

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Escola de Medicina Veterinária**

**Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária**

Mateus Ferreira de Sousa

**RELATO DE CASO: HISTIOCITOSE REATIVA EM UM CÃO**

Belo Horizonte

2023

Mateus Ferreira de Sousa

## **RELATO DE CASO: HISTIOCITOSE REATIVA EM UM CÃO**

Monografia de especialização apresentada ao Programa de Residência Integrada em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título Especialista em Patologia Clínica Veterinária.

Orientador: Paulo Ricardo de Oliveira  
Paes

Belo Horizonte

2023

S725r Sousa, Mateus Ferreira de, 1997-  
Relato de caso: histiocitose reativa em um cão / Mateus Ferreira de Sousa. – 2023.  
43 f.  
Inclui bibliografia: f. 39-43.  
Tutor: Paulo Ricardo de Oliveira Paes.  
Monografia apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Medicina Veterinária.  
I- Cão – doenças – Teses. 2- Sistema imunológico – doenças – Teses. I – Paes, Paulo Ricardo de Oliveira. II – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III- Título.  
CDD – 636.089

ATA DE DEFESA DE TCR DE MATEUS FERREIRA DE SOUSA (nome residente)

Às 10:00 horas do dia 20 / 11 / 2023, reuniu-se, na Escola de Veterinária da UFMG a Banca Examinadora do Trabalho de Conclusão do Curso, para julgar em exame final, a defesa do TCR intitulado:

**RELATO DE CASO: HISTIOCITOSE REATIVA EM UM CÃO**, como requisito final para a obtenção do Título de Especialista em **PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA**.

Abrindo a sessão, o Presidente da Banca, **PAULO RICARDO DE OLIVEIRA PAES**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares da Defesa do TCR, passou a palavra ao candidato(a), para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa do(a) candidato(a). Logo após, a Banca se reuniu, sem a presença do(a) candidato(a) e do público, para julgamento da TCR, tendo sido atribuídas as seguintes indicações:

	Aprovada	Reprovada
Prof. <u>Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. <u>Jéssica Ragazzi Calessio</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. <u>Paulo Ricardo de Oliveira Paes</u>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Prof. _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

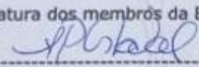
Pelas indicações, o (a) candidato (a) foi considerado (a):  Aprovado  
 Reprovado

Nota: 95,0

Para concluir o Programa, o(a) candidato(a) deverá entregar 3 volumes encadernados da versão final do TCR, acatando, se houver as modificações sugeridas pela banca, Para tanto terá o prazo máximo de 30 dias a contar da data da defesa.

O resultado final, foi comunicado publicamente ao(a) candidato(a) pelo Presidente da Banca. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Banca Examinadora.

Belo Horizonte, 20 de novembro de 2023.

Assinatura dos membros da Banca:  


Documento assinado digitalmente  
**goub** JESSICA RAGAZZI CALESSIO  
 Data: 21/11/2023 20:54:58 -0300  
 Verifique em <https://validar.jf.gov.br>

*Prof. Paulo Ricardo Paes*  
 -----  
 PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA  
 CRMV-MG 8619

**(Este documento não terá validade sem assinatura e carimbo do Coordenador e não poderá conter rasuras)**



## **AGRADECIMENTOS**

A quem pude confiar, amar, me abrigar e ser abrigo. A quem se manteve presente, ou ausente, na minha presença e ausência. A quem teve paciência, e pra quem a perdeu em algum momento.

Enfim, a quem me acompanhou de perto, ou de longe, meu muito obrigado. Vocês são incríveis.

## RESUMO

A histiocitose reativa (HR) canina faz parte de um grupo de desordens proliferativas de células histiocíticas, que inclui o histiocitoma, histiocitose reativa cutânea (HRC), histiocitose reativa sistêmica (HRS), sarcoma histiocítico e sarcoma histiocítico hemofagocítico. Para o diagnóstico preciso dessas enfermidades, além do histórico clínico e exames citológicos e histopatológicos, frequentemente é necessário o uso da imuno-histoquímica (IHQ). A HRC e HRS, que têm origem em células dendríticas intersticiais CD1+, CD11c+, MHC-II+, CD4-, Thy-1+ e E-cad-, são pouco relatadas na literatura. A HRC é caracterizada por lesões cutâneas em forma de botão, podendo estender em pequenas placas ou em forma anelar. Quando há o acometimento sistêmico de mucosas, linfonodos e órgãos internos, a enfermidade é classificada como HRS. O presente trabalho relata um caso com características clínicas e citológicas de HR, possivelmente HRS, em um paciente canino da raça dachshund, fêmea, com 12 anos de idade, apresentando lesões crostosas em região de pescoço, focinho e extremidade dos membros, com acometimento do plano e mucosas nasais e oculares. Foi realizada punção aspirativa por agulha fina (PAAF) das lesões para avaliação citológica, onde foi observado concentração intensa de células ovaladas com núcleo alongado, característico de células histiocíticas que, nesse caso, apresentaram baixo pleomorfismo. Associados à esse tipo celular, estavam presentes linfócitos, plasmócitos e neutrófilos, mas não foram observadas outras células teciduais ou microrganismos. A avaliação citológica, associada ao histórico clínico de lesões intermitentes, permitiu a sugestão diagnóstica de HRC, que não foi confirmada por IHQ por não estar comercialmente disponível para essa enfermidade em nosso país. Com o exame de imagem foi possível levantar a suspeita de HRS devido às características radiográficas de um nódulo em topografia de pulmão. O tratamento, inicialmente realizado com uso de corticosteroides e antibioticoterapia, não apresentou resultados satisfatórios, sendo alterada a prescrição e iniciada terapia imunossupressora com azatioprina e prednisolona, que resultou em remissão parcial ou total das lesões, com melhora no quadro clínico geral do paciente. O objetivo deste trabalho é aumentar a base de dados na literatura científica, detalhando as etapas de diagnóstico e tratamento de HR em um cão, de forma a auxiliar na elucidação de novos casos e servindo como auxílio no diagnóstico citológico da enfermidade.

Palavras-chave: cão, células dendríticas, citologia, diagnóstico, histiocitose reativa canina

## ABSTRACT

Reactive histiocytosis (RH) is part of a group of proliferative disorders of histiocytic cells, including histiocytoma, cutaneous reactive histiocytosis (CRH), systemic reactive histiocytosis (SRH), histiocytic sarcoma (HS) and hemophagocytic histiocytic sarcoma. For precise diagnosis of these diseases, besides the clinical history and cytologic or histopathologic exams, it is often necessary to use immunohistochemistry (IHC). CRH and SRH, which have their origin in interstitial dendritic cells CD1+, CD11c+, MHC-II+, CD4-, Thy-1 and E-cad, are rarely reported in literature. CRH is characterized by button-shaped cutaneous lesions, which may extend to small plaques or ring shapes. When there is systemic involvement of mucous membranes, lymph nodes and internal organs, the disease is classified as SRH. The present study related a case with clinical and cytological characteristics of RH, possibly SRH, in a female dachshund canine patient, with 12-year-old, presenting crusted lesions in neck, snout and limb extremities, with ocular and nasal plane involvement. Fine needle aspiration of lesions was performed for cytological examination, where was observed intense concentration of oval cells with elongated nucleus, characteristic of histiocytic cells which, in this case, showed low pleomorphism. Associated with this cellular type, there were lymphocytes, plasma cells and neutrophils, but no other tissue cells or microorganisms were observed. Cytological evaluation, associated to clinical history of intermittent lesions, allowed the diagnostic suggestion of SRH, which was not confirmed by IHC as it is not commercially available for this disease in our country. Imaging evaluation allowed the suspicion of CRH, due to radiographic characteristics of a lung topography nodule. Treatment, initially made with corticosteroids and antibiotic therapy, did not show satisfactory results, having the prescription changed and immunosuppressive therapy with azathioprine and prednisolone was initiated, resulting in total or partial lesion remission, with improvement in patient's general clinical condition. The aim of this study is to increase the data base in scientific literature, detailing diagnosis stage and treatment of RH in a dog, to elucidate new cases and assist cytological examination of this disease.

**Key-words:** canine reactive histiocytosis, cytology, dendritic cells, diagnostic, dog.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Esquema da linhagem das células histiocíticas e suas desordens proliferativas histiocíticas correspondentes.....16
- Figura 2** – Histiocitose Reativa Cutânea em Cães: **A.** Múltiplas pápulas e nódulos eritematosos, alopecicos e ulcerados em focinho de cão (seta). **B.** Lesão por HRC e edema em focinho de cão. **C.** Nódulos múltiplos formando placa em região peitoral de cão com HRC. **D.** Grandes placas ulceradas com formato anelar em área de esterno em um cão da raça Golden retriever.....21
- Figura 3** – Histiocitose reativa cutânea canina. **A.** Infiltrado perivascular de células dendríticas e linfócitos, bem delimitado, localizado em derme e coalescendo ao subcutâneo para formar uma lesão em botão (*botton heavy*). **B.** Lesão perivascular com vasculite linfocitocítica (seta e aumento) .....23
- Figura 4** – Exame histopatológico de histiocitose reativa cutânea. **A:** múltiplos nódulos dermais confluentes e profundos. Infiltrado celular perivascular (seta). **B:** Exame histopatológico de histiocitose reativa cutânea: em grande aumento, pode ser observado grandes células histiocíticas (seta vermelha) associadas à pequenos linfócitos (ponta de seta amarela).....23
- Figura 5** – Citologia de histiocitose reativa cutânea. **A.** Histiócitos com núcleos ovalados a riniformes (seta vermelha). Alguns linfócitos livres podem ser observados (seta amarela). **B.** Histiócitos com núcleos ovalados a riniformes, apresentando margens citoplasmáticas pouco delimitadas (seta vermelha).....25
- Figura 6** – **A.** Inflamação macrofágica: macrófagos de diferentes tamanhos, com citoplasma multivacuolizado e núcleos redondos a ovalados (seta). **B.** Granuloma: células epitelióides (seta) com citoplasma basofílico dispostas ao redor de queratinócito.....26
- Figura 7** – **A.** Histiocitoma: células redondas, com núcleos redondos a ovalados e citoplasma discretamente basofílico e bem delimitado, apresentando pleomorfismo



moderado. B. Sarcoma histiocítico: presença de células apresentando anisocitose e anisocariose intensa, com presença de células multinucleadas (setas pretas) e nucléolos múltiplos e proeminentes (seta amarela).....27

**Figura 8** – A. Lesões nodulares de consistência firme, aderidos à derme, não alopecicos e não ulcerados (setas amarelas). B. Lesões em placa em região peitoral e de pescoço (setas vermelhas).....29

**Figura 9** – A. Lesões crostosas em face, focinho, lábios e região periorcular (setas amarelas). B. Lesão crostosa em focinho e plano nasal (seta vermelha), com presença de edema (seta preta) e espessamento da mucosa e estreitamento do lúmen nasal (ponta de seta azul).....30

**Figura 10** – Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Fundo de lâmina composto por material amorfo basofílico, vacúolos de gordura e concentração intensa de hemácias. Presença de concentração intensa de células histiocíticas e concentração moderada de linfócitos e neutrófilos (objetiva de 10x) .....31

**Figura 11** – Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Fundo de lâmina composto por material amorfo basofílico, vacúolos de gordura e hemácias. Presença de histiócitos arredondados a ovalados (setas e cabeças de seta vermelhas), dispostos de forma livre, com núcleos ovalados- alongados (setas vermelhas) ou em formato riniforme (cabeças de seta vermelhas), pequenos linfócitos (setas amarelas), plasmócitos (cabeça de seta amarela) e de neutrófilos (objetiva de 40x).....32

**Figura 12** – Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Feixes de vasos sanguíneos (seta preta) associados a células histiocíticas (seta vermelha), linfócitos (ponta de seta amarela), plasmócitos (seta amarela) e neutrófilos (ponta de seta preta).....32

**Figura 13** – Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Feixe de vaso sanguíneo (seta preta) e matriz extracelular associados a células histiocíticas (seta vermelha) e linfócitos (seta amarela) (objetiva de 40x).....33

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1** – Tabela com valores de hemograma seriados realizados após início do tratamento com Azatioprina para monitoramento da resposta medular.....34

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

$\alpha$  - Alfa

$\beta$  - Beta

BID - Duas vezes ao dia

CD - Célula Dendrítica

CL - Célula de Langerhans

CTH - Células Tronco Hematopoiéticas

FEC-GM - Fator Estimulante de Crescimento de Colônia – Granulocítica e Monocítica

FEC-M - Fator Estimulante de Crescimento de Colônia - Monocítica

HV - Hospital Veterinário

HR - Histiocitose Reativa

HRC - Histiocitose Reativa Cutânea

HRS - Histiocitose Reativa Sistêmica

IL - Interleucina

Kg – quilograma

LT – Leucócitos Totais

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

mg - miligrama

PAF - Punção por Agulha Fina

PAAF - Punção Aspirativa por Agulha Fina

SID - Uma vez ao dia

SH - Sarcoma Histiocítico

TGF - Fator de Transformação do Crescimento

TNF - Fator de Necrose Tumoral

UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais

VG – Volume Globular

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO.....	13
2.1. Desordens proliferativas histiocíticas .....	13
2.2. Células dendríticas .....	16
2.3. Células de Langherans .....	18
2.4. Histiocitose reativa canina .....	18
2.4.1. Histiocitose Reativa Cutânea (HRC).....	20
2.4.2. Histiocitose Reativa Sistêmica (HRS).....	21
2.5. Epidemiologia.....	22
2.6. Diagnóstico .....	22
2.6.1. Diagnóstico Citológico .....	24
2.6.1.1. Características citológicas de outras proliferações histiocíticas .....	25
2.7. Tratamento .....	27
3. CASO CLÍNICO .....	28
4. DISCUSSÃO.....	35
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	37
6. REFERÊNCIAS .....	39

## **1. INTRODUÇÃO**

A histiocitose reativa canina faz parte de um grupo de doenças caracterizadas como desordens proliferativas de células histiocíticas que acomete cães, porém pouco descrita na literatura, sendo os principais dados baseados em estudos retrospectivos e relatos de caso (Clifford *et al.*, 2012). A histiocitose reativa canina pode ser dividida em histiocitose reativa cutânea (HRC) e histiocitose reativa sistêmica (HRS). São doenças relacionadas a um desequilíbrio do sistema imunológico, que pode ocorrer em uma faixa etária prolongada (2 a 11 anos), sem predileção por sexo ou raça (Moore, 2023).

Tanto a HRC quanto a HRS apresentam lesões semelhantes que diferem pela localização afetada. A HRC acomete tecido cutâneo e subcutâneo, com maior ocorrência em extremidades como focinho, face e pescoço, podendo acometer também linfonodos regionais (Palmeiro, 2008). Já a HRS apresenta lesões cutâneas semelhantes às encontradas na HRC, porém, acomete também linfonodos distantes, mucosas nasal e ocular e órgãos internos (Moore, 2014). As lesões se assemelham tanto macro quanto microscopicamente, onde há predomínio de células dendríticas associados à linfócitos, plasmócitos e ocasionais neutrófilos (Moore, 2017).

Por ser uma enfermidade rara e pouco descrita, os tratamentos se baseiam em terapias imunossupressoras e imunomoduladoras, com o intuito de reduzir a resposta inflamatória, produção e migração de novas células histiocíticas (Palmeiro, 2008; Moore, 2014; Fisher, 2020). Tais fatos contribuem também para a dificuldade no diagnóstico dessas enfermidades, uma vez que não há marcação imunofenotípica acessível de forma comercial.

## **2. REVISÃO**

### **2.1.Desordens proliferativas histiocíticas**

As doenças histiocíticas são um grupo de enfermidades causadas por desordem proliferativa de células histiocíticas que afetam cães e gatos, com maior prevalência em

cães (Moore, 2014; Moore, 2017; Moore 2023). São doenças que podem afetar tanto a pele quanto órgãos internos, a depender das características fisiopatológicas e de distribuição no organismo (Moore, 2023). Essas desordens apresentam diagnóstico desafiador devido às semelhanças entre outras doenças neoplásicas ou não neoplásicas, como o caso de doenças linfoproliferativas e granulomas (Clifford *et al.* 2012, Clifford *et al.*, 2019).

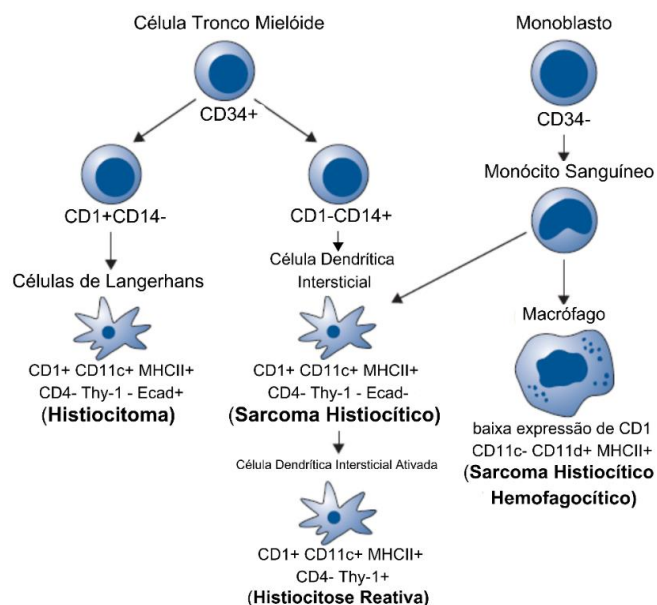
A etiologia e patogênese dessas doenças são ainda pouco conhecidas na medicina veterinária. Tais desordens podem ser divididas funcionalmente entre tumores de células dendríticas ou de macrófagos, sendo ainda subdivididos de acordo com a distribuição da lesão em localizada ou sistêmica (Clifford *et al.*, 2012; Moore, 2014; Clifford *et al.*, 2019). Em cães são reconhecidas quatro grupos de doenças histiocíticas: histiocitose reativa (classificada em cutânea ou sistêmica), histiocitoma, sarcoma histiocítico (também subdividido em cutâneo ou sistêmico) e síndrome hemofagocítica (ou sarcoma histiocítico hemofagocítico) (Moore 2014; Clifford *et al.*, 2019).

Com o uso de metodologias diagnósticas através de marcações moleculares por anticorpos específicos monoclonais em testes de imunocitoquímica, imuno-histoquímica e imunofenotipagem por citometria de fluxo, reconhece-se a causa e é possível realizar a diferenciação entre os tipos celulares e definir qual doença afeta o organismo (Clifford *et al.* 2012).

Os histiócitos são células da linhagem monocítica/macrofágica, células de Langerhans (CLs) da pele, células dendríticas (CDs) da derme, CDs interdigitantes de linfonodos, timo e baço e CDs reticulares do centro germinativo dos linfonodos. Os histiócitos se originam de células precursoras CD34+ da medula óssea e se diferenciam em macrófagos e uma de três linhagens de células dendríticas: CDs epiteliais ou CLs da pele, CD da derme, CDs intersticiais em alguns órgãos e CDs interdigitantes (células apresentadoras de antígenos localizadas na zona de T em linfonodos (Ricklin, 2010; Clifford *et al.*, 2019; Moore, 2022; Moore, 2023).

O destino de células tronco CD34+ é altamente influenciado pela presença de combinações específicas de citocinas, incluindo fatores estimulantes de colônias granulócito-monócito (FEC-GM), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), fator estimulante de colônia de macrófagos (FEC-M), fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ) e interleucina-4 (IL-4). FEC-GM e FEC-M induzem o desenvolvimento de macrófagos a partir de monoblastos CD34-, enquanto células tronco CD34+ são influenciadas por FEC-GM, TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-4 se desenvolvendo em CDs (Ricklin, 2010; Clifford *et al.* 2012; Moore 2014; Moore, 2017; Moore, 2023).

Os macrófagos, que são células diferenciadas a partir de monócitos circulantes do sangue periférico, têm como principal função a realização de fagocitose, fazendo, deste modo, parte da defesa contra microrganismos e removendo partículas orgânicas ou inorgânicas (Clifford *et al.* 2012). Já as CDs funcionam como sentinelas no reconhecimento de antígenos e são responsáveis por iniciar a resposta imunológica apresentando os antígenos às células T sensíveis durante a resposta imunológica primária (Merad, 2008; Ricklin, 2010; Moore, 2017). Portanto, as CDs possuem como função principal a apresentação de antígenos, e podem ser subdivididas em CDs intraepiteliais (ou também CL) presente na pele e no epitélio de mucosas, CDs foliculares presentes nos centros germinativos de tecidos linfoides, CDs intersticiais presentes em órgãos não-linfoides e CDs interdigitantes presente em áreas ricas em linfócitos T em tecidos linfoides (Ricklin, 2010; Moore, 2014).



**Figura 1.** Esquema da linhagem das células histiocíticas e suas desordens proliferativas histiocíticas correspondentes (Adaptado de Clifford, Scorupski e Moore., 2012).

## 2.2. Células dendríticas

As células dendríticas (CDs) são derivadas de células tronco pluripotentes hematopoiéticas (CTH) da medula óssea (Zanna, 2021). As CDs são células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen presenting cells*), e chamadas de células dendríticas por eventualmente apresentarem projeções citoplasmáticas quando maduras (Chen, 2016).

As CDs trabalham como células sentinela no sistema imunológico e são encontradas em todas as partes do corpo, incluindo a pele, sangue periférico, superfícies de mucosa, tecidos linfoides e não-linfoides (Abbas, 2022). São consideradas as principais células apresentadoras de antígeno devido à capacidade de apresentar antígenos para linfócitos T sensíveis, induzindo respostas inflamatórias inatas contra o patógeno de forma eficaz, preparando células imaturas, bem como, ativando e gerando memória imunológica em linfócitos T e também induzindo a ativação de linfócitos B (Zanna, 2021).



As CDs também estão envolvidas em outras funções imunológicas significativas, mantendo a homeostase imunológica em estado estacionário através da apresentação contínua de autoantígenos derivados de tecidos para as células T CD4+ e CD8+, levando assim, à tolerância quanto a esses anticorpos apresentados (Zanna, 2021). Também são reconhecidas como o centro do sistema imunológico, pois fazem uma importante ligação entre a resposta imune inata e a adaptativa.

As CDs constituem um grupo heterogêneo de leucócitos, e são encontradas na maior parte do corpo, mas com diferentes origens, localizações anatômicas e marcadores de superfície (Merad, 2013). As CDs em humanos e camundongos são originadas a partir de CTH da medula óssea, que são derivadas de precursores linfoides ou mieloides (Dress *et al.*, 2019; Zanna, 2021). Os achados fenotípicos e localização anatômica destes precursores diferem, mas ambas células dendríticas mieloides e linfoides de humanos e camundongos expressam alta concentração de CD11c, MHC-II, e moléculas CD40, CD80, CD83 e CD86. Ainda, podem se diferenciar baseados em marcadores CD1, CD8 $\alpha$  e DEC205 (Shortman, 2010).

As CDs dendríticas mieloides são principalmente localizadas na zona marginal do baço, enquanto que as células dendríticas de origem linfóide estão em áreas de células T no baço e linfonodos, principalmente em bainhas linfáticas periarteriais. Mesmo que ambas CD sejam originados do mesmo precursor, eles possuem papéis diferentes na regulação da ativação de células B e na diferenciação de células T em Th-1 e Th-2, e em termos de expressão de marcadores de superfície. CD mieloides expressam CD14+/CD11C+/CD1- e CD14-/CD11C+/CD1+, enquanto CD linfoides expressam CD14-/CD11C-/IL3R $\alpha$  (Zanna, 2021).

Os marcadores de superfície CD14+/CD11C+/CD1- expressos pelas células dendríticas mieloides possuem alta capacidade fagocítica bem como endocítica quando comparado com precursores linfoides CD14-/CD11C+/CD1+. Ademais, ambas células de Langerhans e células dendríticas intersticiais possuem alta capacidade de estimulação de linfócitos T sensíveis, embora células dendríticas intersticiais também apresentaram papel importante na ativação e diferenciação de células B sensíveis *in vitro* (Zanna, 2021).

### 2.3. Células de Langerhans

As células de Langerhans (CL) são leucócitos derivados da medula óssea e localizados na epiderme e no epitélio dos tratos intestinal, respiratório e reprodutivo (Moore, 2014). Embora o termo “células de Langerhans” seja principalmente utilizado para se referir às células dendríticas da epiderme, o termo também se estende para células dendríticas de todo o epitélio estratificado (Merad, 2008). Na epiderme, as CLs compõem cerca de 3 a 5% de todas as células nucleadas da epiderme em humanos e camundongos e são arranjadas em uma rede que ocupa o interstício entre os queratinócitos (Valladeau e Saeland, 2005).

Tanto em camundongos quanto em humanos, as CLs são facilmente identificadas com o uso de marcadores de superfície, baseados na expressão de marcadores hematopoiéticos CD45+ (também conhecido como LY5) e moléculas MHC-II (Stingl *et al.*, 1980). Estas células expressam também E-caderina (conhecida também como CDH1), uma molécula homotípica de adesão que ancoram as CLs aos queratinócitos circundantes (Tang *et al.*, 1993). A E-caderina também se liga ao CD103 (também chamado de  $\alpha_E$ -integrinas), que é expresso por células T epiteliais subclassificadas como célula dendrítica. Moléculas de adesão epitélio-célula (EpCAM: também chamado de TACSTD1) é outra molécula de adesão homotípica expressada pelas CLs (Merad, 2008).

As CLs também expressam CD205 (ou LY75 e DEC205), uma lectina utilizada para a captura e processamento de antígenos (Inaba *et al.*, 1995; Jiang *et al.*, 1995). Em humanos, estas células expressam altos níveis de CD1a, que é um membro do grupo 1 CD1 (CD1a, CD1b e CD1c) que podem apresentar antígenos para células T. Por outro lado, a expressão de CD1 do grupo 2 (CD1d) é regulada negativamente pelas CLs através do TGF- $\beta$ 1, uma citocina encontrada em altos níveis no epitélio (Ronger-Savle, 2005).

### 2.4. Histiocitose reativa canina

A histiocitose reativa (HR) pode ser classificada de acordo com a localização das lesões, podendo ser subdividida como HRC ou HRS. É considerada HRC quando há acometimento da pele e de linfonodos periféricos que drenam a região afetada. Já a HRS

é caracterizada pelo acometimento de pele, linfonodos e órgãos extracutâneos (Clifford *et al.*, 2019).

As HRs formam um complexo de desordens inflamatórias compostas por linfócitos e CDs intersticiais, diferente dos histiocitomas, onde as células presentes são CLs. As CDs intersticiais ocorrem na maioria dos tecidos com exceção do cérebro, mas podem ocorrer nas meninges e no plexo coroide (D'Agostino, 2012; Zanna, 2021). A identificação das CDs intersticiais é realizada através de marcações moleculares (imunofenotipagem), expressando CD1a, CD11c, CD11b e MHC-II. Quando na derme, as CDs intersticiais podem também expressar marcação CD90+ (Thy-1) (Moore, 2014; Moore, 2017; Clifford *et al.*, 2019).

Os macrófagos constituem um outro grupo de células histiocíticas que são importantes em todos os tecidos. A diferenciação destas células no tecido também pode ser realizada através de imunofenotipagem. Normalmente nos tecidos, macrófagos expressam integrinas  $\beta$ -2 (CD11b/CD18) (Danilenko *et al.*, 1992; Moore, 2023). Já em órgãos hematopoiéticos, como no baço, medula óssea, e medula sinusal dos linfonodos, os macrófagos tendem a expressar CD11d/CD18 (Danilenko *et al.*, 1992; Moore, 2014). Outros marcadores utilizados para identificação dos macrófagos são MHC-II, CD163 e CD204, sendo as duas últimas não descritas em cães (Kato *et al.* 2013; Moore, 2023).

Os conceitos de HRC e HRS foram relatados a partir de estudos em que lesões com topografias e histiócitos com imunofenótipos idênticos foram descritos como HRC e HRS. Ambas são consideradas enfermidades inflamatórias em que se acredita que a patogênese esteja envolvida com elementos de desregulação do sistema imunológico (Moore, 2014). Acredita-se que tais lesões sejam causadas por antígenos, contudo, ainda não foi comprovada a presença de um agente etiológico ou antígeno específico (Merad, 2008).

As lesões possuem predomínio de CDs intersticiais da derme ativadas e linfócitos T, que frequentemente infiltram as paredes de vasos da derme, criando vasculites linfocíticas (Albanese, 2017; Moore, 2017). As lesões irradiam dos vasos afetados e se

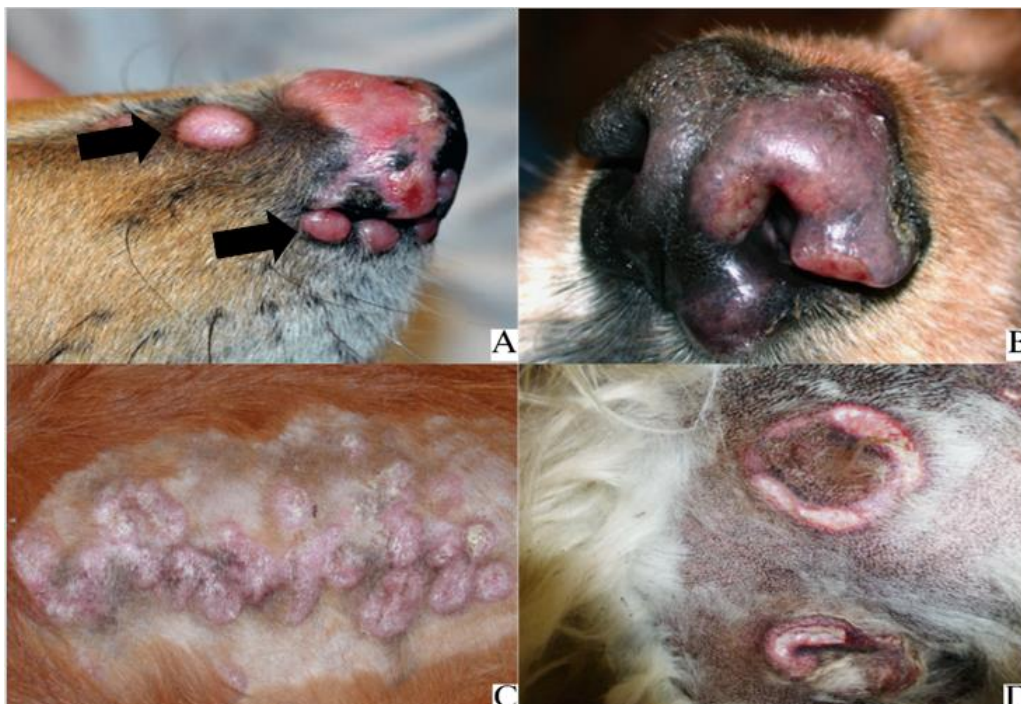
coalescem para formar massas, especialmente na derme profunda e no subcutâneo. Ainda, as lesões na HR tendem a formar massas com forma de botão (“*botton-heavy*” em inglês), o que diferencia de outras proliferações histiocíticas, como o sarcoma histiocítico (SH), que aparece de forma nodular (“*top-heavy*” em inglês) (Clifford *et al.*, 2012).

Normalmente o componente linfoide dessas lesões tende a ser formado por linfócitos T CD8+, podendo variar entre as lesões. Quando há a presença desses linfócitos não é comum que a lesão apresente remissão espontânea, como ocorre nos histiocitomas. É possível que estas células T CD8+ atuem promovendo a proliferação e diferenciação de CDs através de citocinas como fator estimulante de colônia de granulócitos-macrófagos (FEC-GM) e TNF- $\alpha$  (Larregina, 2001; Shortman e Naik, 2007).

#### **2.4.1. Histiocitose Reativa Cutânea (HRC)**

A HRC é uma desordem proliferativa classificada como linfo-histiocítica, que primariamente acomete a pele e o tecido subcutâneo. As lesões podem também se estender para os linfonodos locais, que são parte do sistema imunológico da pele. A incidência de acometimento dos linfonodos ainda não está clara, uma vez que não são comumente encaminhados para análise histopatológica junto com o tecido epitelial (Clifford *et al.*, 2019).

As lesões ocorrem frequentemente com crescimento rápido, múltiplas, formadas por nódulos, placas, crostas e/ou áreas de despigmentação, que afetam a pele e subcutâneo simultaneamente, com lesões que podem ultrapassar 4cm de diâmetro (Clifford *et al.*, 2012; Moore, 2014). As lesões tendem a surgir no dorso, extremidades (incluindo coxins), pescoço, face e focinho, períneo e escroto, podendo regredir e surgir de forma espontânea em outros locais. As lesões cutâneas tendem a apresentar semelhança tanto na HRC quanto na HRS (Clifford *et al.*, 2012). O prognóstico varia de reservado a favorável, dependendo do estágio e características das lesões. O tratamento indicado é realizado à base de medicamentos imunossupressores e imunomoduladores (Palmeiro, 2007).



**Figura 2:** Histiocitose Reativa Cutânea em Cães: **A.** Múltiplas pápulas e nódulos eritematosos, alopecicos e ulcerados em focinho de cão (seta) (adaptado de Mauldin e Kennedy, 2016). **B.** Lesão por HRC e edema em focinho de cão. **C.** Nódulos múltiplos formando placa em região peitoral de cão com HRC. **D.** Grandes placas ulceradas com formato anelar em área de esterno em um cão da raça Golden retriever. (Albanese, 2017).

#### 2.4.2. Histiocitose Reativa Sistêmica (HRS)

A HRS é uma doença caracterizada pela proliferação sistêmica de células histiocíticas, com a tendência de acometer a pele, mucosas nasal e ocular, baço, fígado, pulmões e linfonodos periféricos (Bass, 2004; Coomer, 2008). Mesmo sendo sistêmica, os locais mais comuns de surgimento da lesão são em face, focinho, plano nasal e pálpebras, o que são semelhantes aos locais acometidos pela HRC.

É comum que os nódulos apresentem ulceração, com aumento de linfonodos periféricos marcados pela presença de infiltrados histiocíticos. O curso da doença tende a ser pontual, tendo remissão e recidivas, que podem ocorrer de forma espontânea, principalmente no estágio inicial da doença. O prognóstico é reservado a desfavorável devido às características recidivantes das lesões, e o tratamento, assim como na HRC, é a base de medicamentos imunossupressores e imunomoduladores (Moore, 2023).

A principal diferenciação clínica entre a HRC e HRS é o número de lesões recorrentes e o envolvimento de múltiplos órgãos, e nesses casos, a sintomatologia também está relacionada aos órgãos acometidos. Devido ao acometimento sistêmico, na HRS é comum a observações de sinais clínicos como anorexia, perda de peso, estertor respiratório e conjuntivite (Coomer, 2008).

## **2.5. Epidemiologia**

Primariamente, a HRS canina foi descrita em cães da raça bernese, havendo aparentemente predisposição genética para a raça (Moore, 1984). Já o primeiro relato de HRC canina foi descrito em cães com dermatites recorrentes e paniculites de origem desconhecida, em que as lesões apresentavam predomínio de histiócitos (Moore, 2014).

Diferente da HRC, a HRS tende a apresentar predisposição em cães da raça bernese, tendo sido observado, de forma menos comum, em rottweiler, labrador, basset hound e no lebre irlandês (Moore, 2014). Normalmente, tende a acometer cães jovens a adultos (2-8 anos), não sendo encontrada predisposição de sexo (Clifford *et al.*, 2012).

## **2.6. Diagnóstico**

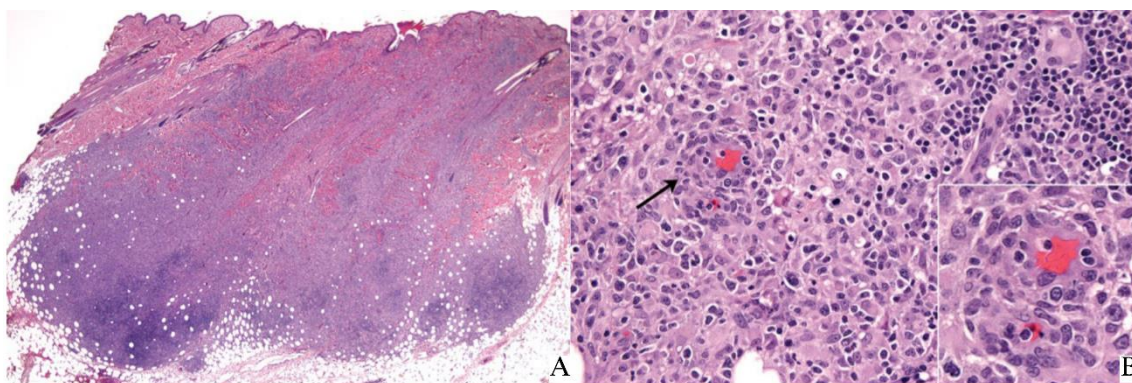
O diagnóstico definitivo da histiocitose reativa deve ser realizado através de imunofenotipagem dos tipos celulares a partir de fragmentos da lesão obtidos por biópsia. Contudo, a associação dos achados de exame citológico, histopatológico, exclusão de agentes infecciosos e histórico clínico do paciente podem ser utilizados como diagnóstico para confirmar a doença (Bass, 2004; Coomer, 2008).

Os achados microscópicos da HRC tendem a se parecer como inflamação granulomatosa, com presença de histiócitos sem sinais de malignidade, com citoplasma abundante, núcleos redondos ou recortados e nucléolos pouco proeminentes (Clifford *et al.*, 2012).

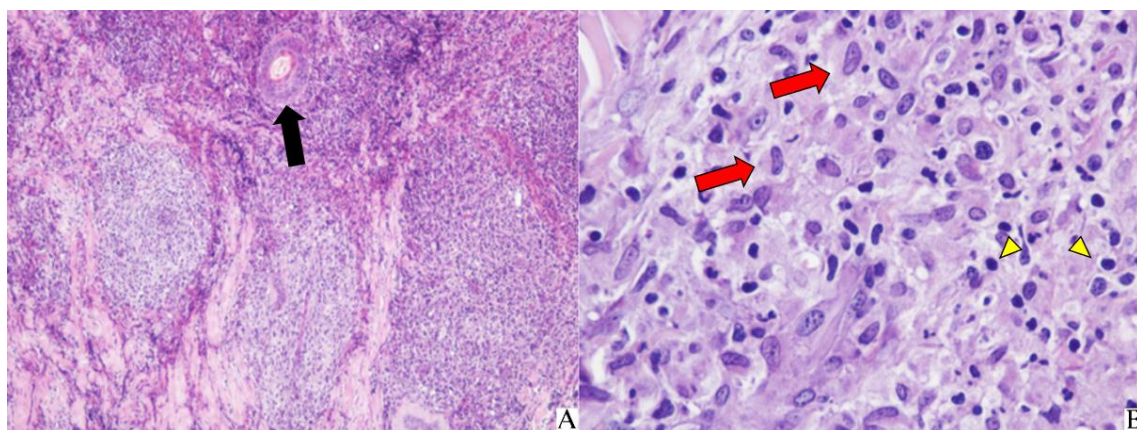
Histologicamente, as lesões apresentam com bordas elevadas e depressão em área central. As CDs intersticiais e os linfócitos T infiltram a parede dos vasos sanguíneos da derme causando vasculite linfo-histiocítica. Os linfócitos podem compreender até 50%

das células. Neutrófilos, plasmócitos e eosinófilos podem estar presente em menor número, mesmo não sendo comum (Mauldin e Kennedy, 2017; Moore, 2017).

Na histologia, é possível observar discretas lesões perivasculares, que inicialmente se coalescem formando infiltrações nodulares, estendendo-se para a derme profunda e tecido subcutâneo. Lesões crônicas se estendem para a derme superficial e podem apresentar distribuição ao redor dos anexos cutâneos (folículos e glândulas). O epiteliotropismo não é um achado comum. As lesões sistêmicas tendem a se apresentar semelhantes aos infiltrados cutâneos (Moore, 2017).



**Figura 3:** Histiocitose reativa cutânea canina. A: Infiltrado perivascular de células dendríticas e linfócitos, bem delimitado, localizado em derme e coalescendo ao subcutâneo para formar uma lesão em botão (*botton heavy*). B: Lesão perivascular com vasculite linfohistiocítica (seta e aumento) (Moore, 2017).



**Figura 4:** Exame histopatológico de histiocitose reativa cutânea. A: múltiplos nódulos dermais confluentes e profundos. Infiltrado celular perivascular (seta). B: Exame histopatológico de histiocitose reativa cutânea: em grande aumento, pode ser observado grandes células histiocíticas (seta vermelha) associadas à pequenos linfócitos (ponta de seta amarela) (Albanese, 2017).

Os achados microscópicos de HRC e HRS são praticamente idênticos na pele, as lesões envolvem a derme profunda e o subcutâneo (Mauldin e Kennedy, 2016). O diagnóstico histológico diferencial inclui a resposta para agentes infecciosos, outras causas de granulomas como piogranuloma estéril, reação a drogas, histiocitoma cutâneo e granulomatose linfomatoide. O diagnóstico confirmatório pode ser realizado através de imunofenotipagem, sendo que os histiócitos apresentam marcação positiva para CD1a, CD11c/CD18, MHC-II, CD4 e Thy-1 (CD90), tendo baixa expressividade de E-caderinas (Moore, 2023).

### **2.6.1. Diagnóstico Citológico**

Para o exame citológico recomenda-se a coleta por punção com agulha fina (PAF) em conjunto com a punção aspirativa por agulha fina (PAAF), uma vez que devido à pressão na aspiração da PAAF pode ocasionar rompimento dos tipos celulares, bem como a simples punção na PAF pode resultar em menor quantidade de amostra. Os achados citológicos dependem do estágio da doença. No estágio inicial, a aspiração da amostra tende a apresentar pouco conteúdo celular. Em estágios avançados, os infiltrados celulares podem alterar de formas nodulares para difusa, apresentando mais sucesso na coleta da amostra (Albanese, 2017).

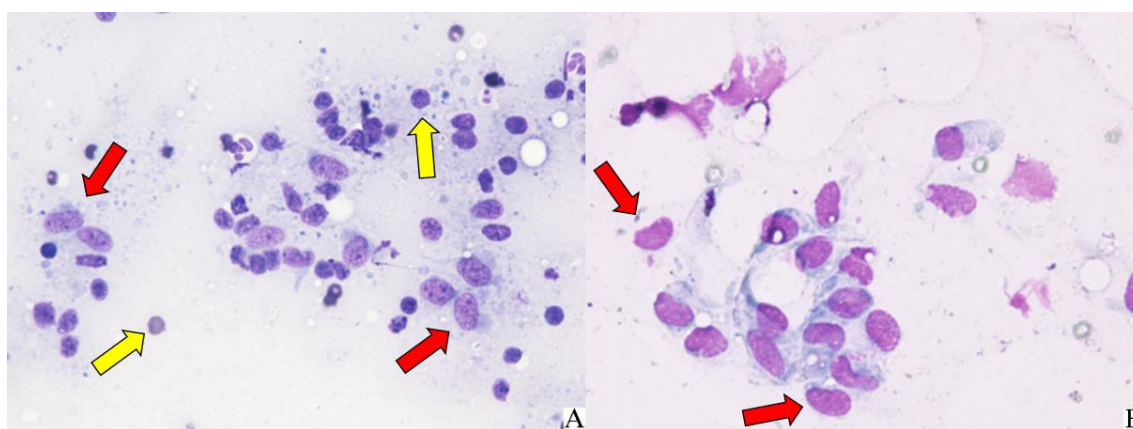
Em alguns casos, as células dendríticas podem estar dispostas em agrupamentos coesos, fazendo com que seja difícil identificar a célula intacta. Amostras mais representativas são caracterizadas por histiócitos redondos com núcleos ovalados a riniformes, cromatina nuclear regular, nucléolos pouco proeminentes e grande área citoplasmática pálida, ocasionalmente com margens pouco definidas e multivacuolização citoplasmática. Algumas células podem se apresentar como núcleos desnudos com citoplasma espalhado ao fundo (Albanese, 2017; Moore, 2017).

Associados às células dendríticas, frequentemente estão presentes linfócitos em quantidade elevada ou variável. É possível observar também alguns plasmócitos e neutrófilos em menor concentração (Moore, 2017; Raskin e Conrado, 2023). Na maioria dos casos, somente os achados citológicos não são possíveis diferenciar entre outras doenças granulomatosas, como o granuloma estéril, já que as células dendríticas podem



apresentar características citológicas semelhantes às células da linhagem macrofágica (Albanese, 2017).

De acordo com Fisher (2020), devido às características citológicas mistas da lesão, não é possível realizar o diagnóstico definitivo através somente do exame citológico. Contudo, Moore (2016) destaca que nas lesões causadas de HR não é comum observar células multinucleadas, com núcleos bizarros e figuras de mitose, diferenciando a lesão do sarcoma histiocítico (SH).



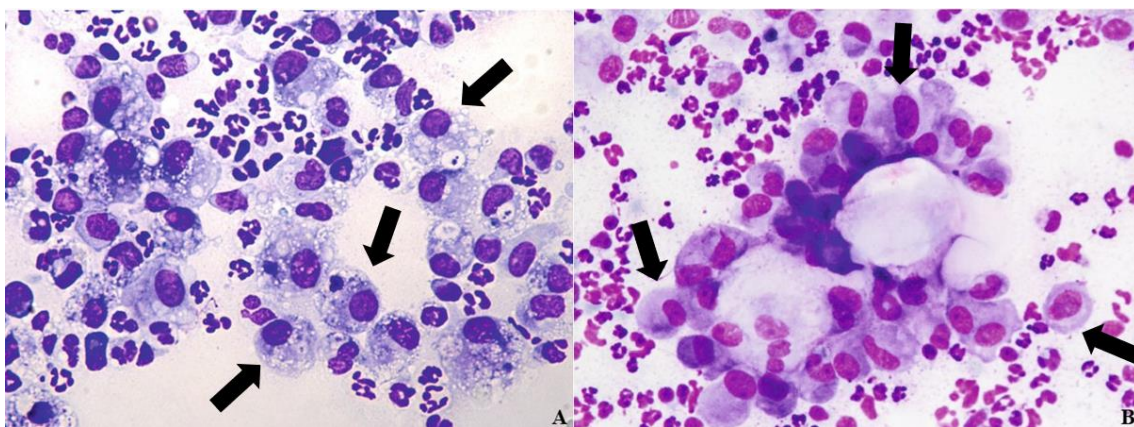
**Figura 5:** Citologia de histiocitose reativa cutânea. A. Histiócitos com núcleos ovalados a riniformes (seta vermelha). Alguns linfócitos livres podem ser observados (seta amarela). B. Histiócitos com núcleos ovalados a riniformes, apresentando margens citoplasmáticas pouco delimitadas (seta vermelha) (Albanese, 2017).

#### 2.6.1.1. Características citológicas de outras proliferações histiocíticas

Dentre as lesões que apresentam alta concentração de células histiocíticas e dos diagnósticos diferenciais da HR, destaca-se as inflamações macrofágicas, granulomas, histiocitoma e o sarcoma histiocítico. Em processos inflamatórios macrofágicos estas células apresentam morfologia variada de acordo com o nível de atividade celular, com tamanho variável, núcleos redondos a ovalados, central ou excêntricos, frequentemente recortados e riniformes e com cromatina regular e nucléolos pouco proeminentes, citoplasma acinzentado a discretamente basofílico e multivacuolizado (Figura 6A). Nesses processos, os macrófagos costumam apresentar conteúdo citoplasmático devido à fagocitose realizada, podendo ser observados microrganismos, restos celulares, cristais,

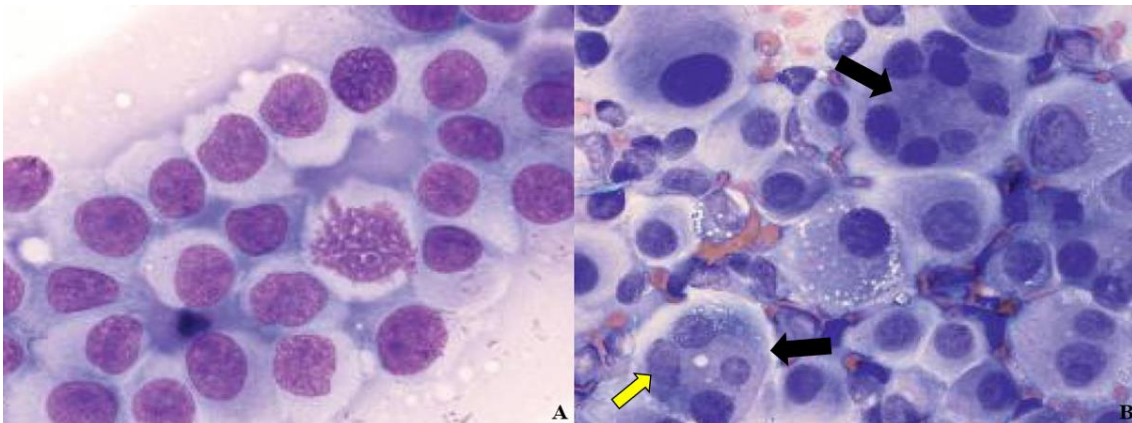
pigmentos e corpos estranhos (como caso de reação vacinal ou medicamentosa, por exemplo) (Albanese, 2017).

Outra lesão inflamatória classificada pela presença de macrófago são os granulomas, desta vez caracterizadas pela presença de macrófagos epitelióides. Essas células apresentam morfologia semelhante a células epiteliais, por isso recebem esse nome (Albanese, 2017). Os macrófagos epitelioides tendem a se apresentar livres ou em agrupamentos, com relação núcleo/citoplasma moderada, núcleos redondos, cromatina homogênea e citoplasma acinzentado a basofílico (Figura 6B) (Bain *et al.*, 2016). As células epitelióides podem se juntar e formar uma célula gigante multinucleada para tentar fagocitar antígenos maiores, sendo comumente vistas em piogranulomas e furunculose (Albanese, 2017).



**Figura 6:** A. Inflamação macrofágica: macrófagos de diferentes tamanhos, com citoplasma multivacuolizado e núcleos redondos a ovalados (seta). B. Granuloma: células epitelióides (seta) com citoplasma basofílico dispostas ao redor de queratinócito (Albanese, 2017).

Já no grupo dos processos proliferativos neoplásicos, o histiocitoma é uma neoplasia de CL, onde citologicamente as células se apresentam redondas, com relação núcleo/citoplasma alta e variável, núcleos redondos a ovalados e ocasionalmente recortados, com padrão de cromatina homogênea e nucléolos pouco proeminentes, com citoplasma discretamente basofílico e bem delimitado (Figura 7A) (Albanese, 2017; Raskin e Conrado, 2023).



**Figura 7:** A. Histiocitoma: células redondas, com núcleos redondos a ovalados e citoplasma discretamente basofílico e bem delimitado, apresentando pleomorfismo moderado. B. Sarcoma histiocítico: presença de células apresentando anisocitose e anisocariose intensa, com presença de células multinucleadas (setas pretas) e nucléolos múltiplos e proeminentes (seta amarela) (Raskin e Conrado, 2023).

Por sua vez, o sarcoma histiocítico é o que apresenta maior pleomorfismo dentre os diagnósticos diferenciais de HR, onde as células neoplásicas (macrófagos) apresentam pleomorfismo intenso. Nessa neoplasia, as CD normalmente possuem formato redondo a ovalado, com relação núcleo/citoplasma moderada a baixa, com núcleos redondos ou irregulares, cromatina grosseira e nucléolos frequentemente múltiplos e de tamanhos diferentes, com citoplasma discretamente basofílico e normalmente multivacuolizado (Figura 7B) (Raskin e Conrado, 2023).

## 2.7. Tratamento

O tratamento da HR é desafiador. Em alguns casos, corticoides se apresentaram uma ferramenta eficiente no controle das lesões, contudo, os resultados se mostram melhores em HRC do que em HRS. Desta forma, é válido o uso desses medicamentos, principalmente quando se compara ao custo e dificuldades dos tratamentos alternativos. Casos em que não há resposta aos corticosteroides são melhores tratados com terapias imunossupressoras mais agressivas, como a ciclosporina A e leflunomida (Moore, 2022).

Tais drogas são potentes inibidores da ativação de células T, conseguindo melhores resultados na resolução das lesões e até mesmo a remissão completa dos sintomas em alguns casos. Esse fato corrobora com a teoria de que as doenças histiocíticas sejam causadas por desordens de regulação do sistema imunológico (Moore, 2023). Há

poucos estudos e relatos de caso mencionando o tratamento de doenças histiocíticas reativas em cães, o que dificulta ainda mais o tratamento.

Um estudo retrospectivo avaliando 32 casos de HRC em cães, avaliou melhora clínica das lesões cutâneas em todos os animais após tratamento. Desses 32 cães, doze receberam apenas prednisona (dose não especificada) ou em associação com antibióticos (não especificados); quatro receberam prednisona associada a tetraciclina ou doxiciclina e niacinamida; três receberam prednisona e azatioprina, e seis cães receberam tetraciclina/niacinamida isoladas ou em combinação com vitamina E e ácidos graxos essenciais. Outros três cães receberam cefalexina isolada ou associada a anti-histamínicos, um cão foi tratado com ciclosporina e cetoconazol, dois cães receberam apenas tratamento tópico e um deles teve remissão das lesões sem tratamento específico (Palmeiro, 2007).

O estudo publicado por Palmeiro (2007) identificou tetraciclina e niacinamida como sendo efetivas no tratamento para HRC. Após o tratamento e remissão das lesões, 17 animais continuaram com tratamento de manutenção, dentre eles, doze receberam tetraciclina/niacinamida isoladas ou em associação com terapia de suporte, dois cães receberam ciclosporina/cetoconazol a cada 2-3 dias, um cão recebeu azatioprina 0,8mg/kg diariamente e reduzindo a dose a cada 48 horas. Um cão recebeu associação de prednisona (0,15mg/kg) e azatioprina (1,2mg/kg) duas vezes por semana e um cão apenas recebeu terapia de manutenção apenas com prednisona (0,25mg/kg) uma vez ao dia). Dos dezessete cães mantidos em terapia de manutenção, dezesseis eram tratados por veterinários dermatologistas. De todos os cães tratados, a recidiva de HRC foi mais comum em cães que possuíam lesões em plano nasal (67% das recidivas) e nenhum morreu em decorrência da HRC (Palmeiro, 2007).

### **3. CASO CLÍNICO**

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Minas Gerais (HV-UFMG) um cão, fêmea, da raça Dachshund, com 12 anos de idade, castrada, com histórico de neoplasia mamária e cardiopatia. A queixa principal foi devido a lesões

generalizadas em pele (Figuras 6 e 7), que apareciam e desapareciam de forma espontânea. Animal apresentava as lesões há dois anos e realizava acompanhamento com clínico geral há seis meses para tratamento, fazendo uso de Prednisolona (dose anti-inflamatória) SID, associado à antibioticoterapia (já fez uso de Azitromicina, Marbofloxacina e Cefalexina) para tratamento de doença periodontal, sem melhora do quadro bucal. A tutora relatou melhora no aspecto das lesões após antibioticoterapia, mas que as lesões reapareciam com o fim do tratamento.

Segundo relato da tutora, o animal era negativo para leishmaniose canina (LVC), mas que foi realizado tentativa de tratamento com Alopurinol e Imunoterapia, também sem melhora do quadro clínico, e o tratamento foi descontinuado. O animal fez nebulização com solução fisiológica associado à budesonida no período noturno para auxiliar no quadro respiratório. O animal possuía um contactante, mas que não apresentava sinais clínicos.



**Figura 8:** A. Lesões nodulares de consistência firme, aderidos à derme, não alopecicos e não ulcerados (setas amarelas). B. Lesões em placa em região peitoral e de pescoço (setas vermelas) (Fonte: Equipe de Dermatologia da EV-UFGM).

No primeiro atendimento dermatológico (dia 1) foi observado presença de lesões granulomatosas/nodulares por todo o corpo, que incluíram face, pescoço, laterais do dorso, abdome, membros e região cefálica (Figuras 6 e 7). Os nódulos apresentavam consistência firme, aderidos à derme, não alopecicos e não ulcerados. Foi também observada lesão em plano e ponte nasal, com presença de edema, nodulações e despigmentação com perda de integridade de epitélio de narinas e hiperplasia intranasal. Foi notada a presença de dificuldade respiratória e secreção nasal. Foi realizada coleta de amostras citológicas por PAAF das lesões do pescoço (Figura 6B) e realizada a confecção das lâminas por *squash*.

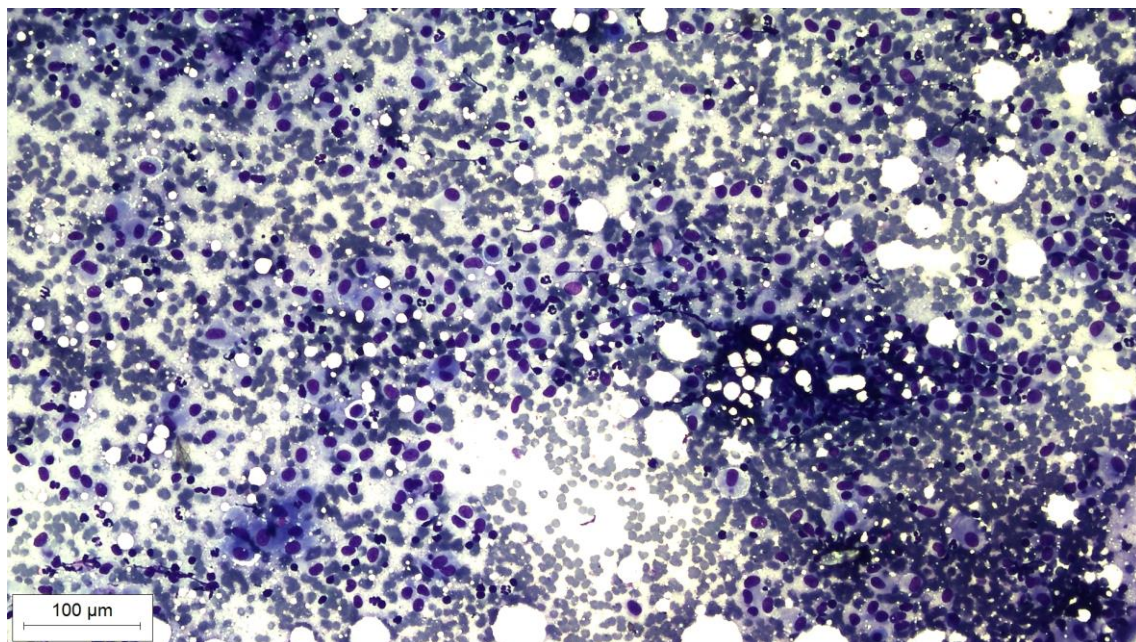


**Figura 9:** A. Lesões crostosas em face, focinho, lábios e região periocular (setas amarelas). B. Lesão crostosa em focinho e plano nasal (seta vermelha), com presença de edema (seta preta) e espessamento da mucosa e estreitamento do lúmen nasal (ponta de seta azul) (Fonte: Equipe de Dermatologia da EV-UFMG).

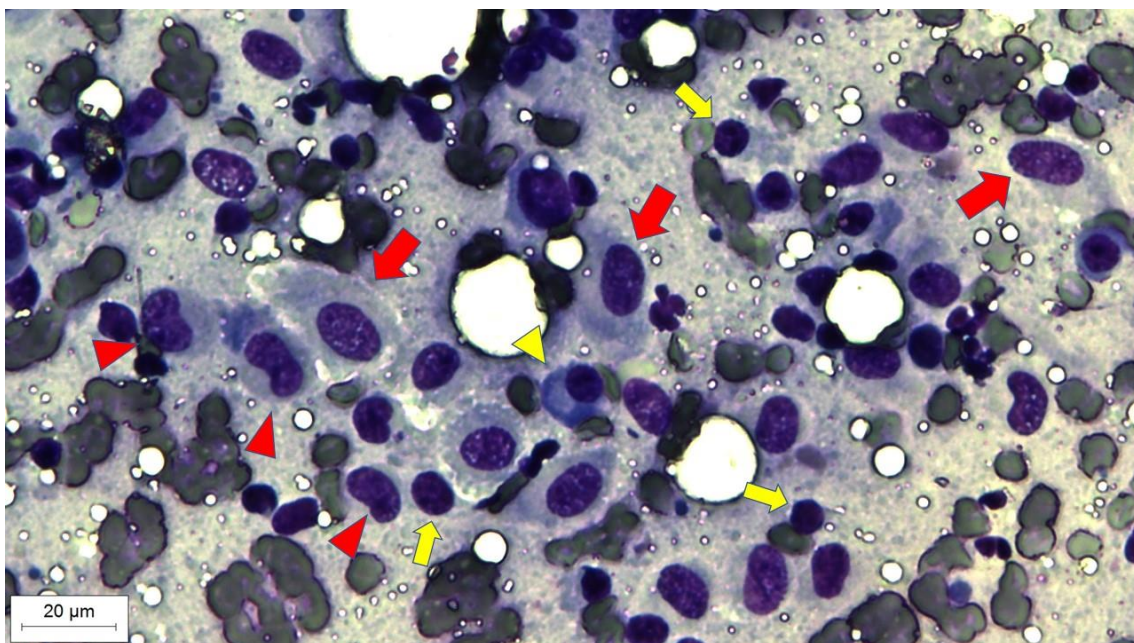
A amostra citológica apresentou presença de concentração intensa de células histiocíticas arredondas, com núcleos ovalados-alongados frequentemente riniforme, nucléolo único pouco proeminente e citoplasma discretamente basofílico e

ocasionalmente multivacuolizado (Figura 7). Foram observados plasmócitos e linfócitos em concentração moderada e neutrófilos íntegros, frequentemente hipersegmentados, em concentração discreta (Figuras 8 e 9).

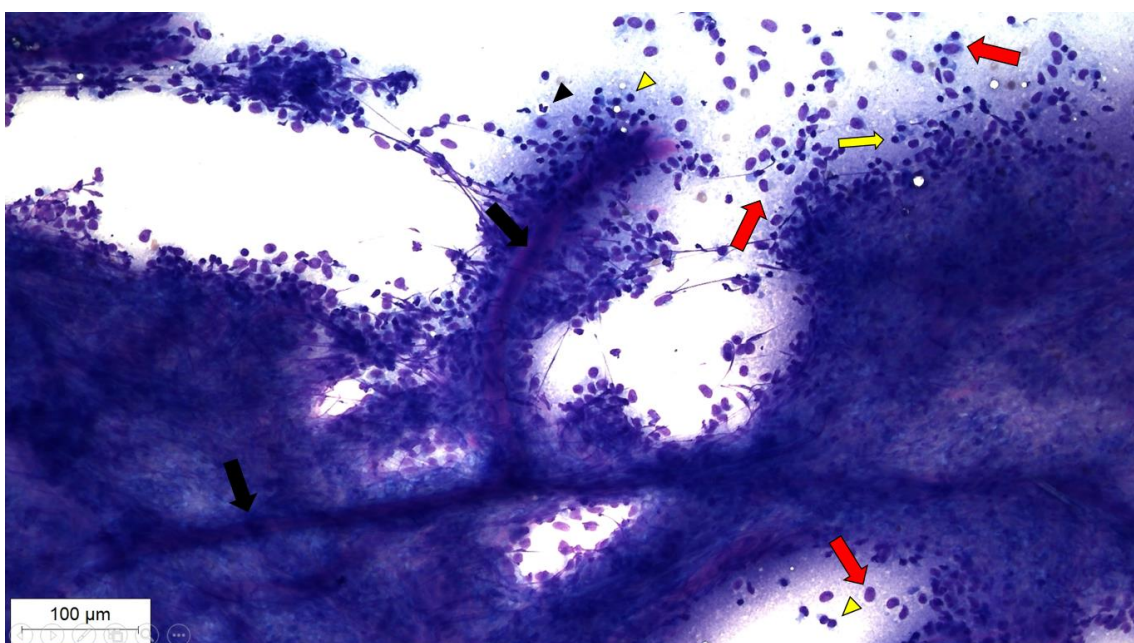
Foi observada concentração moderada de feixes de vasos sanguíneos associados aos tipos celulares mencionados acima (Figuras 10 e 11). Não foram observados microrganismos. Não foram observados sinais de malignidade como cariomegalia, multinucleação e figuras de mitose. A conclusão do exame citológico foi de proliferação linfo-histioplasmocitária e neutrofílica que, associada ao histórico clínico, permitiu levantar a suspeita de HRC.



**Figura 10:** Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Fundo de lâmina composto por material amorfo basofílico, vacúolos de gordura e concentração intensa de hemácias. Presença de concentração intensa de células histiocíticas e concentração moderada de linfócitos e neutrófilos (objetiva de 10x).

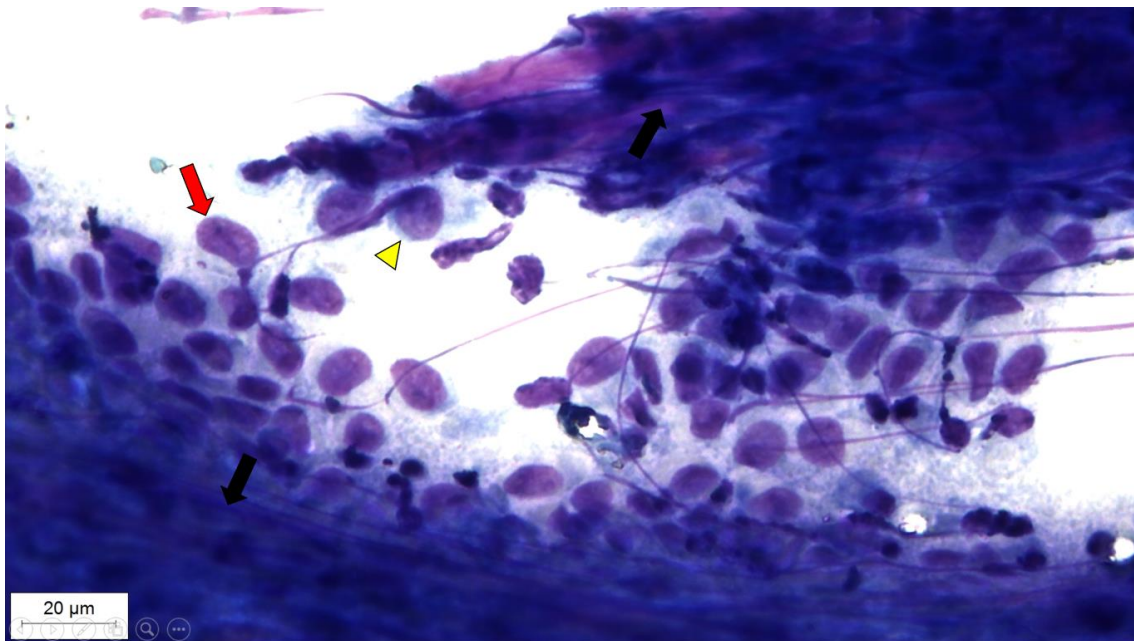


**Figura 11:** Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Fundo de lâmina composto por material amorfo basofílico, vacúolos de gordura e hemácias. Presença de histiócitos arredondados a ovalados (setas e cabeças de seta vermelhas), dispostos de forma livre, com núcleos ovalados-alongados (setas vermelhas) ou em formato riniforme (cabeças de seta vermelhas), pequenos linfócitos (setas amarelas), plasmócitos (cabeça de seta amarela) e de neutrófilos (objetiva de 40x).



**Figura 12:** Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Feixes de vasos sanguíneos (seta preta) associados a células histiocíticas (seta vermelha), linfócitos (ponta de seta amarela), plasmócitos (seta amarela) e neutrófilos (ponta de seta preta) (objetiva de 10x).





**Figura 13:** Citologia aspirativa de lesão cutânea em cão. Feixe de vaso sanguíneo (seta preta) e matriz extracelular associados a células histiocíticas (seta vermelha) e linfócitos (seta amarela) (objetiva de 40x).

Foi pesquisado a possibilidade de realização de exame imuno-histoquímico a partir de biópsia como sugere a literatura disponível, no entanto, não foram encontrados os marcadores citados para diferencial das células histiocíticas (CD11c, CD11d e Thy-1) nos laboratórios veterinários comerciais do país. Diante da falta da disponibilidade dos marcadores imuno-histoquímicos e da condição clínica da paciente (idosa e cardiopata), optou-se por não realizar exame histopatológico devido aos riscos envolvidos na coleta da biópsia.

Após a realização do exame citológico foi iniciado tratamento para HR (dia 8), com uso de prednisolona 1,3mg/kg SID por 14 dias, seguidos de redução gradual nos próximos 14 dias (1mg/kg SID por sete dias e 0,5mg/kg nos 7 dias subsequentes), associada à combinação de tetraciclina 500mg/animal TID e niacinamida 500mg/animal TID durante 40 dias. Foi indicado retorno ao final do tratamento. No retorno (dia 44), tutora relatou que os dois últimos medicamentos foram administrados na frequência BID, havendo melhora e regressão no tamanho dos nódulos na primeira semana, porém as lesões voltaram a crescer após esse período e houve piora do quadro respiratório.

Devido à falta de resposta ao primeiro tratamento, foi iniciado novo tratamento com uso de azatioprina 2,5mg/kg SID associada à prednisolona 1,0mg/kg SID por 14 dias e solicitado novo retorno após o fim das medicações. No retorno (dia 60), animal apresentou melhora significativa do quadro clínico geral, com redução dos nódulos cutâneos. Foi dado continuidade no tratamento com azatioprina 2,5mg/kg SID em uso contínuo e solicitado retorno em 14 dias.

Após início do tratamento com azatioprina foram realizado hemogramas seriados para monitoramento da resposta medular ao medicamento devido às características mielosupressivas do mesmo, onde foi possível observar normalização dos valores do Hematócrito (VG) e de Leucócitos Totais (LT), com melhora nos valores totais de Plaquetas, tendendo a apresentar uma resposta regenerativa.

	<b>Dia 44</b>	<b>Dia 67</b>	<b>Valores de Referência</b>
<b>Hemácias</b>	4,47	5,12	5,7 a 7,4 milhões/ $\mu$ L
<b>Hemoglobina</b>	9,8	11,6	14 a 18 g/dL
<b>Hematócrito</b>	31,5	38,6	38 a 47 %
<b>VCM</b>	70,5	75,5	63 a 77 fL
<b>CHCM</b>	31,1	30	31 a 35 %
<b>Leucócitos Totais</b>	25,3	7,5	6,0 a 16,0 mil/ $\mu$ L
<b>Plaquetas</b>	651	549	200 a 500 mil/ $\mu$ L

**Tabela 1:** Tabela com valores de hemograma seriados realizados após início do tratamento com azatioprina para monitoramento da resposta medular.

No dia 60 foram observadas lesões secundárias em focinho, com presença de secreção purulenta, sendo realizado exame citológico no consultório, onde foi possível constatar a presença de inflamação neutrofílica associada à presença de bactérias cocoides (imagens não disponíveis). Foi solicitado radiografia de tórax, onde foi possível visualizar alterações nodulares dispersas em tecido em plano subcutâneo, com radiopacidade de tecidos moles. Também foi observado área nodular com cerca de 1,6cm e aspecto radiográfico de tecidos moles em topografia de lobo pulmonar direito. Não foram observadas outras alterações significativas no exame radiográfico.

Em novas consultas (dias 74, 88 e 102), a paciente continuou apresentando melhora no quadro clínico geral, com redução das lesões ulceradas em face e redução do tamanho dos nódulos cutâneos, melhora discreta dos sinais respiratórios e no apetite. Foi mantido o tratamento com azatioprina 2,5mg/kg SID até novas recomendações.

#### 4. DISCUSSÃO

O diagnóstico de doenças histiocíticas caninas frequentemente é um desafio clínico e citológico. De acordo com Fisher (2020), devido às características celulares mistas da lesão, não é possível realizar o diagnóstico definitivo através somente do exame citológico. Contudo, na realização do exame citológico do presente caso, as características celulares foram associadas a células histiocíticas não efectoras (APCs) associadas à células linfocíticas e vasos sanguíneos, o que permitiu a suspeita de doença histiocítica não macrofágica e não neoplásica. Auxiliado por informações não fornecidas no encaminhamento da amostra, isto é, por meio de informações do sistema de atendimento do HV, os citologistas levantaram no laudo a possibilidade de HRC. O propósito da discussão desse caso clínico é apresentar os meios de diagnóstico e conduta terapêutica na histiocitose reativa canina.

No caso, a paciente havia recebido atendimento clínico prévio, contudo, sem a realização de exames complementares de citologia ou histopatologia das lesões cutâneas, fazendo com que o tratamento se estendesse sem apresentar benefícios concretos à mesma.

A PAF e coleta por aposição de lâmina (*imprinting*) são os métodos mais comuns para coleta de amostras em lesões cutâneas e subcutâneas e linfonodos para citologia na medicina veterinária. A coleta de amostras para diagnóstico citológico é facilmente realizado, sem necessidade de anestesia ou analgesia. O exame citológico pode entregar resultados imediatos e prevenir a coleta de exames adicionais que usariam métodos mais invasivos de coleta de amostra (MacNeill, 2011).

Os aspectos citológicos da HR se caracterizam pela grande concentração de células histiocíticas apresentando pouco pleomorfismo, associados à presença de células

linfóides pequenas, plasmócitos e neutrófilos íntegros e sem sinais de presença de microrganismos (Moore, 2017; Raskin e Conrado, 2023). Tais achados se diferenciam de outras desordens proliferativas histiocíticas, como histiocitoma, sarcoma histiocítico e granulomas.

A aparência citológica do histiocitoma é caracterizada pela presença de células redondas, com anisocitose discreta, alta relação núcleo/citoplasma e núcleos redondos a ovalados, centrais ou excêntricos, podendo estar recortados formando aparência riniforme, apresentando cromatina regular ou frouxa e nucléolo pouco proeminente. É uma lesão que macroscopicamente se apresenta nodular, acomete animais jovens e normalmente apresenta remissão espontânea (Dinescu *et al.*, 2015; Moore, 2017; Albanese, 2017). Tais características celulares observadas no histiocitoma diferem da HR, onde as CD apresentam predominantemente núcleos ovalados-alongados e riniformes.

Já o sarcoma histiocítico acomete principalmente cães de faixa etária avançada, com lesões cutâneas nodulares principalmente em regiões de articulação, podendo ser cutânea ou sistêmica (Clifford *et al.*, 2019). As características citológicas das células nessa enfermidade se apresentam como células ovaladas a fusiformes, com aspectos de malignidade evidentes, anisocitose marcante, núcleos grandes, redondos a ovalados ou riniformes, com um ou mais nucléolos de tamanhos diferente e citoplasma amplo, discretamente basofílico e frequentemente multivacuolizado (Brown, 1994). É possível também observar a presença de células multinucleadas e infiltrados de outros leucócitos (Albanese, 2017, Raskin e Conrado, 2023).

Na inflamação macrofágica é esperado a presença de macrófagos ativados, que visivelmente apresentam características diferentes das CD presentes na HR, onde são observados núcleos predominantemente redondos a ovalados e citoplasma multivacuolizado. Da mesma forma, no granuloma a presença dos macrófagos epitelióides difere dos tipos celulares encontrados na HR, principalmente quando há presença de agrupamentos desses tipos celulares e células gigantes multinucleadas.

Em relação ao tratamento, foi iniciado em primeiro momento o uso de antibioticoterapia com tetraciclina, associada à suplementação com niacinamida e corticoterapia com prednisolona na tentativa de amenizar os problemas cutâneos. A tetraciclina é um antibiótico de amplo espectro, com ação bacteriostática. A niacinamida é um composto amida da vitamina B<sub>3</sub> muito utilizado na dermatologia, que possui ações anti-oxidantes e anti-inflamatórias (Vasconcelos, 2022). Já a prednisolona possui ação anti-inflamatória, reduzindo a resposta inflamatória por redução da produção de liberação de células linfoides, e conseqüentemente de citocinas do processo inflamatório. A prednisolona pode também ter efeito imunossupressor de acordo com a dose administrada (Viana, 2019).

Devido à falta de resposta ao primeiro tratamento, optou-se por terapia imunossupressora com azatioprina e prednisolona, obtendo boa resposta ao tratamento, com redução no número e no tamanho das lesões, bem como melhora no quadro respiratório. A azatioprina é um fármaco que age inibindo a ativação de linfócitos T e é amplamente utilizada em doenças imunomediadas de pele (Patel, 2006). Contudo, tal medicamento pode induzir a mielossupressão em cães, devendo ser realizado monitoramento contínuo da resposta medular e hematopoiese (Eberhardy, 2022).

Apesar de não ser possível chegar ao diagnóstico definitivo, a realização do exame clínico, associado ao exame citológico das lesões e posterior conduta terapêutica com imunossupressores permitiram confirmar a suspeita de HR, com possibilidade de HRS devido ao achado de nódulo pulmonar com características radiográficas semelhantes às lesões cutâneas.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

As histiocitoses reativas são ainda pouco detalhadas em cães, sendo consideradas de acometimento raro e difícil diagnóstico. Tais fatos contribuem para a falta de dados na medicina veterinária, dificultando também as possibilidades terapêuticas disponíveis. A falta de disponibilidade de diagnósticos imuno-histoquímicos de forma comercial para esses tipos celulares reduz as chances de diagnóstico definitivo.

O exame citológico é um exame considerado pouco invasivo, rápido e pouco oneroso. Apesar de tais características consideradas simples, a qualidade do exame, bem como a confiabilidade dos resultados, está diretamente relacionada à capacidade técnica dos profissionais que realizará os exames, tanto em etapas pré-analíticas, quanto analíticas. Nesse caso, foi possível obter o diagnóstico citológico com a associação dos achados citológicos com o histórico clínico. Entretanto, só foi possível a sugestão citológica de HR porque os citologistas tiveram acesso aos dados de histórico clínico que estavam disponíveis no sistema do HV, o que demonstra a importância de uma descrição abrangente por parte do clínico no encaminhamento de amostras citológicas.

Além disso, desconhecemos a situação de outras partes do mundo em relação aos marcadores de IHQ específicos para a HR, embora acreditemos que em boa parte dos países em desenvolvimento como o nosso, esses testes ainda não estejam disponíveis, o que reforça a importância da sugestão diagnóstica a partir dos exames de citologia e histopatologia.

## 6. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Antigen Presentation to T Lymphocytes and the function of Major Histocompatibility Complex Molecules. In: \_\_\_\_\_. Cellular and Molecular Immunology. 10. ed. Pensilvania: Elsevier, 2022, p. 123-150.

ALBANESE, F. Canine and Feline Skin Cytology: A Comprehensive and Illustrated Guide to the Interpretation of Skin Lesions via Cytological Examination. Arezzo: Springer, 2017. 922p.

BASS, M. *et al.* Localized histiocytic sarcoma in a dog: an uncommon diagnosis in forelimb lameness. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, v. 17, n. 01, p. 48-52, 2004.

BAIN, P. J.; BARGER, A. M.; MACNEIL, A. L. Cytology of Skin and Subcutaneous Tissue. In: BARGER, A. M.; MACNEIL, A. L. Small Animal Cytologic Diagnosis. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 2016. p. 61-94.

BROWN, Diane E. *et al.* Cytology of canine malignant histiocytosis. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 23, n. 4, p. 118-122, 1994.

CHEN, P. *et al.* Dendritic cell targeted vaccines: Recent progresses and challenges. *Human vaccines & immunotherapeutics*, v. 12, n. 3, p. 612-622, 2016.

CLIFFORD, C. A. *et al.* Neoplastic and Non-neoplastic Tumor. In: MILLER Jr, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7. ed. St. Louis: Elsevier, 2012. p. 774-843.

CLIFFORD, C. A.; SCORUPSKI, K. A.; MOORE, P. F. Histiocytic Disease. In: WITHROW, S. J.; VAIL, D. M.; PAGE, R. L. Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2012. p. 706-715.

CLIFFORD, C. A. *et al.* Histiocytic Disease. In: VAIL, D. M.; THAMM, D. H.; LIPTAK, J. M. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2019. p. 791-810.

COOMER, A. R.; LIPTAK, J. M. Canine histiocytic diseases. *COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTISING VETERINARIAN-NORTH AMERICAN EDITION*, v. 30, n. 4, p. 202, 2008.

D'AGOSTINO, P. M. *et al.* Brain dendritic cells: biology and pathology. *Acta neuropathologica*, v. 124, p. 599-614, 2012.

DANILENKO, D. M.; MOORE, P. F.; ROSSITTO, P. V. Canine leukocyte cell adhesion molecules (LeuCAMs): characterization of the CD11/CD18 family. *Tissue Antigens*, v. 40, n. 1, p. 13-21, 1992.

DINESCU, G. *et al.* Cytological diagnosis of canine cutaneous histiocytic proliferative disorders. *Scientific Works. Series C, Veterinary Medicine*, v. 61, n. 2, 2015.

DRESS, R. J. *et al.* Plasmacytoid dendritic cells develop from Ly6D<sup>+</sup> lymphoid progenitors distinct from the myeloid lineage. *Nature Immunology*, v. 20, n. 1, p. 852-864, 2019.

EBERHARDY, A. C. *et al.* Prevalence of hepatotoxicity and myelosuppression with alternate day use of azathioprine and glucocorticoids for treatment of dermatological conditions in dogs. *Veterinary Dermatology*, v. 33, n. 6, p. 503-508, 2022.

FISHER, D. J. Cutaneous and Subcutaneous Lesions. In: VALENCIANO, A. C.; COWELL, R. L. *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. 5. ed. St. Louis: Elsevier, 2020. p. 74-101.

INABA, K. *et al.* Tissue distribution of the DEC-205 protein that is detected by the monoclonal antibody NLDC-145: I. Expression on dendritic cells and other subsets of mouse leukocytes. *Cellular immunology*, v. 163, n. 1, p. 148-156, 1995.



JIANG, W. *et al.* The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature*, v. 375, n. 6527, p. 151-155, 1995.

KATO, Y. *et al.* The class A macrophage scavenger receptor CD204 is a useful immunohistochemical marker of canine histiocytic sarcoma. *Journal of comparative pathology*, v. 148, n. 2-3, p. 188-196, 2013.

LARREGINA, A. T. *et al.* Dermal-resident CD14<sup>+</sup> cells differentiate into Langerhans cells. *Nature immunology*, v. 2, n. 12, p. 1151-1158, 2001.

MACNEILL, A. L. Cytology of canine and feline cutaneous and subcutaneous lesions and lymph nodes. *Topics in companion animal medicine*, v. 26, n. 2, p. 62-76, 2011.

MAULDIN, E. A.; KENNEDY, J. P. Integumentary System. In: MARIE, M. G. Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. 6. ed. St, Louis; Elsevier, 2016. p. 509-738.

MERAD, M.; GINHOUX, F.; COLLIN, M. Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells. *Nature Reviews Immunology*, v. 8, n. 12, p. 935-947, 2008.

MERAD, M. *et al.* The dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annual review of immunology*, v. 31, p. 563-604, 2013.

MOORE, P. F. Systemic histiocytosis of Bernese mountain dogs. *Veterinary Pathology*, v. 21, n. 6, p. 554-563, 1984.

MOORE, P. F. A review of histiocytic diseases of dogs and cats. *Veterinary Pathology*, v. 51, n. 1, p. 167-184, 2014.

MOORE, P. F. Canine and Feline Histiocytic Disease. In: MEUTEN, D. J. Tumors in Domestic Animals. 5. ed. Ames: Wiley, 2017. p. 322-336.

MOORE, P. F. Histiocytic Proliferative Disease of Dogs and Cats. In: BROOKS, M. J. *et al.* Schalm's Veterinary Hematology. 7. ed. Ames: Wiley, 2022. p. 633-648.

MOORE, P. F. Histiocytic Diseases. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 53, n. 1, p. 121-140, 2023.

PALMEIRO, B. S. *et al.* Cutaneous reactive histiocytosis in dogs: a retrospective evaluation of 32 cases. *Veterinary Dermatology*, v. 18, n. 5, p. 332-340, 2007.

PATEL, A. A.; SWERLICK, R. A.; MCCALL, C. O. Azathioprine in dermatology: the past, the present, and the future. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 55, n. 3, p. 369-389, 2006.

RASKIN, R. E.; CONRADO, F. O. Integumentary System. In: RASKIN, R. E.; MEYER, D. J.; BOES, K. M. *Canine and Feline Cytopathology: A color atlas and interpretation guide*. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2022. p. 35-123.

RICKLIN, M. E.; ROOSJE, P.; SUMMERFIELD, A. Characterization of canine dendritic cells in healthy, atopic, and non-allergic inflamed skin. *Journal of clinical immunology*, v. 30, p. 845-854, 2010.

RONGER-SAVLE, S. *et al.* TGF $\beta$  inhibits CD1d expression on dendritic cells. *Journal of investigative dermatology*, v. 124, n. 1, p. 116-118, 2005.

SHORTMAN, K.; NAIK, S. H. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nature Reviews Immunology*, v. 7, n. 1, p. 19-30, 2007.

SHORTMAN, K.; HEATH, W. R. The CD8<sup>+</sup> dendritic cell subset. *Immunological reviews*, v. 234, n. 1, p. 18-31, 2010.

STINGL, G.; TAMAKI, K.; KATZ, S. I. Origin and function of epidermal Langerhans cells. *Immunological Reviews*, v. 53, n. 1, p. 149-174, 1980.

TANG, A. *et al.* Adhesion of epidermal Langerhans cells to keratinocytes mediated by E-cadherin. *Nature*, v. 361, n. 6407, p. 82-85, 1993.

VALLADEAU, J.; SAELAND, S. Cutaneous dendritic cells. In: *Seminars in immunology*. Academic Press, 2005. p. 273-283.

VASCONCELOS, R. A. B. O uso da niacinamida para o clareamento de manchas na pele. *Medicus*, v.4, n.1, p.1-9, 2022.

VIANA, F. A. Guia terapêutico veterinário. 4. ed. Lagoa Santa: Grafica e Editora CEM, 2019. 528p.

ZANNA, M. Y. *et al.* Review of dendritic cells, their role in clinical immunology, and distribution in various animal species. *International journal of molecular sciences*, v. 22, n. 15, p. 8044, 2021.