototossico**
- **Azione rapida**
- **Facilità d'applicazione**
- **Attività acaricida**



www.janssenanimalhealth.com

**Milano**

Via Michelangelo Buonarroti, 23  
20093 • Cologno Monzese  
Tel. 0225101 • Fax 022510500



## Parole chiave

Nodulo fibroistiocitario, milza, cane, linfoma a cellule T, immunoistochimica.

**TABELLA 2**  
Emogramma, leucogramma e profilo biochimico del cane  
10 mesi post-splenectomia

Parametro	Valore medio	Intervallo di riferimento
RBC (10 <sup>6</sup> /μL)	3.73*	5.90-8.10
MCV	66	60-76
MHC	23	20-25
MHCH	34	32-39
Leucociti (10 <sup>3</sup> /μL)	21.4*	6.2-14.0
Neutrofili (10 <sup>3</sup> /μL)	18.8*	3.8-8.8
Linfociti (10 <sup>3</sup> /μL)	1.7	1.3-4.1
Monociti (10 <sup>3</sup> /μL)	0.8	0.2-1.1
Piastri (10 <sup>3</sup> /μL)	887*	160-440
Emoglobina (g/dl)	9.1	14-19.5
Ematocrito (%)	27.8*	38.6-54.5
Volume corpuscolare medio (fL)	74.7*	61-72
CPK (IU/L)	205*	40-150
AST (IU/L)	34	15-40
ALT (IU/L)	81*	15-65
ALP (IU/L)	651*	20-120
GGT (IU/L)	12.9*	2.0-8.0
Bil tot (IU/L)	0.25	0.15-0.28
Proteine totali plasmatiche (mg/dl)	8.0	5.7-7.4
albumina plasmatica (g/dl)	2.5	2.6-3.8
globuline plasmatiche (g/dl)	5.5	2.6-4.0
A/G (albumina/globuline)	0.45	0.7-1.2
urea (mg/dl)	33	18-43
creatinina (mg/dl)	0.73	0.70-1.30

Il lavoro è stato presentato come comunicazione orale al seguente convegno: *Nodulo fibroistiocitario splenico in un cane diagnosticato inizialmente come linfoma* Gregori Michela, Pagani R., Bernabei Daniela, Caspelli Ilaria. Associazione Italiana di Patologia Veterinaria, ATTI IV Congresso Nazionale, Alberese 24-25 Maggio 2007.

## Fibrohistiocytic nodule of the spleen in a geriatric dog resembling lymphoma

### Summary

A case of splenic fibrohistiocytic nodule in a geriatric dog, initially diagnosed as T cell lymphoma is described. Despite the poor prognosis characterizing T-cell lymphoma, the dog quickly ameliorated after splenectomy, thereby questioning the correctness of the initial diagnosis and prompting a second histopathological opinion. Cytological and histological review highlighted a pleomorphic cell population consisting of histiocytes, spindle cells, lymphocytes and macrophages. Immunohistochemistry showed variable staining patterns of desmin and smooth-muscle actin. Widely scattered lymphocytes were positive for CD3 while those arranged in follicular aggregates were positive for CD79, thereby excluding lymphoma. The conclusive diagnosis was splenic fibrohistiocytic nodule, requiring no adjuvant therapy. The dog died 12 months following surgery.

### Key words

Fibrohistiocytic nodule, spleen, geriatric dog, T-cell lymphoma, immunohistochemistry.

## BIBLIOGRAFIA

1. Tanimoto T, Ohtsuki Y, Sonobe R, Takahashi R, et al: Malignant Fibrous Histiocytoma in the spleen of a pig. *Vet Pathol* 25: 330-332, 1988.
2. Gleiser CA, Raulston GL, Jardine JH, Gray KN: Malignant fibrous histiocytoma in dogs and cats. *Vet Pathol* 16: 199-208, 1979.
3. Hendrick MJ, Brooks JJ, Bruce EH: Six cases of malignant fibrous histiocytoma of the canine spleen. *Vet Pathol* 29: 351-354, 1992.
4. Spangler WL, Culbertson MR, Kass PH: Primary mesenchymal (non-angiomatous/nonlymphomatous) neoplasm occurring in the canine spleen: anatomic classification, immunohistochemistry, and mitotic activity correlated with patient survival. *Vet Pathol* 31: 37-47, 1994.
5. Wick MR, Smith SL, Scheithauer BW, Beart RV: Primary nonlymphoreticular malignant neoplasm of the spleen. *Am J Surg Pathol* 6: 229-242, 1982.
6. Spangler WL, Kass PH: Pathologic and prognostic characteristic of splenomegaly in dogs due to fibrohistiocytic nodules: 98 cases. *Vet Pathol* 35: 488-498, 1998.
7. Cienava EA, Barnhart KF, Brown R, et al: Morphologic, immunohistochemical, and molecular characterization of hepatosplenic T-cell lymphoma in a dog. *Vet Clin Pathol* 33: 105-110, 2004.
8. Morris JS, McInnes EF, Bostock DE, Hoather TM, et al: Immunohistochemical and histopathologic features of 14 malignant fibrous histiocytomas from Flat-Coated Retrievers. *Vet Pathol* 39: 473-479, 2002.
9. Taccagni G, Rovere E, Masullo M, Christensen L, et al: Myofibrosarcoma of the breast. Review of the literature on myofibroblastic tumours and criteria for defining myofibroblastic differentiation. *Am J Surg Pathol* 21: 489-496, 1997.
10. Spangler WL, Kass PH: Pathologic factors affecting patient survival following canine splenectomy. *J Vet Intern Med* 11: 166-171, 1997.
11. Coffin CM, Watterson J, Priest JR, Dehner LP: Extrapulmonary inflammatory myofibroblastic tumour (inflammatory pseudotumour). A clinicopathologic and immunohistochemical study of 84 cases. *Am J Surg Pathol* 19: 859-872, 1995.
12. Kutok JL, Pinkus GS, Dorfman DM, Fletcher CD: Inflammatory pseudotumor of lymph node and spleen as entity biologically distinct from inflammatory myofibroblastic tumour. *Hum Pathol* 32: 1382-1387, 2001.
13. Gartner F, Santos M, Gillette D, Schmitt F: Inflammatory pseudotumour of the spleen in a dog. *Vet Rec* 150: 697-698, 2002.
14. Skorupski KA, Clifford CA, Paoloni MC, Lara-Garcia A, Barber L, Kent MS, LeBlanc AK, Sabhlok A, Mauldin EA, Shofer FS, Couto G, Sørensen KU: CCNU for the treatment of dogs with histiocytic sarcoma. *J Vet Intern Med* 21 (1): 121-126, 2007.