

Avaliação clínica, histopatológica e imunohistoquímica da histiocitose cutânea reativa em canino na Amazônia Ocidental

Clinical, Histopathological and Immunohistochemistry Evaluation of Reactive Cutaneous Histiocytosis in Canine in Western Amazonia

Elaine Rodrigues Bonfim, Tamyres Izarely Barbosa da Silva, Leonardo Augusto Kohara Melchior, Eduardo Cavalcante das Neves, Soraia Figueiredo Souza, Charles Pelizzari, Patrícia Fernandes Nunes da Silva Malavazi & Acácio Duarte Pacheco

ABSTRACT

Background: Canine reactive cutaneous histiocytosis (RCH) is an immunoproliferative disease of skin histiocytes and is uncommon in occurrence. Its description in the literature is scarce and clinical studies are limited by the insufficient characterization of the patients' pathological findings. The objective of this report is to describe the clinical, histological and immunohistochemical findings of a case of canine reactive cutaneous histiocytosis in the state of Acre, Amazonia, Brazil. **Case:** It was attended at the Federal University of Acre, a 7-year-old male American pit bull terrier dog with nodular, alopecic and ulcerated lesions in the dorsal region of the ear, with purulent discharge and exacerbated painful tenderness. The animal was domiciled on the bank of the river Acre, municipality of Rio Branco, state of Acre, and suffered frequent parasitism by sandflies, especially in the head region. In the histopathological evaluation, hyperplastic cells were found, a large ulcerated area with the presence of fibrin and neutrophilic infiltrate in the epidermis. In the dermal layer, an inflammatory reaction pattern was identified, with the presence of fibrous connective tissue, dilated blood vessels and edema, however little defined. There was an intense presence of histiocytes with anisocytosis, in addition to neutrophils, plasma cells and lymphocytes in the perivascular and perianaxal region. In immunohistochemistry, lysozyme and cell markers CD1a and Thy1 were detected, but negative result for E-cadherin and CD11d. The immunosuppressive therapy indicated with prednisolone, plus cephalexin for secondary infections and topical treatment, with clinical remission within two years. **Discussion:** Although the etiopathogenesis of RCH is poorly understood, it is believed that, in addition to the genetic factor, the disease is triggered by an antigenic trigger on the skin, such as dogs susceptible to ticks and sandflies. The accumulation of defense cells in the skin tissue, against the antigenic stimulus, generates primarily an inflammatory process too. Immune maladjustment of dendritic cells and leukocytes occurs in the walls of dermal vessels, as well as exacerbated recruitment of histiocytes, characteristics seen in cell morphology analyzes. In RCH, the proliferation of histiocytes between collagen fibers and the infiltration of round cells in the dermis are indicative of the disease, as evidenced in this report. The immunohistochemistry is the method of choice, which allows establishing the cellular origin that triggered the disease, although the characterization of a differentiation cluster is underused in veterinary medicine. In this context, we seek to identify histiocytes, which comprise the group of cells derived from CD34 +, macrophage precursors, dendritic and Langerhans cells of the epithelial tissue, which act as antigen presenters. It can be concluded that canine RCH is an uncommon disease resulting from an inflammatory process of the dermis with difficult to identify immune dysregulation. Differential diagnosis with systemic histiocytosis, cutaneous histiocytoma, histiocytic sarcoma, as well as leishmaniasis and mycobacteriosis, are fundamental through histopathological, serological and immunohistochemical evaluations, to establish the definitive diagnosis of the disease, as well as the prognosis, and to better direct the therapeutic approach of the case.

Keywords: dog, biopsy, dermatopathy, histiocytes.

Descritores: cão, biópsia, dermatopatia, histiócitos.

DOI: 10.22456/1679-9216.101367

Received: 27 March 2020

Accepted: 20 September 2020

Published: 22 October 2020

Unidade de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Acre (UFAC), Rio Branco, AC, Brazil. CORRESPONDENCE: T.I.B. Silva [tamyres_ibs@hotmail.com]. Universidade Federal do Acre - UFAC. Rodovia BR 364, Km 04. CEP 69920-900 Rio Branco, AC, Brazil.

INTRODUÇÃO

Doenças que afetam o sistema tegumentar são frequentes na clínica médica de caninos, correspondendo a cerca de 75% da incidência como queixa principal ou de forma secundária [2]. Apesar da expressiva ocorrência, a conduta terapêutica de diversas dermatopatias ainda se limita a importantes desafios, que compreendem desde os atendimentos tardios, associados com relatos crônicos, até quadros de piodermite bacteriana secundária, dificultando o diagnóstico da afecção primária [8].

As doenças histiocíticas são caracterizadas como um grupo de enfermidades imunoproliferativas, comuns a seres humanos e animais, sendo manifestadas em diferentes tecidos, sob apresentações e estágios variáveis de acordo às células precursoras e à região anatômica acometida [3]. O canino é a espécie animal de maior susceptibilidade genética ao desenvolvimento de tais alterações [10,12].

Os distúrbios histiocíticos em cães foram descritos inicialmente na década de 1970, embora existissem limitações quanto à diferenciação entre histiocitose reativa, histiocitoma e sarcoma histiocítico [6,10]. A histiocitose cutânea reativa (HCR), assim como as demais proliferações de histiócitos, é uma doença incomum, havendo poucos relatos na literatura. Na maioria destes casos, o estudo clínico é limitado pela falta de detalhamento quanto aos dados de anamnese e caracterização dos achados patológicos do paciente [4,5,9].

Objetivou-se, com este relato de caso, descrever os achados clínicos, histológicos e imunohistoquímicos de histiocitose cutânea reativa em canino na Amazônia Ocidental.

CASO

Foi atendido na Unidade de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária da Universidade Federal do Acre, no ano de 2017, um cão, macho, da raça American pit bull terrier, de 7 anos de idade, com lesões cutâneas nos pavilhões auriculares, de forma bilateral, com evolução de 30 dias. O animal era domiciliado na margem do rio Acre, município de Rio Branco, estado do Acre (latitude 9°58'37.5"S, longitude 67°48'05.9"W), e sofria parasitismo frequente por flebotomíneos, sobretudo na região da cabeça.

Ao exame clínico, o animal encontrava-se ativo, com mucosas normocoradas, sem alterações cardíaca, respiratória e de temperatura retal. Os linfo-

nodos submandibulares se apresentavam discretamente hipertrofiados. Observou-se lesões ulceradas na região dorsal dos pavilhões auriculares, com alopecia, prurido em baixo grau, secreção purulenta, inúmeras formações nodulares (Figura 1A & 1B) e sensibilidade dolorosa exacerbada. Não foi detectada secreção otológica nos condutos auditivos, mas se observou meneio cefálico.

Foram colhidas amostras de sangue para hemograma e detecção de imunoglobulinas (IgM e IgG) específicas anti-*Leishmania* por ensaio imunoenzimático (ELISA)¹ e imunofluorescência indireta (IFI)². Realizou-se ainda punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dos nódulos do pavilhão auricular e dos linfonodos submandibulares para análise citopatológica, isolamento bacteriano (ágar sangue ovino³ 5% a 37 °C por 48 h) e fúngico (ágar Sabouraud⁴ a 30°C por 30 dias) [8].

Por biopsia, colheu-se tecido da face dorsal do pavilhão auricular, em porção não ulcerada, para análise histopatológica e detecção de marcadores celulares de histiócitos por imunohistoquímica⁵ [7,8]. A peça colhida foi mensurada em tamanho médio de 12 x 5 x 4 mm, com aspecto ligeiramente firme, compacto e tonalidade esbranquiçada, a qual foi acondicionada em formalina a 10%.

Como resultados, a sorologia para leishmaniose foi negativa. Na PAAF, não foram observadas alterações. Não houve crescimento de microrganismos patogênicos no isolamento fúngico. Entretanto, em cultivo bacteriano isolou-se *Staphylococcus* sp.

Na avaliação histopatológica (Figura 2), constatou-se células hiperplásicas, vasta área ulcerada com presença de fibrina e infiltrado neutrofílico na epiderme. Na camada dérmica, foi identificado padrão de reação inflamatória com presença de tecido conjuntivo fibroso, vasos sanguíneos dilatados e edema, porém pouco delimitado. Havia presença intensa de histiócitos com anisocitose, além de neutrófilos, plasmócitos e linfócitos na região perivascular e perianexal.

Não se verificou indícios de células neoplásicas ou a presença de formas amastigotas de *Leishmania* sp. De acordo com as colorações especiais por Periodic Acid Schiff⁶ e Fite-Faraco⁷ para detecção de fungos e bacilos álcool ácido resistentes (BAAR), respectivamente, o resultado foi negativo.

Em análise imunohistoquímica, detectou-se a lisozima e os marcadores celulares CD1a e Thy1, mas resultado negativo para E-caderina e CD11d. Nas regiões com deposição de fibrina também foi observado presença de neutrófilos degenerados.

Diante os resultados, foram prescritos como protocolo terapêutico a administração de prednisolona⁸ (0,5 mg/kg/TID) por 15 dias e cefalexina⁹ (30 mg/kg/SID) por 21 dias. Por via tópica, indicou-se limpeza diária com solução fisiológica 0,9% e aplicação de pomada¹⁰ à base de sulfato de gentamicina (0,5 g), sulfanilamida (5,0 g), sulfadiazina (5,0 g), ureia (5,0 g) e vitamina A (120.000 UI), até a remissão completa das lesões ulceradas e purulentas.

Após o início do tratamento, o animal apresentou melhora progressiva. Cerca de 60 dias de convalescência, as lesões no pavilhão auricular regrediram totalmente, restando apenas áreas de fibrose cicatricial e alopecia (Figura 1C & 1D). De acordo às reavaliações semestrais realizadas no período de dois anos (2018-2019) após o tratamento, a animal tem apresentado estabilidade e não houve o surgimento de novas lesões.

DISCUSSÃO

A etiopatogenia da HCR é pouco esclarecida, mas acredita-se que, além do fator genético, a doença seja desencadeada por um gatilho antigênico na pele, a exemplo de cães suscetíveis a carrapatos e flebotomíneos, vetores inclusive de enfermidades infecciosas, como erliquiose e leishmaniose. A hematofagia destes parasitos permite a inoculação de saliva contendo antígenos de baixo peso molecular (haptenos), capazes de gerar uma resposta imunológica no indivíduo parasitado [9,10].

A condição climática e geográfica tem influência na reprodução e disseminação de populações de artrópodes de uma região, elevando a possibilidade de parasitoses em hospedeiros próximos. No caso relatado, o canino era domiciliado na Amazônia, especificamente em localidade quente, úmida e alagadiça, características descritas como fator de risco à HCR [9]. Estes autores afirmam ainda que a constante estimulação antigênica por ação de vetores causa desequilíbrio metabólico celular.

O acúmulo de células de defesa no tecido cutâneo, frente ao estímulo antigênico, gera primariamente um processo inflamatório exagerado. Ocorre desajuste imunológico de células dendríticas e de leucócitos nas paredes dos vasos dérmicos, bem como recrutamento exacerbado de histiócitos, características estas visualizadas em análises de morfologia celular [1,10]. Clinicamente, sinais de edema, eritema, alopecia, nódulos, úlceras, crostas e prurido variável, além da ocorrência de infecções bacterianas secundárias, são comumente observados [5,9].

A avaliação citopatológica das lesões cutâneas tem como propósito a distinção de inflamações, hiperplasias e processos neoplásicos. Entretanto, são poucas as variações citomorfológicas para as doenças histiocíticas de cães, inviabilizando o diagnóstico da HCR por esta técnica de forma isolada [2,8].

Os achados histopatológicos, por sua vez, são fundamentais para o diagnóstico dermatológico, sobretudo na suspeita de doenças raras ou que evoluam para lesões vesiculares ou ulceradas, pois proporcionam uma perspectiva de toda a arquitetura tecidual e suas alterações [8]. Na HRC, a proliferação de histiócitos entre fibras colágenas e a infiltração de células redondas na derme são indicativas da doença [4,5,9], como evidenciado neste relato.

No Distrito Federal, 86% de caninos apresentaram concomitantemente formas amastigotas de *Leishmania* e quantidade considerável de histiócitos como padrão histológico. Desta forma, técnicas sorológicas para identificação de leishmaniose também devem ser empregadas na suspeita de proliferações histiocíticas [2].

Além disso, o uso colorações especiais na histopatologia dá suporte ao diagnóstico diferencial. O Periodic Acid Schiff é um corante para identificação de microrganismos fúngicos, que possibilita a visualização de estruturas de diversos agentes fúngicos. A coloração Fite Faraco ou Ziehl-Neelsen é empregada na detecção de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), sendo excludente para micobactérias [2,8]. Ambas as colorações foram utilizadas no estudo, contudo, demonstrando resultados negativos.

Para o diagnóstico definitivo da HCR, a imunohistoquímica é o método de eleição, que permite estabelecer a origem celular que desencadeou a doença, embora a caracterização de cluster de diferenciação (CD) seja subutilizado na medicina veterinária. Neste contexto, busca-se a identificação de histiócitos, que compreendem o grupo de células derivadas de CD34+, precursores de macrófagos, células dendríticas e de Langerhans do tecido epitelial, que atuam como apresentadores de antígenos [6,7].

A imunomarcagem para HCR em caninos ocorre pela expressão de CD1a,b,c, CD11c, CD4, Thy1 e MHC-II (Major Histocompatibility Complex II), o que difere do histiocitoma (CD1a,b,c, CD11c, CD4, Thy1, MHC-II e E-caderina+) e do sarcoma histiocítico (CD1a,b,c baixo ou ausente, C11c, C11d e MHC-II) apenas por ser E-caderina e CD11d negativos, respectivamente [6,7].



Figura 1. Avaliação macroscópica de cão com histiocitose cutânea reativa em pavilhão auricular, antes e após o tratamento. A & B- Edema, eritema, alopecia, úlceras e lesões nodulares; C & D- Cicatrização das lesões cutâneas após 60 dias de tratamento.

A lisozima é uma enzima produzida por histiócitos e também pode ser detectada [10]. Os marcadores histoquímicos associados ao caso relatado foram CD1a e Thy1, além de lisozima, sendo CD11d e E-caderina negativos, resultados compatíveis com HCR [1,10,11].

De acordo às características celulares e patogênicas da HCR, a conduta terapêutica se dá pelo uso de imunossuppressores, a exemplo da prednisolona, fármaco de ação esteroideal que inibe a produção de mediadores pró-inflamatórios e interferons, além de fatores de crescimento e proliferação celular presentes na reparação cutânea. Em outros estudos, a indicação deste corticosteroide também foi favorável à terapia, não havendo recidivas [5,9]. Assim, acredita-se que mecanismos imunorregulatórios estejam associados [1]. Ademais, em decorrência da lesão tecidual, a pele torna-se suscetível a invasões bacterianas oportunistas, sendo

necessária a administração de antimicrobianos por via tópica e sistêmica de forma adicional à terapia [4,13].

Por fim, conclui-se que a HCR em caninos é uma doença incomum, resultante de processo inflamatório da derme com desregulação imune de difícil identificação. O diagnóstico diferencial com histiocitose sistêmica, histiocitoma cutânea, sarcoma histiocítico, além de leishmaniose e micobacterioses, são fundamentais por meio das avaliações histopatológicas, sorológicas e imunohistoquímicas, para estabelecer o diagnóstico definitivo da doença, bem como o prognóstico, e melhor direcionar a conduta terapêutica do caso.

MANUFACTURERS

¹Biogene. Recife, PE, Brazil.

²Imunodot Diagnósticos. Jaboticabal, SP, Brazil.

³MBiolog Diagnósticos. Belo Horizonte, MG, Brazil.

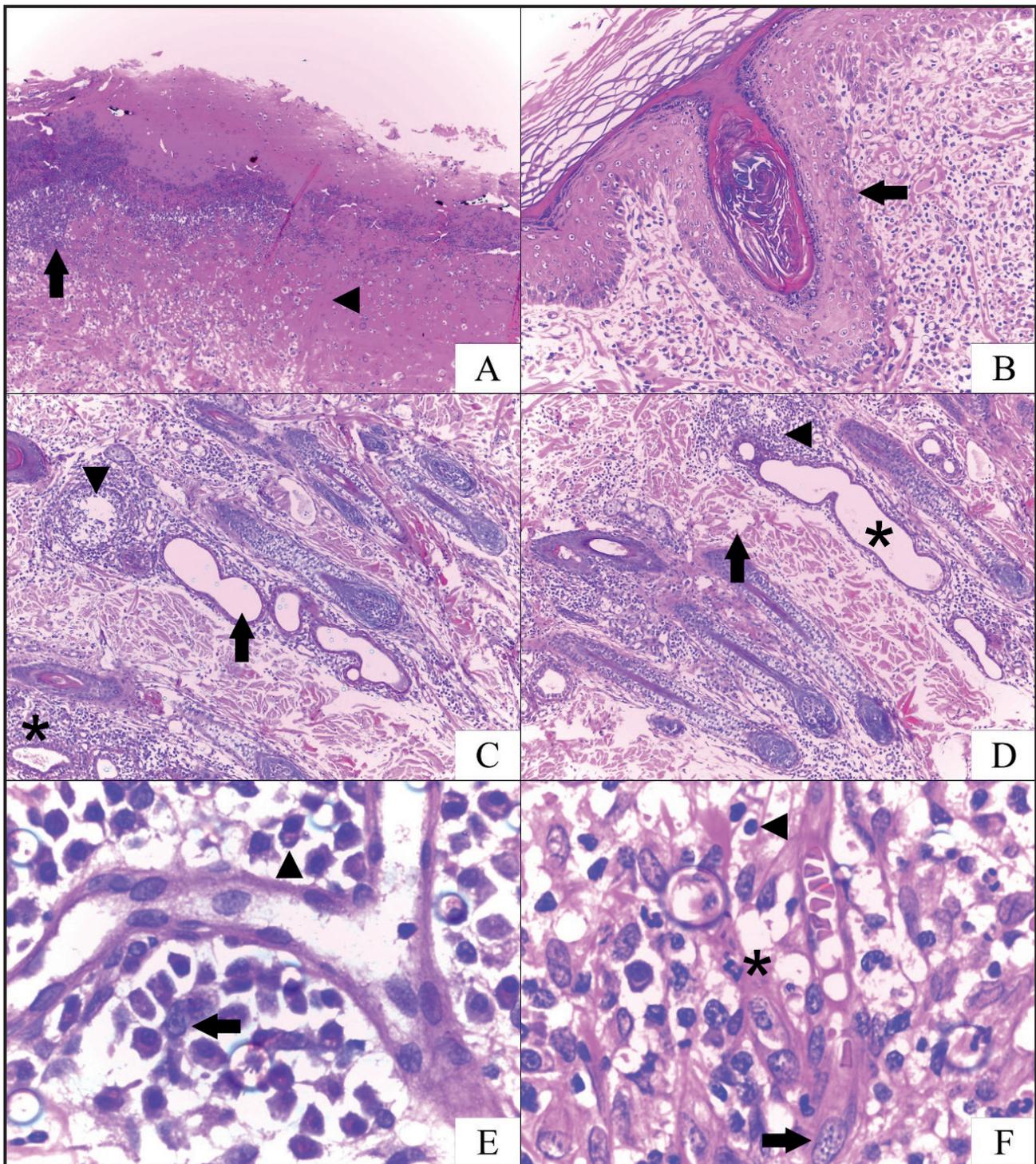


Figura 2. Achados histopatológicos de tecido epitelial de cão com histiocitose cutânea reativa. A- Infiltrado neutrofílico (seta) e deposição de fibrina (cabeça de seta) em epiderme [HE; obj.20x]; B- Infiltrado neutrofílico (seta) em epiderme [HE; obj.20x]; C- Edema (seta), vasos dilatados (cabeça de seta) e infiltrado de polimorfonucleares (*) em derme [HE; obj.10x]; D- Vasos dilatados (seta), infiltrado perivascular (cabeça de seta) e edema (*) em derme [HE; obj.10x]; E- Histiócito (seta) e plasmócito (cabeça de seta) em derme [HE; obj.100x]; F- Histiócito (seta), linfócito (cabeça de seta) e neutrófilo (*) [HE; obj.100x].

⁴Kasvi - Produtos Laboratoriais. São José do Pinhais, PR, Brazil.

⁵Santa Cruz Biotechnology. Dallas, TX, USA.

⁶Sigma-Aldrich. Darmstadt, HE, Germany.

⁷Laborclin Ltda. Pinhais, PR, Brazil.

⁸Ourofino Saúde Animal. Cravinhos, SP, Brazil.

⁹Ipanema Indústria de Produtos Veterinários. Araçoiaba da Serra,

SP, Brazil.

¹⁰Vetnil-Indústria e Comércio de Produtos Veterinários Ltda. Louveira, SP, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of this paper.

REFERENCES

- 1 **Affolter V.K. & Moore P.F. 2000.** Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells. *American Journal of Dermatopathology*. 22(1): 40-48.
- 2 **Cardozo M.J.L., Machado L.H.A., Melussi M., Zamarian T.P., Carnielli C.M. & Ferreira Júnior J.C.M. 2011.** Dermatopatias em cães: Revisão de 257 casos. *Archives of Veterinary Science*. 16(2): 66-74.
- 3 **Clifford C.A. & Skorupski K.A. 2019.** Histiocytosis Diseases. In: Vail D.M., Thamm D. & Liptak J. (Eds). *Small Animal Clinical Oncology*. 6th edn. Philadelphia: Saunders Elsevier, pp.818-826.
- 4 **Duarte G., Farias M.R., Schmidlin P.C. & Werner J. 2013.** Histiocitose cutânea reativa em cães: Relato de cinco casos. *Medvop Dermatologia*. 3(7): 138-144.
- 5 **Ferri S.T.B. & França R.K.N. 2013.** Histiocitose reativa cutânea em cão: relato de caso. In: *Anais do 39º Congresso Brasileiro da ANCLIVEPA* (Natal, Brazil). pp.187-189.
- 6 **Fulmer A.K. & Mauldin G.E. 2007.** Canine histiocytic neoplasia: an overview. *Canadian Veterinary Journal*. 10(48): 1041-1050.
- 7 **Kim J.H., Hu Y., Yongqing T., Kim J., Hughes V.A., Le Nours J., Marquez E.A., Purcell A.W., Wan Q., Sugita M., Rossjohn J. & Winau F. 2016.** CD1a on Langerhans cells controls inflammatory skin diseases. *Nature Immunology*. 17(10): 1159-1166.
- 8 **Madureira R. & Brum J.S. 2017.** Diagnóstico dermatológico em pequenos animais: o que pode influenciar? *Archives of Veterinary Science*. 22(4): 9-19.
- 9 **Mello S.F. & Bicalho A.P.C.V. 2013.** Histiocitose reativa cutânea em cães: revisão de literatura e relato de caso. *Revista V&Z em Minas*. 22(118): 51-56.
- 10 **Moore P.F. 2014.** A review of histiocytic diseases of dogs and cats. *Veterinary Pathology*. 51(1): 167-184.
- 11 **Nagata M., Hirata M., Ishida T., Hirata S. & Nanko H. 2000.** Progressive Langerhans' cell histiocytosis in a puppy. *Veterinary Dermatology*. 11: 241-246.
- 12 **Palmeiro B.S., Morris D.O., Goldschmidt M.H. & Mauldin E.A. 2007.** Cutaneous reactive histiocytosis in dogs: a retrospective evaluation of 32 cases. *Veterinary Dermatology*. 18(5): 332-340.
- 13 **Silva E.O., Moreno K., Pereira E.C.P. & Bracarense A.P.F.R.L. 2010.** Histiocitose reativa cutânea canina: relato de caso. *Clínica Veterinária*. 84: 60-64.