



# Pseći kutani histiocitom: citološke karakteristike – retrospektivni prikaz slučajeva dijagnosticiranih na Zavodu za veterinarsku patologiju 2009. – 2018.

## Canine cutaneous histiocytoma: cytological characteristics - retrospective study of cases diagnosed at the Department of Veterinary Pathology 2009 – 2018

Kampuš, A.<sup>1\*</sup>, A. G. Kurilj<sup>2</sup>, M. Hohšteter<sup>2</sup>, D. Huber<sup>2</sup>, L. M. Zagradišnik<sup>2</sup>, I. C. Šoštarić-Zuckermann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Anja Kampuš, dr. med. vet., Veterinarska ambulanta Nera, Avenija Dubrava 149, 10000 Zagreb

<sup>2</sup>izv. prof. dr. sc. Andrea Gudan Kurilj, izv. prof. dr. sc. Marko Hohšteter, dr. sc. Doroteja Huber, dr. sc. Lidija Medven Zagradišnik, doc. dr. sc. Ivan-Conrado Šoštarić-Zuckermann, Zavod za veterinarsku patologiju, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

\*e-adresa: [anjakampus94@gmail.com](mailto:anjakampus94@gmail.com)

### Sažetak

Pseći kutani histiocitom tumor je okruglih stanica. Najčešće se pojavljuje kod mladih pasa. Citološka pretraga često je dostatna za postavljanje konačne dijagnoze. Cilj ovog rada bio je naglasiti važnost uzimanja uzoraka za citološku pretragu, bolje razumijevanje citoloških karakteristika psećeg kutanog histiocitoma te povezanost upalnih stanica s regresijom tumora. Citološka pretraga vrlo je važna metoda u dijagnostici psećeg kutanog histiocitoma zbog točnosti, brzine, jednostavnosti i prihvatljive cijene. Ovo je istraživanje provedeno na 20 citoloških preparata iz arhive Zavoda za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Mikroskopskom pretragom ponovno su pregledani preparati i određene citološke karakteristike koje uključuju staničnost, omjer jezgre i citoplazme, prisutnost anizocitoze i anizokarioze, infiltraciju limfocita i neutrofila te prisutnost nekrotičnog debrisa.

### Abstract

Canine cutaneous histiocytoma is a round cell tumor that most commonly occurs in young dogs. Cytological examination alone is often sufficient to make a definitive diagnosis. The aim of this study was to emphasize the importance of sampling for cytological examination, a better understanding of the cytological characteristics of canine cutaneous histiocytoma, and the association of inflammatory cells with tumor regression. A cytological examination is a very valuable method in the diagnosis of canine cutaneous histiocytoma because of its accuracy, speed, simplicity and reasonable price. This research was performed on 20 cytological preparations from the archive of the Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb. The samples were microscopically reevaluated. At the same time the following cytological characteristics were determined: cellularity, nucleus to cytoplasm ratio, presence of anisocytosis and anisokaryosis, infiltration of lymphocytes and neutrophils, and presence of necrotic debris.

**KLjučne riječi:** pseći kutani histiocitom, citologija, tumor, limfociti

**Key words:** cutaneous histiocytoma, cytology, tumor, lymphocytes

## UVOD

Kutani histiocitom pasa pripada u tumore podrijetla okruglih stanica (engl. *round cell tumors*). U kategoriji tumora okruglih stanica nalaze se i mastocitom, limfom, plazmocitom, melanom i transmisivni venerični tumor.

Pseći kutani histiocitom nastaje proliferacijom intraepidermalnih Langerhansovih stanica tvoreći benignu neoplaziju. Ova je neoplazija vrlo česta kod pasa, a specifična je po tome što zahvaća pse mlađe životne dobi (Moore, 2017.). Najčešće se pojavljuje kao solitarna okrugla novotvorina, najčešće lokalizirana na ekstremitetima, glavi i uški, no može se pojaviti na bilo kojem dijelu tijela (Albanese, 2017.). Veličina tvorbe najčešće ne prelazi 4 cm, a za nekoliko mjeseci dolazi do spontane regresije.

Kako bi se postavila pravilna dijagnoza, obično se radi citološka pretraga. Može se, dakako, učiniti i patohistološka pretraga, no ekscizija u pravilu nije potrebna. Primjenom bilo koje od ovih metoda važno je isključiti tumore koji imaju lošiju prognozu, a koji makroskopski mogu nalikovati na kutani histiocitom. Prognoza je izrazito povoljna.

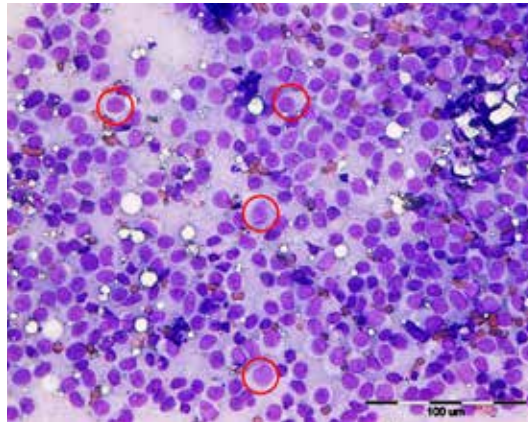
## MATERIJALI I METODE

Supstrat ovog istraživanja bilo je 20 arhiviranih citoloških preparata sa Zavoda za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

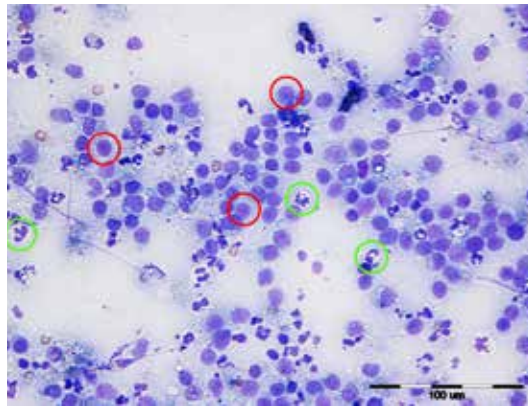
U ovom su istraživanju ponovno mikroskopski pregledani svi citološki preparati izvorno dijagnosticirani kao pseći kutani histiocitom na Zavodu za veterinarsku patologiju u razdoblju od 1. siječnja 2009. do 31. prosinca 2018. Za ove su preparate određene citološke karakteristike koje uključuju staničnost, omjer jezgre i citoplazme, anizocitozu, anizokariozu i nekrotični debris.

Procjena staničnosti citološkog preparata subjektivni je dojam o količini stanica na preparatu: visoka, umjerena i niska staničnost.

Omjer jezgre i citoplazme odnosio se samo na histiocite (slika 1). U citološkim preparatima histiociti su vidljivi kao velike okrugle do ovalne stanice veličine 12 – 26  $\mu\text{m}$  s ekscentrično smještenom velikom okruglom do ovalnom jezgrom s fino zrnatim kromatinom (Duncan i Prasse,



**Slika 1.** Prikaz histiocita (crveni kružići) na mikroskopskom povećanju 40X, bojenje May-Grunwald-Giemsa (MGG) (Kampuš, 2019.).



**Slika 2.** Prikaz histiocita (crveni kružići) i neutrofila (zeleni kružići) na povećanju 40X, bojenje May-Grunwald-Giemsa (MGG) (Kampuš, 2019.).

1979.). Citoplazma je blijedo bazofilna, a omjer jezgre i citoplazme najčešće je nešto veći od 1:1 (Duncan i Prasse, 1979.).

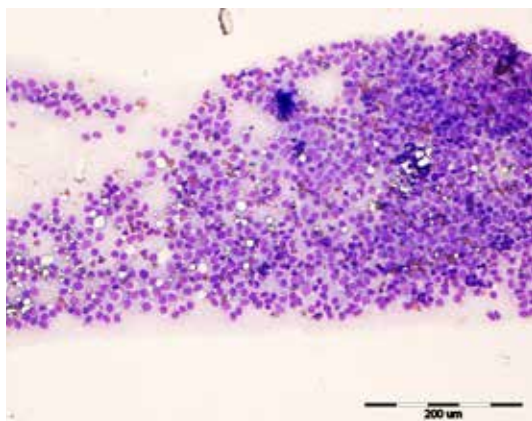
Pojam anizocitoza odnosi se na promjenu veličine stanica iste populacije te može upućivati na maligni proces (Cowell i sur., 2008.). U radu je određivana prisutnost ili odsutnost anizocitoze histiocita.

Promjene u veličini jezgre stanica iste populacije nazivaju se anizokarioza (Cowell i sur., 2008.). Određivana je prisutnost ili odsutnost anizokarioze histiocita.

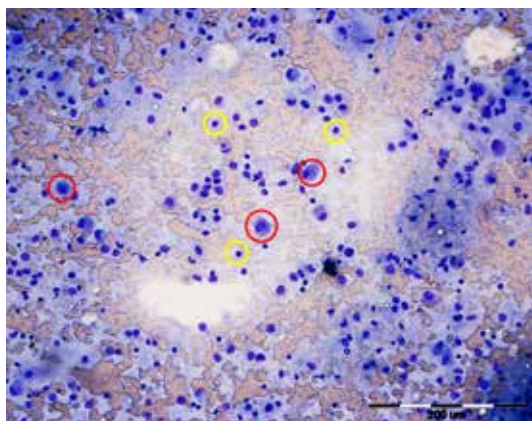
Limfociti su male okrugle upalne stanice znatno veće od eritrocita, s velikom okruglom jezgrom koja zauzima gotovo cijelu stanicu, dok citoplazma zauzima mali periferni dio (Albanese, 2017.). Na svakom preparatu određivao se broj limfocita unutar prebrojanih 100 stanica te se postupak za svaki preparat ponovio pet puta (ukupno prebrojano 500 stanica jednog preparata). Rezultat je prikazan postotkom (%).

Zreli neutrofil (slika 2) karakteristični su po segmentiranoj jezgri (3 – 5 segmenata), a cito-

**Slika 3.** Prikaz visoko celularnog preparata pod mikroskopskim povećanjem 20X, bojenje May-Grunwald-Giemsma (MGG) (Kampuš, 2019.).



**Slika 4.** Prikaz histiocita (crveni kružići) i limfocita (žuti kružići) na povećanju 20X, bojenje May-Grunwald-Giemsma (MGG) (Kampuš, 2019.).



plazma je sivoplave boje jer se klasičnim metodom bojenja preparata ne mogu uočiti granule u njoj kao što je to slučaj kod bazofila i eozinofila (Albanese, 2017.). Na svakom preparatu broj neutrofila određivao se na jednak način kao i broj limfocita.

Nekrotični debris čine ostaci nekrotičnog materijala u pozadini citološkog preparata.

Fotografije su izrađene pomoću sustava za mikroskopsku digitalnu fotografiju OLYMPUS Camera Software DP-20 i programa Cell B.

## REZULTATI

Dobiveni podaci podijeljeni su u dvije kategorije, koje uključuju opće podatke o pacijentu i novotvorini (datum dostave, pasmina, dob, spol, lokalizacija novotvorine i dijagnoza) te citološke karakteristike (staničnost, omjer jezgre i citoplazme, anizocitoza, anizokarioza, udio limfocita i neutrofila te prisutnost nekrotičnog debris).

## Opći podaci o pacijentu i novotvorini

Prema podacima o datumu dostave preparata uočen je proporcionalan porast broja uzoraka s godinama. U ovo je istraživanje bilo uključeno 40 % uzoraka iz 2017., zatim 20 % uzoraka iz 2015. godine, dok na 2016. i 2013. godinu otpada 10 % uzoraka po godini i 5 % uzoraka po godini za 2012., 2011., 2010. i 2009. godinu. O broju poslanih uzoraka ovisi i udaljenost od željenog laboratorija u koji se šalju uzorci. U ovom je istraživanju 55 % uzoraka dostavljeno s Klinika Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, dok je 45 % uzoraka dostavljeno iz privatnih ambulanti. Pritom je samo 10 % uzoraka potjecalo iz ambulanta izvan Zagreba.

Od ukupnog broja uzoraka najveći su udio činili oni uzorkovani od pasa mješanaca (15 %). Slijede ih pasmine *shih-tzu* i bokser (10 %, tj. dva uzorka po pasmini), dok je udio ostalih pasmina bio 5 % po pasmini (*cane corso*, mops, stafordski bulterijer, zapadnoškotski bijeli terijer, patuljasti šnauer, doberman pinč, kavalirski španijel kralja Charlesa, Parson Russell terijer, argentinska doga, jazavčar, alpski brak jazavčar i njemačka doga).

Raspon dobi pacijenata bio je od 3 mjeseca do 5 godina starosti. Pacijenti dobi 1 i 2 godine čine 60 % (1 god – 30 %; 2 god – 30 %), dok u trećoj godini čine 15 % pregledanih uzoraka. Pacijenti dobi do godine dana zastupljeni su s 15 %, dok 10 % čine pacijenti u četvrtoj i petoj godini (svaki po jedan uzorak, tj. 5 %). Prosječna dob iznosi 22,5 mjeseci. Od ukupnog broja uzoraka 60 % pripada mužjacima, a 40 % ženka.

Lokacija novotvorine bila je poznata za 16/20 uzoraka. Podijeljene su u tri velike kategorije: glava i vrat, ekstremiteti i trup. Najveći broj novotvorina uzorkovan je s područja glave i vrata te čini 38 %. Kategorije trupa i ekstremiteta čine svaka po 31 %.

## Citološke karakteristike

Staničnost citološkog preparata prvi je kriterij koji je bio procijenjen. Najveći broj uzoraka svrstan je u kategoriju umjerene staničnosti (50 %). Visokostanično bilo je 35 %, a niskostanično 15 % uzoraka. Slika 3 prikazuje visokostanični preparat pod povećanjem mikroskopa 20 x.



U ovom radu omjer jezgre (J) i citoplazme (C) histiocita određen je kao visok (J : C = 2 : 1) u 70 % uzoraka, umjeren (J : C = 1 : 1) u 30 %, dok ni jedan nije svrstan u nizak omjer (J : C = 1 : 2).

Od ukupnog broja preparata u njih 75 % utvrđena je anizocitoza, dok je u ostalih 25 % nje bilo.

Jednako kao anizocitoza, anizokarioza bila je prisutna u 75 %, a odsutna u 25 % preparata.

Limfociti su bili prisutni u svim preparatima ovog istraživanja. Najmanji udio iznosio je 0,2 %, a najveći 17,4 %, dok je prosječan udio iznosio 6,6 %. Na slici 4 uz histiocite vidljivi su limfociti.

Od ukupnog broja preparata samo u jednom nisu utvrđeni neutrofilni. Najveći udio iznosio je 47 %, najmanji 0,2 %, dok je prosječan udio iznosio 9,42 %.

Završni kriterij koji se procjenjivao bila je prisutnost, tj. odsutnost nekrotičnog debris. Nekrotični debris bio je prisutan u 80 % uzoraka.

## RASPRAVA

Broj citoloških preparata s godinama je rastao na Zavodu za veterinarsku patologiju, što se može povezati s prepoznavanjem brojnih prednosti citološke pretrage koje uključuju brzinu, cijenu, jednostavnost, postavljanje dijagnoze te planiranje terapije (Radin i Wellman, 2001.). Najveći broj uzoraka (90 %) dostavljen je iz grada Zagreba, u kojemu se nalazi i Veterinarski fakultet, a 55 % uzoraka dostavljeno je s Klinika fakulteta te se postavlja pitanje bi li organiziranjem bolje dostave materijala Zavod za veterinarsku patologiju dobio veći broj uzoraka iz udaljenijih krajeva Hrvatske.

U ovom istraživanju najveći broj uzoraka potječe od mješanaca (3/20) što odudara od rezultata drugih autora. Taylor i suradnici (1969.) smatraju da čistokrvne pasmine imaju veću predispoziciju za pojavu psećeg kutanog histiocitoma. Prema učestalosti nakon mješanaca dolaze bokser (2/20) i *shih-tzu* (2/20), što se podudara s autorima (Fulmer i Mauldin, 2007.) koji tvrde da su brahicefalične pasmine predisponirane.

Potvrđena je veća pojavnost bolesti kod pasa mlađe životne dobi. Čak 60 % uzoraka pripada psima od jedne ili dvije godine starosti, što se podudara s rezultatima ostalih istraživanja

(Moore, 2017.), kod kojih je pojavnost bolesti znatno učestalija do treće godine starosti. Većina autora smatra da ne postoji spolna predispozicija, dok je u ovom istraživanju udio mužjaka (60 % : 40 %) što se može objasniti relativno malim brojem uzoraka.

Pakhrin i suradnici (2007.) u istraživanju navode da pojavnost psećeg kutanog histiocitoma na području glave i vrata iznosi 30,36 %, ekstremiteta 35,71 %, trupa 19,64 % i repa 1,78 %, što se podudara s najvećom pojavnošću na glavi i vratu, ekstremitetima i trupu u ovom istraživanju.

Staničnost je procijenjena kao umjerenjena u 50 %, visoka u 35 %, dok je 15 % uzoraka niskostanično. Većina autora opisuje da površinski dio tumora sadržava više samostalnih stanica, dok se u dubljim slojevima nalaze gusto zbijene tumorske stanice u formacijama tzv. plahti. Može se zaključiti da staničnost uzoraka najvjerojatnije ovisi o načinu i metodi uzorkovanja.

Omjer jezgre i citoplazme u ovom istraživanju procijenjen je kao visok u 70 %, a umjeren u 30 % slučajeva, dok u ni jednom uzorku on nije procijenjen kao nizak. U uzorcima s visokim omjerom J : C prosječna infiltracija limfocitima iznosi 5,49 %, a u uzorcima s umjerenim omjerom 9,22 %, što se podudara s istraživanjem Pazdzior-Czapule i suradnika (2014.) koje govori o pozitivnoj korelaciji infiltracije limfocita s nižim omjerom jezgre prema citoplazmi, a time i o korelaciji s tumorskom regresijom.

Anizocitoza i anizokarioza utvrđeni su u 75 % uzoraka, a obje se promjene istodobno nalaze u istim uzorcima. U uzorcima s izraženom anizocitozom i anizokariozom prosječna limfocitna infiltracija iznosi 7,05 %, što je neznatno više od prosječne limfocitne infiltracije svih uzoraka (6,6 %). Prisutnost anizocitoze i anizokarioze prati rast intenziteta limfocitne infiltracije, a time i regresija tumora, što se podudara s istraživanjem Pazdzior-Czapule i suradnika (2014.).

Infiltracija limfocita u ovom je istraživanju nađena u 100 % preparata. U uzorku s maksimalnim postotkom infiltracije od 17,4 % prisutna je anizocitoza, anizokarioza te omjer jezgre i citoplazme procijenjeni su kao umjereni, što je u skladu s primijećenom pozitivnom korelacijom jačine limfocitne infiltracije s promjenama

stanice u obliku i veličini te negativnom korelacijom s omjerom jezgre i citoplazme (Pazdzior-Czapula i sur., 2014.). Time se može zaključiti da je limfocitna infiltracija izravno povezana s tumorskom regresijom, kao što dokazuju i ostali autori.

Taylor i suradnici (1969.) ulceracije tumora izravno povezuju s povećanim brojem neutrofila u uzorcima. U ovom su istraživanju neutrofil potvrđeni u 95 % preparata. U 80 % uzoraka utvrđen je nekrotični debris. U uzorku s najvećim udjelom neutrofila (47 %) potvrđena je i prisutnost nekrotičnog debrisa te se time predlaže podudarnost s prijašnjim istraživanjima, gdje je infiltracija neutrofila povezana s ulceracijama i nekrotičnim žarištima tumora. Zbog nedostatnih informacija prije citološke obrade (prisutnost ili odsutnost ulceracija) ne može se sa sigurnošću utvrditi povezanost neutrofila i ulceracije u ovom istraživanju.

Zaključno, u ovom su istraživanju potvrđene prijašnje spoznaje o psećem kutanom histiocitomu. Potvrđena je incidencija učestalosti pojave u mlađoj životnoj dobi (najčešće u prvoj i drugoj godini starosti), glava i ekstremiteti kao najčešća lokacija pojave tumora te postojanje pasminske predispozicije (brahicefalične pasmine, npr. bokser, *shih-tzu*), dok spolna predispozicija nije dokazana. Iako se, zbog ograničenosti dostupnih informacija, nismo koristili objektivnim indikatorima tumorske regresije (klinički parametri, dodatni imunohistokemijski markeri), zaključno možemo reći da rezultati ovog istraživanja upućuju na povezanost regresije s povećanom infiltracijom limfocita, udjelom anizocitoze i anizokarioze te smanjenim omjerom jezgre i citoplazme, dok udio neutrofilne infiltracije nije jasno povezan s regresijom.

## LITERATURA

- ALBANESE, F. (2017): Canine and Feline Skin Cytology. A Comprehensive and Illustrated Guide to the Interpretation of Skin Lesions via Cytological Examination, Springer International Publishing. Cham.
- COWELL, L. R., R. D. TYLER, J. H. MEINKOTH, D. B. DENICOLA (2008): Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat, Mosby Elsevier. str. 1-71.

- DUNCAN, J. R., K. W. PRASSE (1979): Cytology of Canine Cutaneous Round Cell Tumors: Mast Cell Tumor, Histiocytoma, Lymphosarcoma and Transmissible Venereal Tumor. *Vet. Pathol.* 16, 673-679.
- FULMER, A. K., G. E. MAULDIN (2007): Canine histiocytic neoplasia. *Can. Vet. J.* 48, 1041-1049.
- KAMPUŠ, A. (2019): Kanini kutani histiocitom: Citološke karakteristike - retrospektivni prikaz slučajeva dijagnosticiranih na Zavodu za veterinarsku patologiju 2009. – 2018. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, Hrvatska.
- MOORE, P. F. (2017): Canine and Feline Histiocytic Diseases. U: Tumors in domestic animals. (Meuten, D. J., ur.). Wiley Blackwell. Ames. str. 322-336.
- PAKHRIN, B., M. KANG, I. BAE, M. PARK, H. JEE, M. YOU, J. KIM, B. YOON, Y. CHOI, D. KIM (2007): Retrospective study of canine cutaneous tumors in Korea. *J. Vet. Sci.* 8, 229-236.
- PAZDZIOR-CZAPULA, K., I. OTROCKA-DOMAGALA, T. ROTKIEWICZ, M. GESEK (2014): Cytomorphometry of canine cutaneous histiocytoma. *Pol. J. Vet. Sci.* 17, 413-420.
- RADIN, M., J., M. L. WELLMAN (2001): Interpretation of Canine and Feline Cytology, Ralston Purina Company Clinical Handbook Series. St. Louis. str. 1-8.
- TAYLOR, D. O., C. R. DORN, O. P. LUIS (1969): Morphologic and Biologic Characteristics of the Canine Cutaneous Histiocytoma. *J. Cancer Res.* 29, 83-92.