

## CORRELAÇÃO CITOISTOLÓGICA EM CASOS DE DOENÇAS HEPÁTICAS EM CÃES

Raimundo Alberto Tostes<sup>1</sup>, Enio Pedone Bandarra<sup>2</sup>

### RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar a concordância diagnóstica entre os exames citológico e histológico do fígado em cães portadores de afecções hepáticas. Foram utilizados 80 cães, sem predileção por sexo, raça ou idade, encaminhados ao Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu. O exame citológico foi feito por meio de citologia aspirativa por agulha fina. O estudo da concordância diagnóstica realizado pelo teste Q de Cochran concluiu que os diagnósticos referentes à citologia diferem significativamente do diagnóstico histológico de forma genérica. Contudo ficou caracterizada a importância da citologia como método de abordagem inicial do paciente na tentativa de fazer uma triagem da natureza da lesão hepática.

**Palavras-chave:** Citologia, doença hepática, fígado, cão.

### INTRODUÇÃO

A citologia hepática foi introduzida na prática médica como coadjuvante das biópsias (HAJDU, 1977) em primeira instância no diagnóstico de neoplasias e, posteriormente, de outras doenças como: cirrose, esteatose e outras alterações, tanto de natureza infecciosa quanto metabólica (PERRY; JOHNSTON, 1985 e BELL et al., 1986). Pisharodi et al. (1995) concluíram como correto o diagnóstico citológico em 80% dos casos de neoplasias hepáticas e estudos prospectivos

demonstraram variação de 81 a 96% de sensibilidade desta técnica em pacientes humanos portadores de neoplasias (SUEN, 1990).

Em Medicina Veterinária, o valor prognóstico da citologia hepática é visto com reserva (OSBORNE et al., 1974 e VILLANUEVA et al., 1997). O conceito de que a citologia aspirativa do fígado poderia fornecer algum dado apenas em doenças supostamente infecciosas foi reformulado. Estudos mais recentes (KRISTENSEN et al., 1990; KERWIN, 1995 e VILLANUEVA et al., 1997) baseados nessa técnica sugerem uma classificação aplicada à veterinária que situa os achados em dez categorias distintas: normal, hiperplasia, inflamação, degeneração, necrose, colestase, neoplasia, alterações mistas, alterações não classificadas (por exemplo, hematopoiese extramedular) e material não diagnóstico. Estudos em pacientes humanos demonstraram aumento significativo na sensibilidade do diagnóstico por biópsia quando são combinados procedimentos citológicos e histopatológicos (ATTERBURY et al., 1979; INNES; FELDMAN, 1983 e SUEN, 1990).

A citologia, por se tratar de um procedimento menos invasivo, pode ser usada em momentos críticos da doença hepática, antes de se partir para a biópsia. Além disso, essa técnica deve ser usada em conjunto com a biópsia para dar mais sustentação ao diagnóstico (INNES; FELDMAN, 1983 e CENTER, 1995).

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 80 animais encaminhados ao Serviço de Patologia da FMVZ, sem predileção por sexo, raça ou idade, com indicação clínica e/

<sup>1</sup> Professor Assistente. Universidade do Oeste Paulista, Campus II, Rod. Raposo Tavares km 572, Presidente Prudente-SP, 19001-970, tost@uol.com.br

<sup>2</sup> Professor Adjunto. Doutor. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Campus de Botucatu, bandarraep@fmvz.unesp.br

ou laboratorial de doença hepática. Os animais foram submetidos à citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) usando-se agulhas de 30,0 x 7,0 mm acopladas à seringas de 5,0ml. O procedimento foi realizado por meio de punção percutânea transabdominal, logo após o óbito dos animais em um período não superior a duas horas *post mortem*. O material era colocado sobre lâminas de vidro para a realização de esfregaço, fixação em metanol e coloração pelo Giemsa. Cada procedimento de CAAF era repetido três vezes. Após a CAAF, os animais eram submetidos à necropsia completa. Para a análise citológica das amostras também foram realizados *imprints* a partir de fragmento do tecido hepático retirado após a necropsia, obedecendo

ao mesmo processamento das amostras obtidas por CAAF. Amostras de tecido hepático foram colhidas e fixadas em solução de formalina a 10% para processamento, inclusão em parafina e coloração por HE.

Os critérios de análise citológica incluíram a natureza da lesão presente (degeneração, inflamação, necrose, fibrose, colestase, neoplasia e alterações mistas). Características de celularidade, aspectos de citoplasma, núcleo, cromatina e índice mitótico, entre outros.

Para avaliar a adequabilidade das amostras obtidas para exame citológico foi elaborado um sistema de escores sumariado no quadro 1.

O exame citológico também foi avaliado

Quadro 1. Sistemas de escores de avaliação da adequabilidade das amostras.

CRITÉRIO	PONTUAÇÃO
Quantidade de sangue ou coágulo no fundo	
Grande quantidade, comprometendo o diagnóstico	0
Quantidade moderada; diagnóstico possível	1
Mínima; qualidade excepcional	2
Quantidade de material celular	
Mínima ou ausente; sem diagnóstico possível	0
Suficiente para citodiagnóstico	1
Abundante; favorecendo o diagnóstico	2
Grau de degeneração celular	
Marcante; sem diagnóstico possível	0
Moderado; diagnóstico possível	1
Mínimo; boa preservação; favorecendo o diagnóstico	2
Grau de trauma celular	
Marcante; diagnóstico inviável	0
Moderado; diagnóstico possível	1
Mínimo; favorecendo o diagnóstico	2
Preservação da arquitetura apropriada	
Mínima a ausente; diagnóstico inviável	0
Moderada; alguma preservação	1
Excelente; arquitetura lembra o aspecto histológico	2

Somatória – Escore Total:

*Insatisfatório (0-2)*

*Adequado (3-6)*

*Superior (7-10)*

quanto à sua sensibilidade e especificidade (excluídos desta análise as amostras com baixa celularidade e que, portanto, não proporcionaram um diagnóstico), usando-se o método de Baye (POLANSKY; LAMB, 1989). A fórmula do método de Baye é expressa da seguinte forma:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{Verdadeiro Positivo}}{\text{Verdadeiro Positivo} + \text{Falso Negativo}}$$

$$\text{Especificidade} = \frac{\text{Verdadeiro Negativo}}{\text{Falso Positivo} + \text{Verdadeiro Negativo}}$$

As categorias pré-definidas para citodiagnóstico foram: normal, hiperplasia, colestase, inflamação, degeneração, necrose, fibrose, cirrose, neoplasia, alterações mistas, e não diagnóstica. A classificação utilizada na definição do diagnóstico citológico foi baseada em Koss et al. (1984); Meyer; French (1989) e Kristensen et al. (1990).

Para o estudo da concordância diagnóstica

entre o diagnóstico de citologia frente ao diagnóstico obtido por necropsia utilizou-se o delineamento experimental com medidas repetidas e com aplicação do *Teste Q de Cochran* para se testar a hipótese de que a proporção de concordantes fosse a mesma para ambos os métodos (ZAR, 1984).

## RESULTADOS

As alterações encontradas no exame citológico foram abrangentes, sem haver condição, entretanto, de avaliá-las quanto à intensidade, exceto em poucos casos onde predominou um padrão difuso. As lesões foram apenas classificadas na sua ampla maioria, tornando o diagnóstico mais descritivo, exceto em casos de hepatite infecciosa canina e neoplasia. As alterações observadas são mostradas na figura 1. O sistema de escores exibiu pouca variação entre os itens avaliados e o resultado final apontou como *adequados* 54 casos (67,5%), *superiores* 18 casos (22,5%) e *insatisfatórios* 8 casos (10%). A tabela 1 mostra a média em cada critério avaliado.

Tabela 1. Média dos escores no exame citológico\* de doenças hepáticas em cães, Botucatu-SP.

Qde. de sangue no fundo	Qde. de Material Celular	Grau de Degeneração	Grau de Trauma	Preservação Arquitetural	Total
1,1	1,22	1,01	1,02	0,73	5,13

\* Os critérios definidos foram: I = insatisfatório (0-2), A = adequado (3-6), superior (7-10).

Com relação ao método de Baye, o exame citológico apresentou uma especificidade de 77% para uma sensibilidade de 62%, em que os resultados distribuíram-se assim: 36 casos (45%) verda-

deiros positivos, 17 casos (21,2%) verdadeiros negativos, 5 casos (6,3%) falsos positivos e 22 casos (27,5%) falsos negativos.

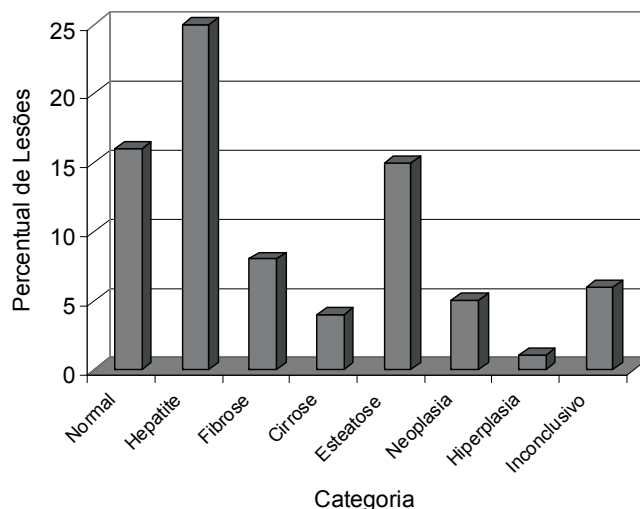


Figura 1. Gráfico representativo de distribuição das lesões hepáticas com diagnóstico citológico em 60 cães.

O exame citológico das amostras apresentou uma concordância de 100% no diagnóstico de hepatite, fibrose, cirrose e neoplasia. Tendo obtido 63,3% de índice de concordância com o diagnóstico histológico, o exame citológico apresentou uma correlação de diagnóstico de 15%, definida pelo teste *Q de Cochran*.

## DISCUSSÃO

A avaliação do exame citológico com relação aos critérios estabelecidos no sistema de escores mostrou que a quantidade de sangue no fundo estava em níveis aceitáveis (1,1), e que a quantidade de material celular (1,22) foi excelente. A celularidade alta acompanhada de baixo grau de degeneração e trauma celulares são determinantes para o exame citológico ser considerado adequado. A preservação arquitetural apresentou o escore médio mais baixo (0,73), devido ao fato de que a visualização da arquitetura lobular só é possível histologicamente, ainda que seja possível discernir, ao exame citológico, algumas estruturas que lembram o tecido de origem. Contudo, a citologia do fígado, nos termos deste estudo tornou-se viável na caracterização morfológica individualizada das células e raras vezes no conjunto.

O método de Baye mostrou uma especificidade de 77% e uma sensibilidade de 62%, valores esperados dada a diversidade de alterações. Weiss et al. (2001), estudando somente casos de hepatite observaram uma especificidade de 96% e sensibilidade de 93%. Contudo, Kristensen et al. (1990) e Bettini et al. (2001), estudando hepatopatias em geral, obtiveram percentuais menores de especificidade, 83% e 74,6% respectivamente. Dessa forma, o exame citológico é factível, viável e pouco invasivo, exibindo fragmento passível de análise do tecido colhido, ainda que não ofereça elementos substanciais para um diagnóstico definitivo. Porém, é uma técnica extremamente útil como primeira abordagem de hepatopatias.

Houve alto índice de resultados falsos negativos (27,5%). Innes; Feldmann (1983) citaram que os índices baixos de resultados falsos negativos, ou seja, àqueles que são referidos erroneamente como normais referem-se principalmente ao citodiagnóstico de malignidade. Em caso de doença não neoplásica é natural observar um número maior de falsos negativos. Considerando-se a ampla variação de alterações observadas no presente estudo era esperado o achado de maior número de resultados falsos negativos.

O número de amostras não diagnósticas,

consideradas inadequadas, foi relacionado a erros de técnica, atingindo 7,5%, valor semelhante ao observado por outros autores (LIMBERG et al., 1987 e VILLANUEVA et al., 1997).

A correlação de diagnóstico de 15%, definida pelo teste *Q de Cochran*, foi considerada baixa em relação ao diagnóstico histológico. Isso pode ser explicado pelo fato do diagnóstico histopatológico das doenças do fígado ser dependente da arquitetura do lóbulo hepático. Esse argumento foi reforçado por Leiman et al. (1989). Weiss et al. (2001), entretanto, sugeriram que a primeira abordagem diante de uma lesão hepática deveria ser citológica. Por meio dessa técnica obter-se-ia uma impressão inicial objetiva da natureza ou categoria da lesão hepática presente, antes de se considerar a possibilidade de uma biópsia.

Para o diagnóstico citológico em casos de hepatites, devem ser consideradas algumas variáveis que incluem: a atividade regenerativa dos hepatócitos, a presença de restos celulares, a presença ou não de bactérias, a natureza e a intensidade do infiltrado inflamatório (MEYER; FRENCH, 1989 e KRISTENSEN et al., 1990).

A presença de infiltrado inflamatório predominantemente neutrofílico e linfocítico, acompanhado de necrose é altamente sugestiva de hepatite. Porém, Weiss et al. (2001) sugeriram que a definição da natureza do infiltrado inflamatório de formas específicas de hepatite seja de difícil diagnóstico citológico. Meyer; French (1989) acrescentam que o diagnóstico de hepatite, exceto nos casos de hepatite infecciosa canina é meramente sugestivo e que não se pode prescindir da avaliação arquitetural, histológica. Weiss et al. (2001) acrescentaram ainda, que a caracterização da atividade inflamatória hepática pela citologia seja boa, contudo não permite uma classificação morfológica precisa.

O diagnóstico de fibrose é feito mediante o achado de grupos fibróticos, em que se individualizam fibroblastos e hepatócitos binucleados de aspecto reativo (figura 2). A celularidade da amostra é baixa e os hepatócitos raramente aparecem isoladamente (BERMAN; McNEILL, 1988).

O diagnóstico de cirrose foi concordante em 100% dos casos. Do ponto de vista citológico, a cirrose é uma condição de difícil diagnóstico. Frequentemente observam-se hepatócitos atípicos que erroneamente conduzem a um diagnóstico de carcinoma hepatocelular (BERMAN; McNEILL, 1988). Estes autores consideraram esta atipia, como displasia hepática ou atipia reativa benigna, numa condição limítrofe à neoplasia. Mesmo o diagnóstico de neoplasia por meio da citologia é viável desde

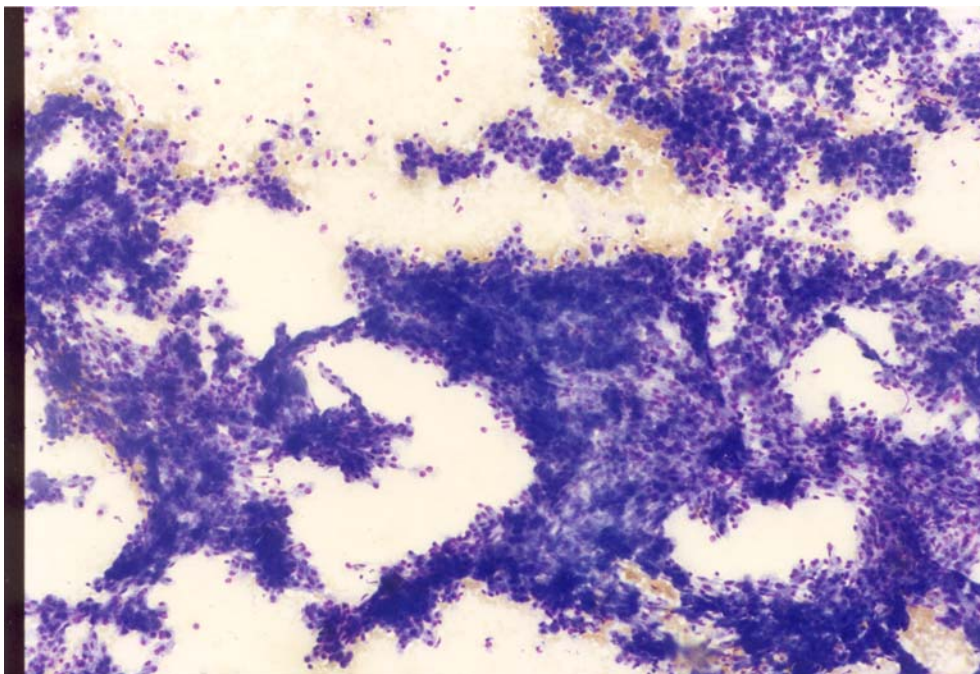


Figura 2. Micrografia de material de punção aspirativa de fígado de cão: A cirrose observou grupos de hepatócitos reunidos por feixes fibróticos, formando grupos densos de hepatócitos (Giemsa, 40X).

que permita a identificação da massa no momento da punção, condição propiciada pelo uso de ultrassom, tomógrafo, entre outros. Os critérios de malignidade na amostra de biópsia são os mesmos

utilizados na definição de qualquer processo neoplásico (LIMBERG et al., 1987 e BURKHARD; MEYER, 1996). A figura 3 ilustra os aspectos citológicos de um processo neoplásico.

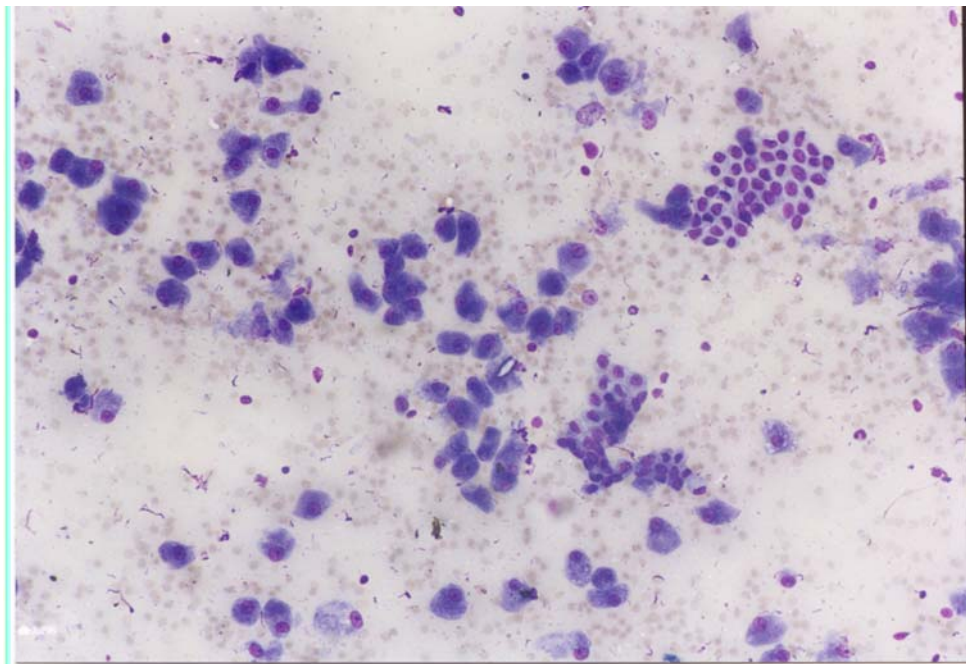


Figura 3. Micrografia de hepatoma em cão, evidenciando a presença de dois grupos de células epitelióides atípicas altas, exibindo anisocariose e nucléolos evidentes, ao redor hepatócitos isolados. (Giemsa, 40X).

O citodiagnóstico desempenha um papel de triagem importante na natureza da doença hepática, muitas vezes conduzindo a uma alteração na conduta clínica, principalmente quando sugere neoplasia. Há alta correlação entre o citodiagnóstico e o exame histopatológico, em se tratando de neoplasias (CARTER et al, 1988; RUSSACK et al; 1993 e ROGERS et al, 1996).

Autores como Lundquist (1971) e Perry; Johnston (1985) sugeriram que as lesões hepáticas

incipientes ou mesmo a citologia de hepatócitos normais são condições que induzem a um diagnóstico exato. No entanto, no presente estudo este foi o ponto de maior discrepância entre o diagnóstico citológico e o diagnóstico final. Segundo Bettini et al. (2001), as alterações degenerativas (figura 4) e o padrão de normalidade observados no exame citológico do fígado apresentam variações que são potencialmente capazes de conduzir a um erro de interpretação.

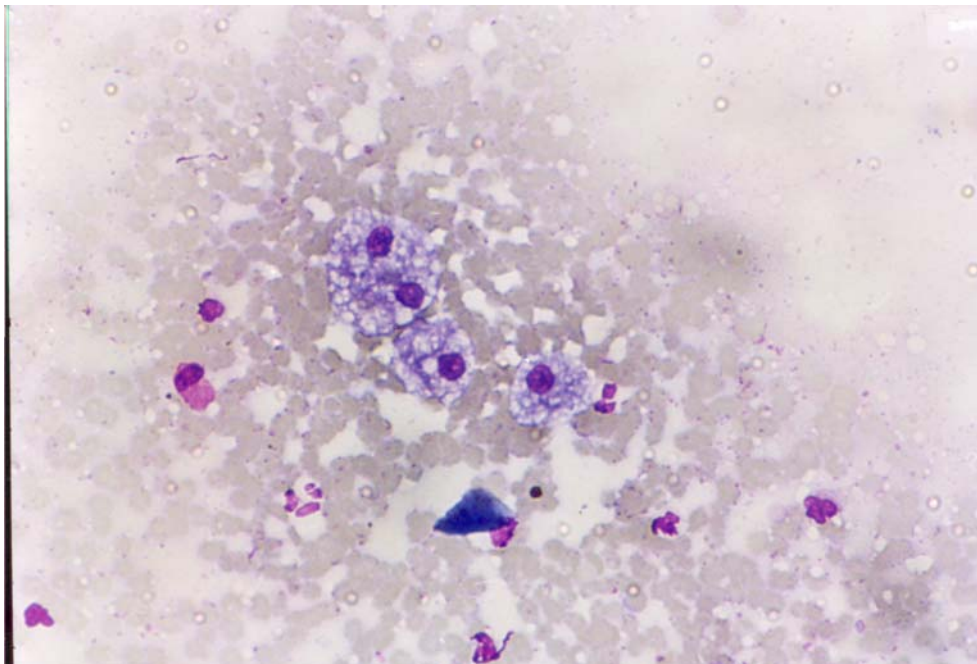


Figura 4. Miografia de esteatose em cão, mostrando hepatócitos com intensa vacuolização intracitoplasmática e restos celulares ao redor. (Giemsa, 100X).

O exame citológico não oferece uma definição precisa da natureza da lesão, mas permite classificá-la em categoria bem definida, sob o ponto de vista morfológico. Obviamente essa técnica tende a exibir melhores resultados nos casos em que a apresentação da hepatopatia é difusa (SERVOLL et al., 1988).

Eventualmente, os achados de atividade necro-inflamatória no exame citológico são indicativos da gravidade da lesão hepática, entretanto, a extensão e o grau do comprometimento tecidual só podem ser determinados tomando por base a arquitetura do parênquima. Assim, a citologia fornece subsídios seguros para a caracterização de uma hepatopatia, mas não prescinde da conclusão histológica. Burkhard; Meyer (1996) e Menard;

Papageorges (1997) acrescentaram que os fatores prognósticos devam ser limitados à análise histológica, exatamente por não haver profundidade suficiente na análise citológica.

## CONCLUSÃO

O exame citológico do fígado é viável devido ao seu baixo custo de realização e oferece uma possibilidade de abordagem de menor conotação invasiva a um paciente hepatopata. Contudo, a definição da natureza da doença hepática, bem como a avaliação de determinados padrões de lesão hepática tornam imprescindíveis a ulterior avaliação histológica.

## Cytohistological correlation in hepatic diseases in dogs

### ABSTRACT

The purpose of the present study is to analyze the diagnostic agreement between cytological and histopathological liver evaluation of dogs with hepatic diseases. There were used sixty dogs regardless of sex, breed or age. The work was performed at the Pathology Service of the University of Veterinary Medicine and Zootecnia – UNESP, Campus of Botucatu. The cytological exam was performed by fine needle aspiration cytology (FNAC). The *test Q of Cochran* was used to study the correlation between cytological and histological diagnosis. It was concluded that the cytological diagnosis differs significantly from the histological diagnosis in a generic way. However the importance of the cytology was characterized as an approach to trial the hepatic lesion nature.

**Keywords:** Cytology, hepatic diseases, liver, dogs.

### REFERÊNCIAS

- ATTERBURY, C.E.; ENRIQUEZ, R.E.; DESUTO-NAGY, G.I.; CONN, H.O. Comparison of the Histologic and Cytologic Diagnosis of Liver Biopsies in Hepatic Cancer. **Gastroenterol.**, v.76, n. 6, p.1352-1357, 1979.
- BELL, D.A.; CARR, C.P.; SZYFELBEIN, W.M. Fine Needle Aspiration Cytology of Focal Liver Lesions. Results obtained with examination of both cytologic and histologic preparations. **Acta Cytol.**, v.30, n.4, p.397-402, 1986.
- BERMAN, J.J.; McNEILL, R.E. Cirrhosis with atypia. A potential pitfall in the interpretation of liver aspirates. **Acta Cytol.**, v.32, n.1, p.11-14, 1988.
- BETTINI, G.; MORINI, M.; MANDRIOLI, L.; MILITERNO, G. La citodiagnostica agoaspirativa nelle patologie epatiche del cane e del gatto. Confronto citologia/istologia in 90 casi consecutivi. **Veterinaria**, v.15, n.3, p.61-71, 2001.
- BURKHARD, M.J.; MEYER, D.J. Invasive cytology of internal organs. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.**, v.26, n.5, p.1203-1222, 1996.
- CARTER, T.R.; FELDMAN, P.S.; INNES Jr. D.J.; FRIERSON Jr. H.F.; FRIGY, A.F. The role of fine needle aspiration cytology in the diagnosis of lymphoma. **Acta Cytol.**, v.32, n.6, p.848-853, 1988.
- CENTER, S.A. Diagnostic and therapeutics strategies for chronic liver disease in the dog. In: WORLD VETERINARY CONGRESS, 25, 1995, Yokohama. **Proceedings...** Yokohama: WVA/WSAVA, 1995. p.443-448.
- HAJDU, S.I. Cytology from antiquity to Papanicolaou. **Acta Cytol.**, v.21, n.5, p.668-676, 1977.
- INNES, Jr. D.J.; FELDMAN, P.S. Comparison of diagnostic results obtained by fine needle aspiration cytology and Tru-Cut or open biopsies. **Acta Cytol.**, v. 27, n.3, p.350-354, 1983.
- KERWIN, S.C. Hepatic aspiration and biopsy techniques. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Clin.**, v.25, n.6, p.275-292, 1995.
- KOSS, L.G.; WOYKE, S.; OLSZEWSKI, W. The Liver. In: KOSS, L.G. **Aspiration Biopsy Cytologic Interpretation and Histologic Bases**. New York: Igaku-Shoin, 1984. p. 350-374.
- KRISTENSEN, A.T.; KLAUSNER, J.S.; WEISS, A.J.; HARDY, R.M. Liver cytology in cases of canine and feline hepatic disease. **Compend. Cont. Ed. Pract. Vet.**, v.12, n.6, p.797-809, 1990.
- LEIMAN, G.; LEIBOWITZ, C.B.; DUNBAR, F. Fine-needle aspiration of the liver: out of the ivory tower and into the community. **Diagn. Cytopathol.**, v.5, n.1, p.35-39, 1989.
- LIMBERG, B.; HÖPKER, W.W.; KOMMERELL, B. Histologic differential diagnosis of focal liver lesions by ultrasonically guided fine needle biopsy. **Gut**, v.28, n.3, p.237-241, 1987.
- LUNDQUIST, A. Fine-needle aspiration biopsy of the liver. **Acta Med. Scand. Supp.**, v.520, p.1-30, 1971.
- MENARD, M.; PAPAGEORGES, M. Fine needle biopsies: How to increase diagnostic yield. **Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.**, v.19, n.6, p.738-740, 1997.
- MEYER, D.J.; FRENCH, T.W. The liver. In: COWELL, R.. **Diagnostic Cytology of the Dog and Cat**. California: American Veterinarian. 1989, p. 189-197.

OSBORNE, C.A.; HARDY, R.M.; STEVENS, J.B.; PERMAN, V. Liver biopsy. **Vet. Clin. North Am. Small Anim. Clin.**, v.4, n.2, p.333-350, 1974.

PERRY, M.D.; JOHNSTON, W.W. Needle biopsy of the liver for the diagnosis of nonneoplastic liver diseases. **Acta Cytol.**, v.29, n.3, p.385-390, 1985.

PISHARODI, L.R.; LAVOIE, R.; BEDROSSIAN, C.W.M. Differential diagnostic dilemmas in malignant fine-needle aspirates of Liver: A practical approach to final diagnosis. **Diagn. Cytopathol.**, v.12, n.4, p.364-371, 1995.

POLANSKY, F.F.; LAMB, E.J. Analysis of three laboratory tests used in the evaluation of male fertility. Baye's rule applied to the postcoital test, the *in vitro* migration test, and the zona free hamster eggs test. **Fertil. Steril.**, v.51, n.2, p.215-223, 1989.

ROGERS, K.S.; BARTON, C.L.; HABRON, J.M. Cytology during surgery. **Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.**, v.18, n.2, p. 153-162, 1996.

RUSSACK, V.; VASS, L.; GUPTA, P.K. Comparison

of morphologic features of benign hepatocytes associated with nonmalignant and malignant liver lesions. **Acta Cytol.**, v.37, n.2, p.153-157, 1993.

SERVOLL, E.; VISTE, A.; SKAARLAND, E.; LARSEN, T.B.; PEDERSEN, O.M.; ARNESJO, B.; SOREIDE, O. Fine-needle aspiration cytology of focal liver lesions. **Acta Chir. Scand.**, v.154, n.1, p.61-63, 1988.

SUEN, K.C. **Atlas and Text of Aspiration Biopsy Cytology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990. 530p.

VILLANUEVA, G.; DE BUEN, N.; ALONSO, P. Punción hepática con aguja delgada (PAD) en perros, correlación citohistológica. **Vet. Méx.**, v.28, n.2, p.101-107, 1997.

WEISS, D.J.; BLAUVELT, M.; AIRD, B. Cytologic evaluation of inflammation in canine liver aspirates. **Vet. Clin. Pathol.**, v.30, n.4, p.193-196, 2001.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. Englewood Cliffs: Prentice-Hall, 1984. 600p.