

APPUNTI DI CITOLOGIA DELL'APPARATO RIPRODUTTORE MASCHILE E FEMMINILE DEL CANE

Carlo Masserdotti DVM, DiplECVCP, Spec Bioch Clin IAT
Laboratorio Veterinario San Marco, Padova
e-mail: carlo.masserdotti@gmail.com

CITOLOGIA DELLA PROSTATA.

Le malattie prostatiche rappresentano una causa primaria di numerosi disordini genito-urinari del cane anziano. Il riconoscimento preciso della condizione primaria permette di stabilire una terapia mirata o, quanto meno, di formulare una prognosi corretta.

La prostata è un organo pari situato a ridosso dell'uretra intrapelvica, ventralmente al retto. Essa è una ghiandola a secrezione esocrina, costituita da strutture tubuloacinari, delimitate da linee singole di elementi colonnari o cuboidali a nucleo basale, supportate da stroma connettivale, il cui spessore è attraversato da vasi ematici e linfatici. Il prodotto di secrezione viene convogliato attraverso un sistema di dotti che sboccano nell'uretra e che nei segmenti distali sono delimitati da epitelio uroteliale transizionale.

TECNICHE DI PRELIEVO PER ESAME CITOLOGICO DELLA PROSTATA

Lo sviluppo tecnologico a disposizione del veterinario ha determinato un progressivo affinamento delle tecniche di prelievo, che un tempo si limitavano al prelievo per massaggio prostatico, mentre attualmente l'impiego delle più precise metodologie di diagnostica per immagini permette di raggiungere facilmente con aghi di campionamento il parenchima prostatico o singole lesioni specifiche. La tecnica di elezione è rappresentata dall'agoaspirazione transcutanea in regione addominale parapeniena sotto guida ecografica.

Tuttavia un elenco di tutte le tecniche di prelievo a disposizione è rappresentato da:

- massaggio prostatico transrettale e cateterizzazione uretrale
- agoaspirazione per via transcutanea perineale
- agoaspirazione per via transrettale
- agoaspirazione transcutanea parapeniena sotto guida ecografica

CITOLOGIA NORMALE DELLA PROSTATA

L'agoaspirazione della prostata normale può essere eseguito secondo le tecniche proposte nel paragrafo precedente. I campioni sono in genere moderatamente cellulari, costituiti da fondo ematico e dall'esfoliazione di elementi da cuboidali a colonnari, a citoplasma debolmente basofilo e nucleo basale a cromatina finemente irregolare; essi manifestano la tendenza a disporsi in brevi palizzate od in architetture di tipo pavimentoso.

CITOPATOLOGIA PROSTATICA

La prostata è un organo controllato dall'azione degli ormoni sessuali testicolari; l'insorgenza di malattie prostatiche deve essere quindi messa in correlazione con disturbi ormonali concomitanti. Il denominatore comune delle malattie prostatiche è l'ingrandimento dell'organo con conseguente riflesso sulla funzionalità urinaria e talora intestinale. Dalla semplice palpazione rettale, che permette di rilevare l'ingrandimento della ghiandola, all'esame ecografico, che fornisce dati circa le dimensioni, la presenza di lesioni cistiche, l'ecogenicità parenchimale, la raccolta dei dati clinici rappresenta una base ottimale per l'interpretazione del quadro citologico. Alcune comuni condizioni patologiche prostatiche sono.

- Prostatite purulenta. La condizione è generalmente causata dalla prosecuzione per contiguità di infezioni batteriche del tratto urinario uretrale o vescicale. Il quadro citologico evidenzia, accanto alla presenza di lembi di epitelio normale od iperplastico, un quantitativo variabile,

generalmente elevato, di granulociti neutrofili di aspetto variabilmente degenerato, talora impegnati in attività di fagocitosi batterica

- Cisti prostatiche. Possono insorgere dal parenchima o da residui del dotto di Müller. Clinicamente si presentano come masse occupanti spazio, che a volte possono manifestare localizzazione ectopica. Ecograficamente si caratterizzano per contenuto liquido abbondante e sottile parete cistica. Il quadro citologico relativo all'aspirazione del materiale liquido ottenuto non fornisce elementi diagnostici migliori della presenza di fondo ematico e di sporadici leucociti, tra cui soprattutto macrofagi e granulociti
- Iperplasia prostatica benigna. Comunissima malattia prostatica su base iperplastica, si caratterizza per segni clinici, quali disuria, pollachiuria ed ematuria. Il parenchima prostatico si presenta ingrandito, iperplastico e talora occupato da lesioni cistiche. L'agoaspirazione o l'agofissione parenchimale forniscono campioni abbondantemente cellulari, rappresentati da cellule di aspetto morfologico normale, organizzate in ampi lembi con disposizioni architettoniche di tipo honeycomb e a palizzata. In molti casi le cellule iperplastiche manifestano citoplasma colonnare, basofilo e microvacuolizzato. I nuclei sono sempre basali e caratterizzati da estrema regolarità di forma, dimensione e distribuzione della cromatina.
- Metaplasia squamosa. Trattasi di una condizione indotta dall'azione di un'iperstimolazione ormonale estrogenica, generalmente causata dall'attività di un tumore testicolare a cellule di Sertoli. I caratteri citologici sono rappresentati dalla trasformazione degli elementi epiteliali prostatici in cellule poligonali a citoplasma cheratinizzato, anucleati o recanti nucleo picnotico. Associato alla condizione è un frequente riscontro la presenza di cellularità flogistica di tipo granulocitario neutrofilico e macrofagico più o meno abbondante
- Neoplasie prostatiche. Clinicamente si manifestano con sintomatologia analoga a quella descritta per i precedenti disordini. La presenza di lesioni iper od ipoecogene del parenchima, unitamente al rilievo di linfadenopatia sottolombare o all'evidenza di lesioni metastatiche, deve far insorgere il sospetto della presenza di una neoplasia maligna. L'incidenza è bassa ed il tipo neoplastico maggiormente rappresentato è l'*adenocarcinoma*: esso insorge dalla componente epiteliale e si caratterizza per la presenza di cellule alterate da chiari aspetti di atipia, rapporto N/C invertito, dismetria nucleare, distribuzione irregolare della cromatina, macronucleoli e figure mitotiche. Le cellule neoplastiche si distribuiscono in aggregati tridimensionali, nel cui contesto possono assumere disposizione a palizzata o microacinare. Il fondo dell'allestimento è generalmente detritico, variabilmente ematico ed ingombro da cellularità flogistica. Il *carcinoma transizionale prostatico* trae origine dalla componente uroteliale dei dotti secretori. Il *sarcoma prostatico* è molto raro, insorge dalla componente mesenchimale e, all'agoaspirazione, si caratterizza per l'essfoliazione di elementi a citoplasma caudato, fusato o stellato, singoli od in aggregato, recanti nuclei ovoidi dismetrici a cromatina irregolarmente distribuita, talora nucleolati

CITOLOGIA DEI TESTICOLI.

Le malattie testicolari sono clinicamente rilevanti nel cane anziano e sono rappresentate soprattutto da forme neoplastiche. L'abitudine diffusa alla castrazione del gatto maschio rende l'incidenza di tali malattie un evento raro in questa specie.

CITOLOGIA NORMALE DEI TESTICOLI

L'agoaspirazione di testicoli normali fornisce generalmente cellularità elevata, ma è necessario osservare moltissima attenzione nelle manovre di prelievo ed allestimento poichè le cellule sono estremamente fragili e delicate. Generalmente il campione è costituito dall'essfoliazione di cellule di Sertoli, che manifestano citoplasma colonnare, nucleo basale e disposizione in palizzate; cellule germinative, rotonde, singole, in fasi variabili di maturazione, sino a quella finale rappresentata dagli spermatozoi, piccole cellule la cui forma prelude a quella finale dello spermatozoo, cioè testa ovoidale

ipercromatica e breve coda; cellule di leydig, rare, a citoplasma fusato o stellato, microvacuolizzato o ingombro da granuli basofili di lipofuscina, con nucleo rotondo od ovoide.

CITOPATOLOGIA TESTICOLARE

Tra le malattie testicolari non neoplastiche si annoverano soprattutto:

- *orchiti suppurative*, clinicamente rappresentate da ingrandimento testicolare e dolore intenso alla manipolazione: i rilievi citologici sono del tutto sovrapponibili a quanto descritto nei criteri di citologia infiammatoria generale.
- La *torsione del funicolo* è un evento raro, caratterizzato dalla rotazione del testicolo e dall'interruzione conseguente del flusso ematico per occlusione del plesso vascolare: il parenchima testicolare subisce quindi congestione vascolare passiva ed estesa degenerazione necrotica, che all'agoaspirazione forniscono materiale detritico non diagnostico.

I **tumori testicolari** sono molto frequenti e facilmente rilevabili, poichè clinicamente caratterizzati da ingrandimento dell'organo in sede scrotale; talora essi possono coinvolgere testicoli non completamente discesi nello scroto e quindi localizzati nel sottocute addominale o addirittura in cavità addominale.

I tumori testicolari più frequenti sono:

- **seminoma**: insorge dalla linea germinativa, è caratterizzato da cellule rotonde, di medie grandi dimensioni, a citoplasma debolmente basofilo e nucleo rotondo, singolo, doppio, talora multiplo, dismetrico, a cromatina irregolare, frequentemente macronucleolato, in attività mitotica atipica. Frequente l'associazione degli elementi neoplastici con un numero variabile di piccoli linfociti maturi.
- **sertolioma**: insorge dalla linea gonadostromale di cellule, che unitamente alle cellule germinative tappezzano il lume dei tubuli seminiferi. Si caratterizza per la proliferazione di elementi a citoplasma indistinto, frequentemente ingombro da macrovacuoli a margini netti, recante nucleo variabilmente dismetrico, a cromatina irregolare; gli elementi neoplastici tendono ad organizzarsi reciprocamente in lembi coesi, dove i citoplasmici sembrano fondersi uno nell'altro e dove è possibile osservare disposizioni in palizzate.
- **interstizioma o tumore a cellule di Leydig o leydiggioma**: insorge da una linea cellulare interstiziale extratubulare, i cui elementi si caratterizzano per profilo fusato o stellato, a citoplasma scarsamente basofilo microvacuolizzato, recante nucleo rotondo modicamente dismetrico, nucleolato, talora ingombro da pseudoinclusi. La caratteristica dell'interstizioma è la disposizione perivascolare delle cellule che si organizzano attorno all'asse di capillari lineari o ramificati.

CITOLOGIA VAGINALE.

Il ruolo principale di questa branca della citologia (*colpocitologia*) è di stadiare il ciclo estrale della cagna nei casi in cui si rende utile conoscere con relativa precisione il momento del picco estrale e dell'ovulazione. Esiste una correlazione tra il tasso di ormoni ovarici e l'aspetto morfologico delle cellule dell'epitelio vaginale. Tale correlazione comporta il fatto che l'epitelio vaginale, rappresentato in fase anestrade (bassi livelli di estrogeni) da alcune linee di cellule cuboidali nucleate, subisce in fase estrale (alti livelli di estrogeni) una trasformazione morfologica che determina una moltiplicazione degli strati cellulari, una progressione da forme cuboidali degli strati basali a cellule cheratinizzate anucleate di superficie, attraverso forme intermedie progressive. Dal punto di vista pratico l'interesse del citologo si rivolge al cosiddetto "indice di cheratinizzazione", che individua il numero percentuale di cellule cheratinizzate anucleate come criterio per la diagnosi di estro. Fisiologicamente nel cane si riconoscono le seguenti fasi del ciclo estrale:

- **anaestro**: fase di quiescenza ovarica, dominata da bassi livelli ormonali circolanti

- proestro: fase di preludio all'estro, caratterizzata da incremento progressivo dei tassi progestinici ed estrogenici. Anatomicamente si osserva edema vulvare e nelle fasi finali la presenza di perdite ematiche vaginali
- estro: momento corrispondente al massimo picco di increzione di estrogeni, durante il quale avviene l'ovulazione.
- diestro: fase conclusiva, durante la quale si verifica una diminuzione dei tassi di estrogeni circolanti.

TECNICHE DI PRELIEVO E COLORAZIONE

L'epitelio vaginale esfolia facilmente cellule, che possono essere campionate tramite l'utilizzo di un tampone cotonato, sfregato delicatamente nel lume vaginale, preferibilmente in regione della volta, benchè ogni punto della mucosa sia idoneo per il prelievo. Successivamente il materiale cellulare deve essere gentilmente rotolato su un vetrino portaoggetto, curando di non strisciare il materiale prelevato.

Le colorazioni di routine sono sufficienti nell'individuazione dei caratteri morfologici, che identificano le cellule cheratinizzate; esiste tuttavia una colorazione speciale, denominata colorazione di Schorr, che colora selettivamente di rosso gli elementi epiteliali completamente cheratinizzati, mentre colora in varie tonalità di blu gli elementi che ancora non sono giunti a maturazione; presupposto indispensabile di tale risultato è la fissazione del vetrino in alcool 95° immediatamente dopo l'allestimento.

CITOLOGIA VAGINALE NELLE FASI DEL CICLO ESTRALE

Le cellule che possono essere individuate in corso di esame colpocitologico sono:

- **Cellule basali:** elementi di piccole dimensioni, provenienti dagli strati più profondi dell'epitelio vaginale, a citoplasma basofilo, elevato rapporto N/C e nucleo rotondo a cromatina finemente regolare, talora nucleolato. Esse esfoliano in basso numero, singole od in piccoli aggregati.
- **Cellule parabasali:** elementi di dimensioni più ampie, dotate di nucleo ancora attivo, a cromatina finemente irregolare, talora nucleolato
- **Cellule intermedie:** elementi a citoplasma rotondeggiante o poligonale, di aspetto vicino alla completa cheratinizzazione, a basso rapporto N/C, dotati di nucleo rotondo a cromatina finemente regolare o di aspetto picnotico.
- **Cellule cheratinizzate:** elementi a citoplasma poligonale completamente cheratinizzato, privo di nucleo o dotato di occasionale nucleo picnotico

In dipendenza delle varie fasi del ciclo estreae si possono osservare i seguenti quadri citologici:

- **anaestro:** su fondo pulito, presenza di rari elementi basali o parabasali, singoli od in piccolo aggregato. In alcuni soggetti è possibile osservare batteri della normale flora vaginale
- **proestro:** aumenta il numero delle cellule esfoliate e cresce la percentuale di cellule parabasali ed intermedie. Nelle fasi finali si osserva una commistione di elementi intermedi e cellule cheratinizzate
- **estro:** esfoliazione pressochè completa, superiore all'80% delle cellule totali, almeno nelle fasi di picco estrale, di elementi cheratinizzati anucleati.
- **diestro:** intervento di granulociti neutrofili associati alle cellule epiteliali, che ritornano ad essere dominate da elementi intermedi e parabasali. La presenza di neutrofili nel citoplasma delle cellule epiteliali, conferisce loro il termine di "cellule metaestrali".

Oltre all'utilizzo nella determinazione del ciclo estrale, la colpocitologia può essere utile per individuare accoppiamenti indesiderati, fino a 72 ore dall'evento, tramite l'osservazione, accanto alle cellule epiteliali, di spermatozoi.

Le **neoplasie vaginali** sono rappresentate soprattutto dal leiomioma vaginale e dal TVT, benchè, in quanto area specializzata cutanea, la sede vaginale possa essere interessata dall'insorgenza di numerose neoplasie cutanee, tra cui mastocitomi, linfomi, neoplasie epiteliali e mesenchimali.

Il *leiomioma vaginale* si presenta clinicamente come massa, talora pedunculata, talora sessile, che all'agoaspirazione cede scarsissimo materiale o prelievi del tutto acellulari. Con tecniche invasive è possibile strappare microlembi cellulari, costituiti da elementi fusocellulari a citoplasma allungato e nucleo ovoidale "cigar-shaped", a cromatina finemente regolare.

Il *TVT o tumore venereo trasmissibile* è una neoplasia particolare, di cui si sospetta un'origine virale o "ad innesto"; oltre alle sedi vaginali può colpire la mucosa labiale, nasale e la cute.

I caratteri citologici sono rappresentati da esfoliazione di elementi rotondocellulari a citoplasma debolmente basofilo, talora vacuolizzato e nucleo rotondo a cromatina irregolarmente granulare