

CARATTERISTICHE CITOLOGICHE DELLA FIBROSI EPATICA NEL CANE: DESCRIZIONE DI 11 CASI

CYTOLOGIC FEATURES OF HEPATIC FIBROSIS IN DOG: DESCRIPTION OF 11 CASES

CARLO MASSERDOTTI

DVM, Dipl ECVCP, Laboratorio di Analisi Veterinarie S. Marco, Padova

WALTER BERTAZZOLO

DVM, Dipl ECVCP, Pronto Soccorso Veterinario, Lodi

Riassunto

Introduzione e scopo del lavoro - L'esame citologico del parenchima epatico permette l'individuazione di numerosi processi patologici, come descritto in bibliografia, sia di tipo non-neoplastico sia neoplastico. Per alcune condizioni patologiche, quali il riconoscimento di stati di fibrosi, la diagnosi è invece generalmente demandata ad indagini di tipo istopatologico. Lo studio in questione si propone di descrivere aspetti citomorfologici, inediti per la medicina veterinaria, che permettono di individuare la presenza di processi di fibrosi.

Materiali e metodi - Sono stati selezionati 19 cani, per i quali era disponibile un campione istologico ed un campione citologico di tessuto epatico. *Gruppo 1*: 11 cani, per i quali è stata individuata un'epatopatia su base clinica e clinico-patologica e per i quali sono stati identificati segni istopatologici di fibrosi epatica. *Gruppo 2*: 8 cani, interessati da condizioni patologiche senza coinvolgimento epatico o da malattie epatiche senza segni di fibrosi, utilizzati come casi controllo. Per ciascun campione citologico è stato eseguito un conteggio del numero di epatociti, di cellule fusate, di mastociti, granulociti, linfoplasmacellule e macrofagi.

Risultati - La comparazione tra i quadri citologici ha individuato, nei campioni del Gruppo 1, un numero significativamente aumentato di cellule fusate interconnesse tra gli epatociti ($p < 0,0001$) e di mastociti ($p < 0,0012$), mentre il numero di granulociti neutrofili è risultato diminuito significativamente ($p < 0,04$).

Discussione - I rilievi descritti forniscono una base razionale per individuare citologicamente fenomeni di fibrosi del parenchima epatico; il dato in questione assume notevole importanza nell'attribuire l'epatopatia in esame a fenomeni patologici cronici e generalmente irreversibili.

Summary

Introduction and aim of the work - Cytologic examination, as described in bibliography, allows the identification of many, both neoplastic and non-neoplastic pathologic processes. The diagnosis of some pathologic conditions can be traditionally done only by histopathologic examination. The aim of this study is to describe the cytologic features that lead to the recognition of hepatic fibrosis.

Materials and methods - Histologic and cytologic samples of 19 canine hepatic tissues were selected. Group 1: 11 dogs, previously recognized as affected with hepatic disease, based on clinical and clinical pathologic examination, with hepatic fibrosis on histologic examination. Group 2: 8 dogs, affected with extrahepatic or hepatic, histologically non-fibrotic diseases, was compared as control. A differential count of hepatocytes, spindle cells, mast cells, granulocytes, lymphoplasmacells and macrophages was done for each case.

Results - Comparison of cytologic samples between the two groups revealed, in specimens from Group 1, a statistically significant higher number of spindle cells ($p < 0,0001$) distributed among hepatocytes and of mast cells (0,0012), while neutrophils count was lower than control group ($p < 0,04$).

Discussion - The described features provide a rational base to identify, by cytologic examination, fibrosis of hepatic parenchyma; the results are very useful in attributing the hepatic disease to chronic, generally irreversible pathologic processes.

INTRODUZIONE

I processi di fibrosi epatica rappresentano l'esito di condizioni di flogosi cronica, che interessano gli spazi periportali, centrolobulari, che possono coinvolgere i piani epatocitari tra due spazi portali adiacenti o quelli sottesi tra l'area portale e centrolobulare. Le cause sono numerose e gli esiti evidenziano fenomeni progressivi che possono condurre allo sviluppo di condizioni molto gravi quali la cirrosi epatica. I dati clinici ed anamnestici del paziente unitamente alle indagini ematochimiche si limitano generalmente ad individuare e a localizzare al compartimento epatico l'esistenza di fenomeni patologici in atto, ma non forniscono mai l'identificazione definitiva di una diagnosi morfologica specifica; parimenti il ricorso a metodi di indagine quali l'esame ecografico limita le informazioni diagnostiche a rilievi aspecifici, riconducibili ad ecogenicità uniformemente aumentata, comune a condizioni patologiche diverse, per le quali in ogni caso il ricorso al prelievo bioptico è indispensabile per la diagnosi definitiva^{1,2,3,4}.

Solo l'esame istopatologico del parenchima epatico è in grado di rilevare la presenza di fibrosi, benché talora si renda indispensabile l'utilizzo di colorazioni speciali, quali la Tricromica di Goldner, soprattutto per individuarne con precisione il grado e l'estensione. Tuttavia l'esecuzione dell'indagine istopatologica richiede interventi invasivi di prelievo, quali l'esecuzione di tecniche di biopsia chirurgica, oppure l'utilizzo di manovre di biopsia ecoguidata tramite ago tru-cut. Gli svantaggi di queste tecniche comprendono, nel primo caso, soprattutto la difficoltà nella gestione anestesologica e chirurgica di pazienti critici e potenziali rischi iatrogeni⁵ o, nel secondo caso, l'esecuzione di campionamenti non diagnostici⁶.

Dati precedentemente pubblicati in ambito veterinario inerenti l'argomento hanno segnalato aspetti di colestasi come unico segno citologico rilevato in corso di fibrosi⁷; in un report del 2001, relativo ad un'analisi di 30 campioni citologici di fegato canino, si descrive la presenza di "fibrosi" in assenza di specifiche indicazioni morfologiche inerenti a tale rilievo ed in associazione a malattie infiammatorie acute, croniche o neoplastiche⁹. Occasionali segnalazioni in citologia umana individuano invece, in casi di cirrosi epatica, il riscontro di cellule fusate in numero variabile disposte tra epatociti interessati da fenomeni degenerativi o rigenerativi⁸. Secondo tali indicazioni l'esame citologico, scarsamente invasivo e di facile esecuzione, può essere individuato come tecnica elettiva nel prelievo di tessuto epatico che, come cercheremo di dimostrare, può rivelarsi utile nel rilevare processi di fibrosi, fino ad oggi non ancora descritti dalla bibliografia veterinaria.

MATERIALI E METODI

Sono stati selezionati 19 cani, per i quali erano disponibili campioni istologici ed allestimenti citologici del parenchima epatico. I soggetti arruolati nello studio sono stati così suddivisi:

- Gruppo 1: cani affetti da malattia epatica, diagnosticata tramite indagini cliniche e rilievi di laboratorio (esame emocromocitometrico, esame biochimico, esame delle urine), il cui campione istologico evidenziava la presenza di fenomeni di fibrosi;

- Gruppo 2: come casi controllo sono stati valutati cani interessati da condizioni cliniche non coinvolgenti il fegato (neoplasie, per le quali si richiedeva la stadiazione clinica tramite campionamento del tessuto epatico) od affetti da malattie epatiche, individuate tramite indagine clinica e rilievi di laboratorio (esame emocromocitometrico, esame biochimico, esame delle urine), dal cui esame istologico, non si rilevava la presenza di fenomeni di fibrosi.

In tutti i pazienti sono stati effettuati campionamenti citologici epatici, tramite prelievo ecoguidato del parenchima epatico, utilizzando un ago spinale 25 Gauge con manovre di agofissione. Il campione citologico è stato allestito su vetrino tramite manovra di striscio e colorato con metodo di May-Grünwald Giemsa.

I campionamenti di tessuto epatico per l'indagine istologica sono stati eseguiti tramite prelievo transcutaneo con ago Tru-cut, o tramite approccio laparotomico ed escissione con bisturi di un piccolo cuneo di tessuto epatico, immediatamente fissato in formalina tamponata al 4%. Il frammento di tessuto è stato quindi sottoposto a processazione e ad inclusione in paraffina; sezioni di 4 µm sono state colorate con metodo di Ematossilina-Eosina e con metodo Tricromica di Goldner.

Per ogni singolo campione citologico è stata eseguita una conta differenziale su 10 campi di osservazione a 100X, relativa al numero di epatociti, di cellule fusate, di elementi flogistici di tipo granulocitario, linfoplasmocellulare, macrofagico e mastocitario.

Per ciascuno dei due gruppi indipendenti sono stati calcolati la media, la deviazione standard (DS) la mediana e l'intervallo interquartile (IQR) di ogni variabile (numero di epatociti, cellule fusate, granulociti, linfoplasmacellule, macrofagi e mastociti). Prima di procedere al confronto tra le misure dei due gruppi, ogni serie di misure è stata analizzata al fine di verificare se presentasse una distribuzione normale o non normale, sia mediante ispezione visiva dei dati che mediante il test di Shapiro-Wilk. Nel caso di distribuzione approssimativamente normale, il confronto tra i due gruppi di misure è stato effettuato mediante test t di Student per gruppi indipendenti. Nel caso di distribuzioni evidentemente non gaussiane, si è proceduto al confronto mediante Mann-Whitney U-test. Sono stati considerati significativi valori di $p < 0,05$. Tutti i test sono stati eseguiti mediante software Analyse-it per Microsoft Excel.

RISULTATI

L'osservazione citologica dei campioni del Gruppo 1, rappresentato da 11 cani, i cui dati anamnestici, sintomatologici e la diagnosi istologica finale sono elencati nella Tabella 1, evidenzia ottima cellularità, rappresentata da epatociti a citoplasma poligonale o rotondeggiante interessato da fenomeni lievi (5 casi), moderati (2 casi) od intensi (3 casi) di degenerazione di tipo glicogenosico o steatosico (1 caso) e talora dall'accumulo di pigmento di tipo lipofuscinico (4 casi); sono presenti aspetti di stasi biliare extracitoplasmatica in 2 casi. Il nucleo è rotondo, lievemente dismetrico, a cromatina finemente irregolare mononucleolato. Gli epatociti si organizzano in lembi bidimensionali frequentemente interconnessi da ponti di cellule fusate (Fig. 1), disposte in filiere mono o bicellulari (Fig. 2), a citoplasma

Tabella 1
Segnalamento, dati clinici e diagnosi istopatologica dei casi con fibrosi epatica

N°	Razza	Sesso	Età	Sintomatologia	Diagnosi istologica
1	Schnautzer Medio	Maschio	12 anni	Dolore addominale, stasi fecale	Epatite cronica
2	Incrocio	Femmina	11 anni	Disoressia	Cirrosi epatica
3	Cocker Spaniel	Femmina	14 anni	Disorientamento, dimagrimento, PU/PD	Fibrosi periportale con flogosi mista
4	Incrocio	Maschio	10 anni	Disoressia	Fibrosi periportale con ipoplasia venosa
5	Incrocio	Maschio	13 anni	Polidipsia	Fibrosi portocentrale con flogosi cronica
6	Incrocio	Femmina	17 anni	Ascite	Epatite cronica
7	Incrocio	Femmina	12 anni	Vomito, dissenteria	Fibrosi periportale con flogosi mista
8	West Highland White Terrier	Maschio	12 anni	Disorientamento, svenimenti	Epatite cronica
9	Incrocio	Maschio	15 anni	Dolore addominale, disoressia, PU/PD	Fibrosi portoportale con flogosi mista
10	Cocker Spaniel	Maschio	7 anni	Disoressia, vomito, dissenteria	Epatite cronica
11	Incrocio	Maschio	11 anni	Disoressia, vomito, dissenteria	Cirrosi micronodulare

sma eosinofilo, talora ingombro da granulazione eosinofila o nerastra e nucleo ovoidale a cromatina finemente dispersa (Fig. 3); occasionalmente piccoli gruppi di epatociti risultano circondati da fasci di cellule fusate. In tutti i casi si rileva la presenza di cellularità flogistica in quantitativo variabile, rappresentata da granulociti neutrofili, da elementi linfoplasmocellulari, da macrofagi e da mastociti, quest'ultimi localizzati soprattutto in corrispondenza del decorso delle cellule fusate descritte (Fig. 4).

Nel Gruppo 2 sono stati arruolati 8 cani, i cui dati anamnestici, sintomatologici e la diagnosi istologica sono elencati in Tabella 2. I campioni citologici evidenziano ottima cellularità, costituita da epatociti a citoplasma rotondeggiante o poligonale, di aspetto basofilo finemente reticolato od interessato da fenomeni lievi (2 casi) o moderati (1 caso) di degenerazione glicogenosica o lipidosica (1 caso) e dall'accumulo di pigmento lipofuscino (3 casi), organizzati in lembi bi-tridimensionali. In un caso sono stati individuati aspetti citologici di atipia, nuclei nudi e distribuzione degli epatociti in trabecole irregolari. In tutti i campioni sono stati rilevati numeri variabili di elementi flogistici, tra i quali rarissimi mastociti in due di essi. L'osservazione citologi-

ca di questi campioni non ha evidenziato presenza di cellule fusate, se non in numero estremamente esiguo ed in un unico campione.

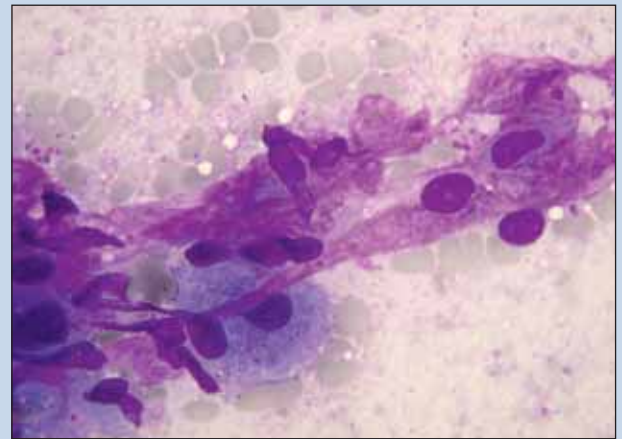


FIGURA 2 - Cellule fusate alla periferia di un lembo di epatociti, caratterizzate da citoplasma eosinofilo e nucleo ovoidale a cromatina finemente compatta (MGG, 100X).

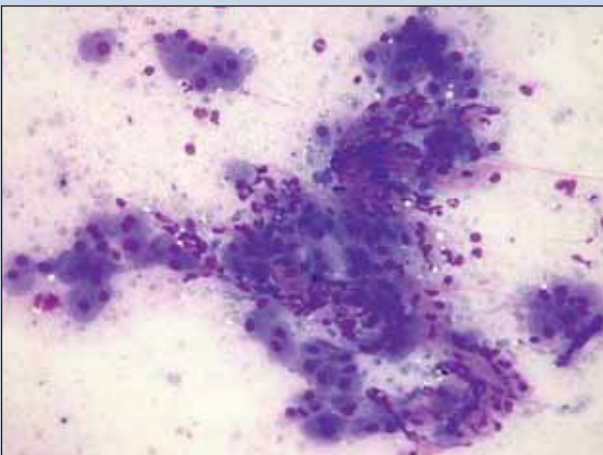


FIGURA 1 - Ampio lembo di epatociti, circondati e talora interconnessi da cellule fusate (MGG, 20X).

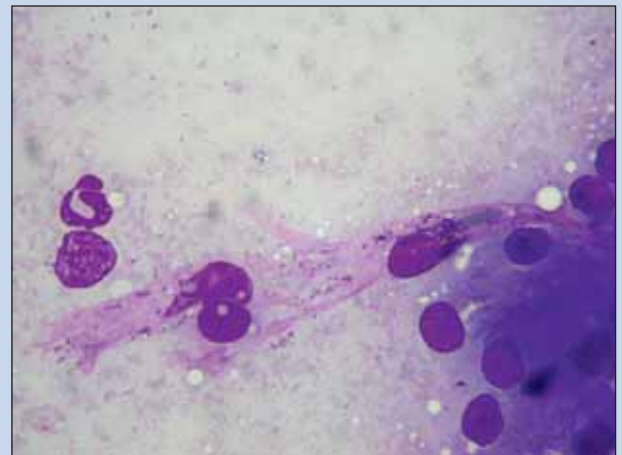


FIGURA 3 - Cellule fusate, di cui si apprezza la granulazione citoplasmatica, di cromatismo variabilmente eosinofilo o nerastra (MGG, 100X).

La valutazione comparativa tra i casi interessati da fenomeni di fibrosi ed i casi controllo, individua come dato fondamentale un numero significativamente superiore di cellule fusate osservate nel gruppo 1 rispetto al gruppo 2 ($p < 0,0001$). A tale rilievo si aggiunge un numero significativamente più elevato di mastociti ($p < 0,0012$) ed un numero inferiore di granulociti neutrofili ($p < 0,04$) osservati nei

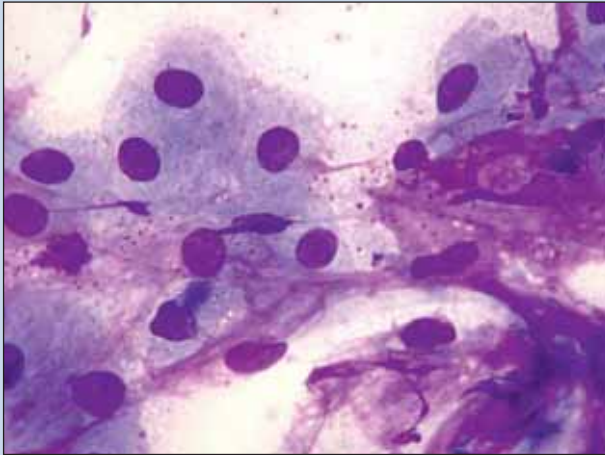


FIGURA 4 - Accanto al decorso di elementi fusati sottesi tra gli epatociti, si osserva la presenza di alcuni mastociti, riconoscibili per il citoplasma ingombro da granuli metacromatici (MGG, 40X).

casi del Gruppo 1 rispetto ai casi controllo. I risultati dell'indagine statistica sono presentati nella Tabella 3.

Per ogni campione istologico esaminato l'utilizzo della colorazione istochimica Tricromica di Goldner ha permesso di confermare i rilievi morfologici relativi a condizioni di fibrosi, identificabili nella presenza di fasci di tessuto connettivale di calibro variabile (Fig. 5), che con tale metodo assumono colorazione verde brillante (Fig. 6), come osservato nei casi arruolati nel Gruppo 1; analogamente l'impiego di questo metodo ha permesso di escludere la presenza significativa di fibrosi nei casi del Gruppo 2.

DISCUSSIONE

La fibrosi epatica è identificata come incremento dei componenti della matrice extracellulare, tra i quali collagene, glicoproteine strutturali e proteoglicani¹⁰ e rappresenta un processo di riparazione cicatriziale parenchimale ad una varietà di stimoli flogistici, quali infezioni persistenti, reazioni autoimmuni, insulti chimici e danno tissutale¹¹. I meccanismi di insorgenza e progressione prevedono tradizionalmente l'attivazione delle cellule epatiche stellate, dette anche cellule di Ito^{12,13} e la loro transdifferenziazione in miofibroblasti¹⁴, come conseguenza dell'attività paracrina di citochine attivanti, rilasciate da epatociti necrotici e probabilmente apoptotici¹⁵, dall'azione di leucociti, di trombociti

Tabella 2
Segnalamento, dati clinici e diagnosi istopatologica dei casi di controllo

N°	Razza	Sesso	Età	Sintomatologia o motivo del prelievo	Diagnosi istologica
1	Incrocio	Femmina	11 anni	Dissenteria	Epatite aspecifica
2	Cocker Spaniel	Femmina	12 anni	Stadiazione di mastocitoma	Fegato normale
3	Golden Retriever	Maschio	6 anni	Stadiazione di linfoma	Fegato normale
4	Beagle	Maschio	11 anni	Disoressia, dimagrimento	Epatocarcinoma
5	Incrocio	Femmina	12 anni	Disoressia, vomito	Epatite aspecifica
6	Shih-Tzu	Maschio	9 anni	Disoressia, vomito	Epatite aspecifica
7	Incrocio	Femmina	11 anni	Disoressia, vomito	Lipidosi epatica con mielolipoma
8	Incrocio	Maschio	12 anni	Disoressia, dissenteria	Epatite aspecifica

Tabella 3
Risultati dell'indagine statistica

	Con fibrosi (11 casi)				Senza fibrosi (8 casi)				Significatività
	media	DS	mediana	IQR	media	DS	mediana	IQR	Valore P
Epatociti	294,6	113,2	268	115,8	354,1	113,5	378,5	154,1	0,27
Granulociti	20,4	10,5	21	16	34	16,6	31	23,2	0,04
Cellule fusate	78,1	43,3	60	31,8	1,5	2,8	0	2,9	<0,0001
Linfoplasmacellule	10,5	8,5	10	15	18,6	10,1	17	13,3	0,07
Macrofagi	10,6	6,6	11	9,2	15	6,7	16,5	7,6	0,17
Mastociti	3,4	3	2	3	0,4	0,7	0	0,6	0,0012

DS: deviazione standard - IQR: intervallo interquartile

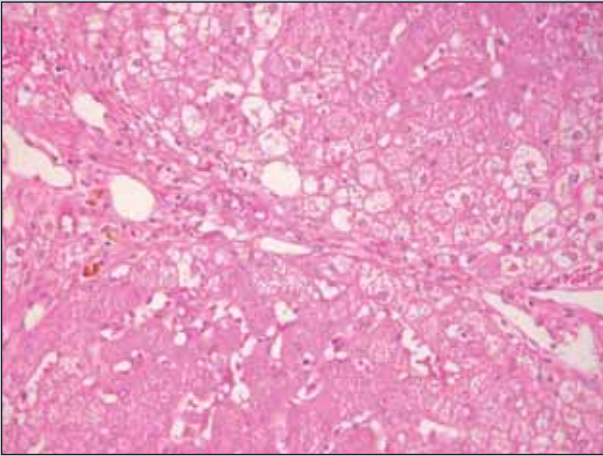


FIGURA 5 - Sezione istologica di tessuto epatico, attraversato da fasci lineari di elementi fusati (Ematossilina-Eosina, 20X).

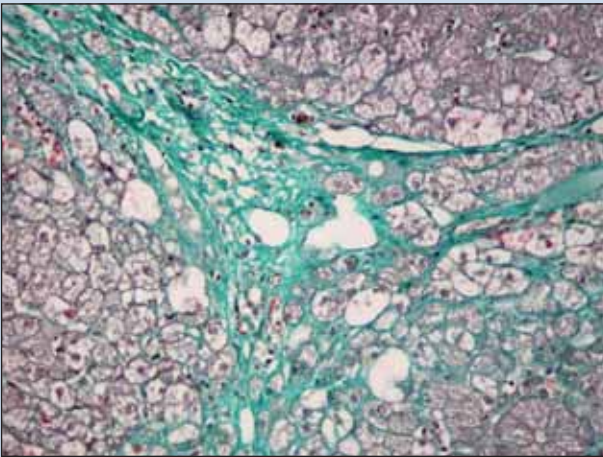


FIGURA 6 - Sezione istologica di tessuto epatico, in cui si evidenzia in verde il decorso dei fasci fibrotici (Tricromica di Goldner, 20X).

e di cellule di Kupffer. Questa trasformazione conferisce alle cellule di Ito aspetto fusato, potenzialità contrattili, per incremento citoplasmatico di actina liscia, e capacità di seccernere un ampio spettro di componenti della matrice extracellulare, numerose citochine pro ed antinfiammatorie e fattori di crescita. Tra le cellule fuse proprie dei processi di fibrosi si annoverano quelle derivanti dai monociti circolanti che, richiamati in sede tissutale a seguito di danneggiamento parenchimale, possono manifestare capacità di differenziare in fibroblasti o fibrociti, benché tale fenomeno non sia ancora stato definitivamente accertato nel parenchima epatico. A questo si aggiunge l'evidenza ormai associata che, alla trasformazione delle cellule stellate in miofibroblasti, si sommano fenomeni di transizione epiteliale-mesenchimale (EMT), determinanti la trasformazione di colangiociti e di epatociti in fibroblasti¹⁰. Qualunque sia la loro provenienza, il miofibroblasto e gli altri tipi cellulari fibrogenici vengono attivati da un numero elevato di eventi flogistici con produzione di mediatori, tra cui citochine (IL-13, IL-21, TGF- β 1), chemochine (MCP-1), fattori angiogenetici (VEGF), fattori di crescita (PDGF), proteine di fase acuta e stimolati alla produzione di collagene¹⁴. Durante i meccanismi iniziali di fibrogenesi la deposizione di matrice extracellulare

coinvolge primariamente lo spazio di Disse, ossia l'area di transizione tra gli endotelociti dei sinusoidi epatici e la superficie membranaria dell'epatocita, determinando una diminuzione delle fenestrature ed alterando conseguentemente gli scambi metabolici: queste alterazioni sono conosciute con il termine "capillarizzazione sinusoidale"¹⁶, poiché i sinusoidi assumono l'aspetto di capillari vascolari; conseguentemente si innesca un'evoluzione complessa che, dall'iniziale attivazione delle popolazioni cellulari descritte, attraverso la deposizione di matrice extracellulare, porta alla formazione di fasci di connettivo tra gli epatociti, che si evidenzia morfologicamente con sviluppi microanatomici variabili, rappresentati da estensioni porto-portali, sottese tra due spazi portali adiacenti, porto-centrali, sottese tra uno spazio portale ed il corrispettivo vaso centrolobulare o centro-centrali, sottese tra due aree centrolobulari. È definita con il termine "cirrosi" la progressione di un processo di fibrosi che causa la conversione della normale architettura epatica in noduli irregolari e lo stabilirsi di anastomosi vascolari porto-centrali^{17,18}.

Citologicamente questo studio identifica come markers attendibili di fibrosi epatica la presenza di elementi mesenchimali organizzati in fasci di calibro variabile, sottesi tra gruppi di epatociti; gli elementi descritti presentano caratteri, che ne identificano l'aspetto fusato, talora stellato, riconducibile ai tipi cellulari precedentemente elencati ed identificati nei processi fibrogenetici, ma risultano privi di caratteri morfologici che ne permettano l'attribuzione ad uno specifico citotipo; tra le peculiarità frequentemente osservate, la presenza di granuli citoplasmatici potrebbe esprimere il ricco patrimonio di enzimi e mediatori infiammatori del miofibroblasto, benché siano necessari approfondimenti di conferma di tale supposizione. L'analisi statistica sottolinea il numero significativamente maggiore ($p < 0,0001$) di elementi fusati nel Gruppo 1 rispetto al Gruppo 2, avvalorato da una conta del numero degli epatociti simile per i due gruppi, come dai dati riassunti in Tabella 3. A questi rilievi si associa il reperto particolarmente interessante relativo all'individuazione di elementi mastocitari; la bibliografia scientifica attribuisce a queste cellule un ruolo chiave sia nei processi di fibrosi sia in corso di fenomeni flogistici acuti^{19,20,21}. In particolare, in corso di fibrosi, essi promuovono la crescita dei fibroblasti e stimolano la produzione di matrice extracellulare da parte delle cellule stellate²²; è inoltre riconosciuto un loro ruolo importante nei processi di capillarizzazione sinusoidale²³.

Il riscontro morfologico dei mastociti rappresenta, oltre ad un corollario morfologico dei processi di fibrosi, un motivo importante per ridimensionare la presenza di queste cellule nel parenchima epatico, soprattutto nei casi in cui si eseguono stadiazioni cliniche alla ricerca di metastasi splancniche di mastocitomi cutanei.

Si è infine apprezzata una diminuzione statisticamente significativa ($p < 0,04$) del numero di granulociti neutrofilici nei campioni di fegato interessati da processi di fibrosi rispetto a quelli interessati da processi non fibrotici; la spiegazione di tale fenomeno può verosimilmente risiedere nel fatto che la componente flogistica tipica dei processi acuti viene gradatamente sostituita da popolazioni cellulari della fase cronica.

Le alterazioni epatocitarie risultano in tutti i casi aspecifiche e riferibili generalmente a danno reversibile. Non

si riscontrano aspetti necrotizzanti dell'epatocita o cellule in apoptosi, che tuttavia rappresentano a volte fenomeni parenchimali focali e conseguentemente non precisamente valutabili con la sola indagine citologica. Le alterazioni degenerative di tipo glicogenosico o lipidosico sono generalmente imputabili a condizioni di ipossia, di tossicosi o di induzione farmacologica¹¹; l'accumulo citoplasmatico di pigmento di origine lipofuscinica individua invece un danno epatocellulare modesto, riferibile generalmente alla perossidazione dei lipidi delle membrane costituenti gli organuli citoplasmatici; questo aspetto patologico, erroneamente considerato in passato come l'espressione dell'accumulo citoplasmatico di bilirubina, è un fenomeno molto frequente e di significato diagnostico limitato, poiché espressione di un danno lieve, reversibile ed aspecifico, in alcuni casi riscontrabile addirittura in campioni di fegato proveniente da soggetti clinicamente normali^{11,24}.

I reperti morfologici descritti non sono in grado di fornire indicazioni circa l'estensione ed il grado di attivazione dei processi di fibrosi, per i quali è indispensabile l'indagine istopatologica. In aggiunta è doveroso sottolineare che il rilievo citologico relativo alla presenza di cellule fusate potrebbe condurre al sospetto errato di una proliferazione mesenchimale non reattiva, bensì neoplastica, benché a tale proposito l'esame dei caratteri citomorfologici nucleari e citoplasmatici soddisfi criteri di benignità. Lo studio in questione è focalizzato al solo riconoscimento citologico di stati di fibrosi, confermati dall'osservazione istologica e dalla colorazione speciale Tricromica di Masson; studi ulteriori potrebbero rivelarsi utili nell'identificare l'associazione tra il numero, la disposizione ed il calibro di fasci di cellule fusate nei campioni citologici e particolari pattern di fibrosi. La validità di questi aspetti in corso di indagine citologica può in ogni caso fornire una motivazione al clinico per intraprendere decisioni diagnostiche successive, soprattutto l'indagine di tipo istopatologico, valutazioni inerenti i difetti di circolo che possono conseguire, quali gli shunt portosistemici acquisiti e considerazioni circa il monitoraggio di malattie epatiche precedentemente diagnosticate od alla scelta di strategie terapeutiche, volte ad ostacolare la progressione dei fenomeni fibrogenici, tendenzialmente irreversibili ed evolutivi verso gravi forme di danno parenchimale.

Bibliografia

1. Feeney DA, Anderson KL, Ziegler LE, Jessen CR, Daubs BM, Hardy RM. Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. *Am J Vet Res.* 2008 Feb; 69(2):212-21.
2. S. Faverzani, R. Trombetta, V. Grieco and F. Acocella. Clinical, Laboratory, Ultrasonographic and Histopathological Findings in Dogs Affected by Portosystemic Shunts, Following Surgery or Medical Treatment. *Vet Res Commun.* 2003 Sep; 27 Suppl 1:755-8.
3. Scott WW, Donovan PJ, Sanders RC. The sonography of diffuse liver diseases. *Semin Ultrasound,* 1981; 2:219-225.
4. Biller DS, Kantrowitz B, Miyabayashi T. Ultrasonography of diffuse liver disease. A review. *J Vet Intern Med.* 1992 Mar-Apr; 6(2):71-6.
5. Proot SJ, Rothuizen J. High complication rate of an automatic Tru-Cut biopsy gun device for liver biopsy in cats. *J Vet Intern Med.* 2006 Nov-Dec; 20(6):1327-33.
6. Cole TL, Center SA, Flood SN, Rowland PH, Valentine BA, Warner KL, Erb HN. Diagnostic comparison of needle and wedge biopsy specimens of the liver in dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2002 May 15; 220(10):1483-90.
7. Roth L. Comparison of Liver Cytology and Biopsy Diagnoses in Dogs and Cats: 56 cases. *Vet Clin Path,* Vol. 30, n° 1, 2001:35-38.
8. Weiss DJ. Cytologic Evaluation of Inflammation in Canine Liver Aspirates. *Vet Clin Path,* vol 30, n° 4, 2001:193-196.
9. Tao LC. Liver and Pancreas. In Bibbo M. *Comprehensive Cytopathology.* Philadelphia, WB Saunders Co, 1990:826-827.
10. Gressner OA, Weiskirchen R, Gressner AM. Evolving concepts of liver fibrogenesis provide new diagnostic and therapeutic options. *Comp Hepatol,* 2007, 6:7.
11. Cullen JM, Van den Ingh TSGAM, Van Winkle T et al. Morphological classification of parenchymal disorders of the canine and feline liver. In Rothuizen J, Bunch SE, Charles JA, Cullen JM, Desmet VJ, Szatmari V, Twedt DC, Van den Ingh TSGAM, Van Winkle T, Washabau RJ. *WSAVA Standards for the clinical and histological diagnosis of canine and feline liver disease.* Edimburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St.Louis, Sydney, Toronto, Elsevier, 2006:77-101.
12. Kmiec Z. Cooperation of liver cells in health and disease. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* 2001; 161:III-XIII, 1-151.
13. Senoo H. Structure and function of hepatic stellate cells. *Med Electron Microsc.* 2004 Mar; 37(1):3-15.
14. Wynn T. Cellular and molecular mechanism of fibrosis. *J Pathol* 2008 Jan; 214(2):199-210.
15. Roth S, Michel K, Gressner AM. Latent transforming growth factor-beta in liver parenchymal cells, its injury-dependent release and paracrine effects on hepatic stellate cells. *Hepatology* 1998, 27:1003-12.
16. Varin F, Huet PM. Hepatic microcirculation in the perfused cirrhotic rat liver. *J Clin Invest.* 1985 Nov; 76(5):1904-12.
17. Anthony HD, Ishak KG, Nayak NC, et al. The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature and classification. *Bull WHO* 1977; 55:521-540.
18. Crawford JM. Liver cirrhosis. In: McSweeney RNM, Burt AD, Portmann BC. *Pathology of the liver.* 4th Edition, Edimburgh, Churchill Livingstone: 2002:575-620.
19. Matsunaga Y, Kawasaki H, Terada T. Stromal mast cells and nerve fibers in various chronic liver diseases: relevance to hepatic fibrosis. *Am J Gastroenterol.* 1999 Jul; 94(7):1923-32.
20. Grizzi F, Franceschini B, Barbieri B, Gagliano N, Arosio B, Chiriva-Internati M, Annoni G, Dioguardi N. Mast cell density: a quantitative index of acute liver inflammation. *Anal Quant Cytol Histol.* 2002 Apr; 24(2):63-9.
21. Farrell DJ, Hines JE, Walls AF, Kelly PJ, Bennett MK, Burt AD. Intrahepatic mast cells in chronic liver diseases. *Hepatology.* 1995 Oct; 22(4 Pt 1):1175-81.
22. Jeong DH, Lee GP, Jeong WI, Do SH, Yang HJ, Yuan DW, Park HY, Kim KJ, Jeong KS. Alterations of mast cells and TGF-beta1 on the silymarin treatment for CCl(4)-induced hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol.* 2005 Feb 28; 11(8):1141-8.
23. Franceschini B, Ceva-Grimaldi G, Russo C, Dioguardi N, Grizzi F. The complex functions of mast cells in chronic human liver diseases. *Dig Dis Sci.* 2006 Dec; 51(12):2248-56.
24. Scott M, Buriko K. Characterization of the pigmented cytoplasmic granules common in canine hepatocytes. *Vet Clin Pathol.* 2005; 34(Suppl):281-282.