

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA PATOLÓGICA

Diretor: Prof. Dr. Euclides O. Martins

ESTUDO HISTOQUÍMICO DE PIGMENTOS EM FÍGADOS CIRRÓTICOS DE CÃES *

(HISTOCHEMICAL STUDY OF PIGMENTS IN CIRRHOTIC
LIVERS OF DOGS)

ROBERTO GRECCHI
Instrutor, MS

INTRODUÇÃO

A cirrose hepática, processo patológico caracterizado fundamentalmente por proliferação conjuntiva e distrofia de hepatócitos, desde há muito, vem sendo estudada sob os mais diferentes aspectos.

Na espécie humana conseguiu-se estabelecer grupos etiopatogénicos distintos para as cirroses. Assim têm-se as cirroses gordurosas nutricionais (em que estaria incluída a cirrose alcoólica), as pigmentares, as post necróticas e post hepatíticas, as cardíacas e as disontogénicas (37, 50).

Nos animais, seja por interesse da Patologia Comparada, seja pela especulação científica ou ainda pela exploração zootécnica, as cirroses hepáticas têm sido observadas e estudadas. Assim são várias as citações de cirrose hepática ocorrendo em condições naturais: em bovino (4, 39), equino (12, 39), suíno (39), ovino (38), gato (51), símio (17), ave de zoológico (48) e no cão (10, 36, 47, 53, 58).

O processo cirrótico hepático foi desencadeado experimentalmente em várias espécies animais e seu estudo recebeu grande impulso por permitir esclarecimentos sobre sua etiopatogenia. As espécies utilizadas e o agente desencadeador variaram grandemente, assim, como exemplo, pôde-se obter processo cirrótico hepático, em roedores, com dieta deficiente e administrando-se álcool (32), com dieta pobre em proteína e rica em gordura (5), pela intoxicação

* Trabalho apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre.

pelo tetracloreto de carbono (13), com deficiência de colina e excesso de Fe (35); em cães, pela alteração da homeostase hormonal (8, 19), pelo aumento da gordura na dieta (7, 9), pela administração de tetracloreto de carbono (29), por ouro radioativo (22); em coelhos, pela ingestão excessiva de cobre (23); em carneiros, por planta tóxica (24) e em aves com amendoim (27).

Em cães, embora a cirrose hepática já seja referida por tratadistas há muito tempo (6, 25), não temos até nossos dias estudos aprofundados que a caracterizem e a classifiquem. As raras citações que encontramos tratam-na como casos esparsos e não foram reunidos por um mesmo autor, em número suficiente, para permitir um estudo dos diferentes tipos de cirrose, que devem ocorrer espontaneamente em cães.

Na espécie humana só de 1956 para cá, chegou-se a uma classificação e conceituação de base morfológica que, após algum tempo e alguns testes, provou-se ser bem fundamentada (56). Parece-nos, pelo exposto, que o estudo da cirrose hepática canina deve, portanto, iniciar-se pela morfologia. Com parte integrante desta, figuram diferentes pigmentos endógenos.

Nas várias espécies, tornou-se patente a correlação entre pigmento e cirrose hepática, seja em condições naturais, seja em condições experimentais. Pelo que se depreende do estudo da cirrose, verifica-se que pigmentos podem ser causa, como ocorre com a hemossiderina e hemofuscina na hemocromatose humana (28), e podem, também, ser conseqüência, como ocorre com o ceróide, na cirrose dietética do rato (32).

O estudo da cirrose hepática em cães, apresenta aspectos interessantes seja pela etiologia, que difere daquela suposta para o homem ou daquela para herbívoros, seja pela morfologia que teria importância para mais acertada classificação.

O propósito do presente estudo é tentar estabelecer, através de métodos e testes histoquímicos, o conteúdo pigmentar na cirrose hepática de cães.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram separados do arquivo do Departamento de Anatomia Patológica, todos os casos de fibrose hepática de cães, abrangendo um período de 29 anos, aproximadamente. Foram reestudados e selecionados catorze daqueles que se enquadravam no conceito de cirrose.

Dos blocos de parafina, em que se encontravam os fragmentos de fígados cirróticos, correspondentes aos casos selecionados, foram obtidos cortes de 5 μ , fazendo-se com que todos pertencessem ao mesmo bloco. Os fragmentos estavam fixados em formol a 10%.

Para confirmação histológica de cirrose procederam-se às colorações de hematoxilina-eosina, de Mallory para fibras colágenas e de Gomori (aldeido-fucsina) para elásticas e à impregnação argêntica de Wilder-Foot para reticulares (21).

Com relação aos pigmentos foram utilizados testes para verificação da solubilidade, do descoramento e da autofluorescência e reações histoquímicas. Os métodos obedeceram as indicações de LISON (33), LILLIE (31) e PEARSE (44), seguidas por outros autores (15, 20, 26, 61).

A solubilidade foi testada em ácido, álcool, acetona, clorofórmio, éter e xilol. O descoramento foi testado pelo peróxido de hidrogênio (24 horas) e pelo ácido peracético (2 horas).

A verificação da autofluorescência à luz ultravioleta de 400 m μ , com filtro excitador BG 12 e de barragem K 530, foi feita em microscópio Leitz, utilizando-se como meio de montagem das lâminas, água destilada.

As reações e testes histoquímicos foram as seguintes:

a) para carotenóides: ação de ácido sulfúrico. Em caso positivo desenvolve-se coloração azul intensa.

b) para cromolipóides: Sudan Black B (cora em negro), método de Hueck (cora em azul que resiste ao descoramento por oxidante), método de Schmorl (cora lipofuscina em azul), ácido resistência (fucsina de Ziehl), método de Mallory para hemofuscina (cora cromolipóides em vermelho), método alternativo de Lillie (cora lipofuscina em preto azulado e a melanina em preto esverdeado); método de ácido periódico — Schiff (PAS) (40) e PAS após ação da saliva.

c) para pigmentos protéicos: método de Lillie (ion ferro absorvido pela melanina e revelado pelo ferricianeto), reação argentafim de Masson (que caracteriza melaninas mas também é positiva para cromolipóides) argentafim de Lillie e método da basofilia tamponada (que também é de valor para cromolipóides).

d) para pigmentos de núcleo tetrapirrólico: métodos de Perls para hemosiderina e de Stein e de Kutlik para bilirrubina.

Para se excluir a possibilidade dos pigmentos serem artefato de técnica (pigmento formólico) foi feito o método de Verocay.

RESULTADOS

Nos preparados histológicos, corados em H. E., foram evidenciados, em todos os casos, lesões características de cirrose hepática. O grau de fibrose hepática era variável, porém, na maioria dos casos, bridas e faixas conjuntivas, de maior ou menor espessura, es-

TABELA — Resultados dos testes e localização de pigmentos na cirrose hepática do cão

Testes e Métodos	Localização			Caso 1			Caso 2			Caso 3			Caso 4			Caso 5			Caso 6			Caso 7		
	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep
Hematoxilina Eosina	3+	1+	1+	2+	+	1+	1+	—	—	1+	—	—	3+	—	—	1+	—	—	2+	1+	—	—	—	—
Verocay (pigmento formólico)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Solubilidade:																								
álcool, xilol, éter, clorofórmio, acetona, ácido e álcali	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Descoramento:																								
água oxigenada e ácido peracético	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fluorescência	3+	2+	1+	1+	—	—	1+	—	—	1+	—	—	3+	1+	1+	2+	1+	—	3+	1+	—	—	—	—
Ácido sulfúrico (carotenóides)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Sudan Black B	3+	2+	2+	2+	2+	1+	2+	—	—	1+	—	—	3+	1+	2+	1+	—	—	3+	—	—	—	—	—
Sudan Black B após solventes	3+	2+	2+	2+	2+	1+	2+	—	—	1+	—	—	3+	1+	2+	1+	—	—	3+	—	—	—	—	—
Hueck (cromolipóides)	3+	1+	—	3+	2+	2+	1+	—	2+	—	—	—	3+	1+	3+	1+	—	2+	3+	2+	1+	—	—	—
Fuscina de Ziehl	2+	1+	1+	2+	1+	1+	1+	—	—	—	—	—	2+	1+	1+	—	—	—	3+	—	—	—	—	—
Fuscina de Mallory	2+	2+	3+	2+	2+	—	—	—	—	—	—	—	3+	1+	3+	1+	1+	2+	3+	2+	1+	—	—	—
Schmorl (lipofuscina)	1+	—	—	1+	—	—	—	—	—	—	—	—	1+	—	2+	—	—	1+	1+	—	—	—	—	—
Alternativo de Lillie (lipofuscina)	2+	2+	—	1+	1+	—	—	—	—	—	—	—	3+	—	1+	1+	—	1+	3+	—	—	—	—	—
PAS	3+	1+	—	1+	1+	—	—	—	—	—	—	—	3+	1+	3+	—	1+	—	—	2+	—	—	—	—
PAS após ação da amilase	3+	1+	—	1+	1+	—	—	—	—	—	—	—	3+	1+	—	—	1+	—	—	2+	—	—	—	—
Argentafim de Masson	3+	2+	—	1+	1+	1+	1+	—	—	—	—	—	2+	1+	—	—	—	—	3+	2+	—	—	—	—
Argentafim de Lillie	2+	1+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2+	—	—	—	—	—	2+	—	—	—	—	—
Lillie (melaninas)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Basofilia pH 5,6	3+	2+	2+	2+	2+	—	2+	—	2+	1+	—	—	3+	2+	2+	2+	—	1+	3+	2+	—	—	—	—
Basofilia pH 3,4	3+	1+	1+	2+	2+	—	2+	2+	2+	—	—	—	3+	2+	—	2+	—	1+	3+	1+	—	—	—	—
Basofilia p 2,2	—	—	—	—	—	—	—	2+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Perls	1+	1+	1+	—	—	—	1+	—	—	1+	—	1+	2+	3+	1+	1+	—	—	—	—	—	—	—	—
Stein (bilirrubina)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kutlik (bilirrubina)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Conj = Conjuntivo; CK = Células de Kupffer; Hep = Hepatócitos; 1, 2, 3 = quantidade;

+ = positivo; — = negativo.

TABELA I (Continuação)

Testes e Métodos	Localização					
	Caso 8			Caso 9		
	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep
Hematoxilina Eosina	1+	—	—	2+	—	—
Verocay (pigmento formólico)	—	—	—	—	—	—
Solubilidade: álcool, xilol, éter, clorofórmio, acetona, ácido e álcali	—	—	—	—	—	—
Descoramento: água oxigenada e ácido peracético	—	—	—	—	—	—
Fluorescência	2+	1+	—	1+	—	—
Acido sulfúrico (carotenóides)	—	—	—	—	—	—
Sudan Black B	3+	1+	1+	2+	—	—
Sudan Black B após solventes	3+	1+	1+	2+	—	—
Hueck (cromolipóides)	—	—	—	2+	—	—
Fuscina de Ziehl	1+	1+	—	2+	1+	—
Fuscina de Mallory	—	—	—	3+	—	—
Schmorl (lipofuscina)	1+	—	1+	—	—	—
Alternativo de Lillie (lipofuscina)	—	—	—	—	—	—
PAS	—	—	—	3+	2+	3+
PAS após ação da amilase	—	—	—	2+	2+	—
Argentafim de Masson	1+	—	1+	—	—	—
Argentafim de Lillie	—	—	—	—	—	—
Lillie (melaninas)	—	—	—	—	—	—
Basofilia pH 5,6	1+	—	—	3+	—	—
Basofilia pH 3,4	1+	—	—	2+	—	—
Basofilia p 2,2	—	—	—	—	—	—
Perls	—	—	2+	2+	1+	—
Stein (bilirrubina)	—	—	—	—	—	—
Kutlik (bilirrubina)	—	—	—	—	—	—

Conj = Conjuntivo; CK = Células de Kupffer; Hep = Hepatócitos; 1, 2, 3 = quantidade;

Caso 10			Caso 11			Caso 12			Caso 13			Caso 14		
Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep	Conj	CK	Hep
2+	—	—	3+	—	—	3+	3+	—	+	3+	—	3+	3+	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2+	—	—	3+	2+	—	3+	2+	1+	2+	1+	—	3+	2+	1+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3+	—	—	2+	—	—	3+	1+	—	3+	—	1+	3+	1+	1+
3+	—	—	2+	—	—	3+	1+	—	3+	—	1+	3+	1+	1+
3+	1+	3+	3+	2+	—	3+	2+	2+	3+	1+	1+	3+	1+	2+
2+	—	2+	2+	—	1+	2+	—	1+	3+	—	—	3+	1+	—
2+	1+	2+	2+	—	—	2+	—	—	3+	1+	—	3+	2+	1+
1+	—	2+	2+	2+	2+	1+	1+	—	3+	1+	—	1+	1+	—
2+	—	—	2+	—	—	2+	—	—	2+	1+	—	3+	—	—
—	—	2+	1+	1+	—	2+	1+	—	2+	2+	—	2+	2+	2+
3+	—	1+	3+	3+	1+	3+	1+	—	2+	—	—	3+	1+	—
—	—	—	3+	—	—	—	—	—	—	—	—	3+	1+	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3+	—	—	3+	3+	—	3+	3+	—	3+	—	—	3+	3+	—
2+	—	—	3+	2+	—	3+	3+	—	3+	—	—	3+	2+	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2+	3+	2+	2+	1+	1+	3+	3+	3+	3+	3+	—	2+	1+	2+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = positivo; — = negativo.

tavam presentes. Estes elementos modificavam profundamente a estrutura glandular, favorecendo também a delimitação de pseudo-lóbulos. Na periferia destes, as malhas conjuntivas, em alguns casos, aprisionavam grupos de hepatócitos (Fig. 1). Ainda no seio do tecido conjuntivo, era notada acentuada hiperplasia de condutos biliares cujo epitélio se apresentava de aspecto jovem.

A impregnação argêntica de Wilder-Foot evidenciou, de caso para caso, maior ou menor quantidade de fibras reticulares, porém sempre superando a quantidade normal.

Pelo método da aldeido-fucsina de Gomori fibras elásticas foram evidenciadas em todos os casos, principalmente no conjuntivo perilobular.

O método de Mallory para fibras colágenas pôs em evidência aumento pronunciado das mesmas.

O parênquima hepático estava profundamente alterado em sua arquitetura e diminuído relativamente ao estroma. Somente em alguns casos, em que o processo cirrótico era incipiente, o parênquima ainda lembrava o normal em disposição.

O grau de degeneração dos hepatócitos era muito variável, inclusive no mesmo corte histológico. As alterações patológicas variavam desde a inchação turva à necrose, sendo mais evidente a vacuolização citoplasmática. O número de hepatócitos jovens era pequeno em relação ao dos lesados.

A quantidade de hemácias, quer em lacunas quer junto aos hepatócitos, era variável, porém maior nos casos mais graves. Em raros casos, no seio do parênquima, encontravam-se neutrófilos. Em alguns casos, a presença de vacúolos era mais marcante por serem estes, além de em maior número, de avantajado tamanho e estarem intimamente justapostos.

Pelo método da Hematoxilina-Eosina, em todos os casos estudados, foram vistos pigmentos, cuja cor variava do amarelo-ouro ao amarelo-acastanhado, nas vias biliares, no interior de histiócitos, das células de Kupffer e mesmo de hepatócitos, ou então formando depósitos ao nível do tecido conjuntivo. Apresentavam-se sob a forma de bastonetes ou de forma difusa.

Os resultados dos testes a que os pigmentos foram submetidos encontram-se na Tabela I.

O pigmento encontrado nas vias biliares, foi negativo para os testes de Stein e de Kutlik, indicados para bilirrubina.

A coloração de H.E. foi incluída na tabela afim de se poder avaliar a presença de material naturalmente corado, e sem sofrer ação de método específico algum.

A autofluorescência positiva foi indicada com sinais (+) e a cor variou do amarelo brilhante ao amarelo-acastanhado.

Afim de melhor caracterizar alguns dos aspectos histoquímicos estudados no fígado cirrótico de cães, são mostradas as figuras de 2 a 6.

DISCUSSÃO

Pelo que se depreende da consulta bibliográfica, são raros e isolados os casos descritos de cirrose hepática no cão. Assim sendo, não nos foi possível obter uma referência segura para a classificação e conceituação, motivo pelo qual preferimos nos referir àquela testada por STEINER (56, 57) para o processo cirrótico humano, que, em essência, concorda com o que foi estabelecido pelo 5.º Congresso Pan Americano de Gastroenterologia (49), reunido em Havana e pelo Simpósio em KAMPALA (59). No estudo levado a efeito por aquele autor (56) “o termo cirrose foi usado para fígados geralmente nodulares, que microscopicamente exibiam feixes fibrosos, membranas, septos ou cicatrizes que subdividiam o órgão em nódulos que, junto com hiperplasia ou regeneração, distorciam a arquitetura hepática original”.

Com os métodos de H. E., Mallory, Gomori e Wilder Foot verificamos que nossos 14 casos se enquadram no conceito de cirrose acima descrito, havendo, entretanto, grande variabilidade quantitativa, no que diz respeito ao conjuntivo e seus constituintes, bem como nas alterações parenquimatosas.

Pelos resultados obtidos no presente estudo concluímos que na cirrose hepática canina temos a presença de pigmentos pertencentes, na classificação de LISON (33), ao grupos dos cromolipóides e ao dos de núcleo tetrapirrólico.

Não foram encontrados nem pigmentos carotenóides, nem pigmentos melânicos, com os testes utilizados.

Embora houvesse evidência de cilindros biliares e de bile nos sinusóides e ductos biliares, nos cortes corados em H.E., pelos métodos de Stein e de Kutlik, para bilirrubina, não conseguimos caracterizá-los, fato para o qual não encontramos explicação.

Pigmentos sob a forma de grânulos, encontrados no tecido conjuntivo, nas células de Kupffer e em hepatócitos, que ao natural se apresentaram de cor amarelo-acastanhada, caracterizaram-se pela insolubilidade nos solventes utilizados, pela sudanofilia, por fraca basofilia, pela autofluorescência à luz ultravioleta, pela reação de resistência, pela positividade ao método de Hueck e negatividade à ação do ácido sulfúrico, características essas próprias dos cromolipóides (33).

A quantidade de pigmento encontrado variou grandemente, sendo praticamente nula nos casos 4 e 6, embora com alguns testes positivos, porém a maioria inconsistentes.

De acôrdo com LISON (33) o termo geral cromolipóides inclui o ceróide, as lipofuscinas e a hemofuscina que possuem caracteris-

ticas comuns, e, as não comuns são variáveis frente aos testes ao nosso alcance, fazendo com que as diferenças sejam baseadas principalmente na solubilidade, na localização, tamanho dos grânulos e alguns testes.

A hemofuscina é considerada como uma lipofuscina por alguns autores (2) e ainda, segundo outros (14) desapareceria nos fragmentos incluídos pela técnica usual em parafina, ou com a estocagem. Sendo o nosso material proveniente de arquivo e estando incluído em parafina, a existência do referido pigmento torna-se difícil de ser analisada, embora no caso seja lícito suspeitar-se de sua presença.

O ceróide, pigmento caracterizado na cirrose dietética do rato (32), foi o mais evidente e que se apresentou em maior quantidade e regularidade em nossos casos. Como pode ser observado nos quadros de resultados, o método da fucsina de Ziehl, para ácido resistente, foi positivo em quase todos eles. A reação argentafim de Masson, o PAS antes e após ação da saliva, métodos que também dão resultado positivo para o ceróide (15, 20 30) acompanharam a reação anterior que sozinho já serviria, na opinião de LISON (33), para caracterizá-lo.

As lipofuscinas, devido ao fato de apresentarem propriedades físicas e tintoriais muito próximas às do ceróide e, em nosso material, estarmos em presença de uma mistura de pigmentos, não puderam, se presentes, ser caracterizadas claramente. A reação de Schmorl, encontrada positiva em alguns casos, não nos permite concluir pela presença de lipofuscinas, visto que, VILLA (61) e GRECCHI e col. (20) já a encontraram positiva para ceróide. Na pesquisa da basofilia não foi evidenciado nenhum pigmento fortemente basófilo, como seriam, segundo PEARSE (44), as lipofuscinas.

Quanto à presença de pigmentos de núcleo tetra pirrólico concluímos pela existência de hemosiderina, tendo em vista a reação de Perls positiva e a presença de grânulos, com sua cor natural amarelo-ouro, justapostos aos do ceróide, nos depósitos do conjuntivo, na reação de Ziehl. Com a excessão dos casos 2 e 7, todos apresentaram reação para Fe positiva no seio do tecido conjuntivo, alguns nas células de Kupffer e outros, mais raros, no interior de hepatócitos.

Material granuloso no interior de hepatócitos de cães normais, descrito (41) como sendo PAS positivo, acidófilo em H.E., ácido resistente pelo método de Ziehl, e apresentando-se de cor castanha com o método de Sudan Black B, não pode ser confundido com pigmentos de mesma localização encontrados por nós, devido ao fato de faltar-lhe características de pigmento e por ser em grânulo único e grande, em comparação com os nossos que eram pequenos e múltiplos.

Outros autores (16) também descreveram inclusões citoplasmáticas, não lipídicas, nas células hepáticas de cão, não caracterizadas como pigmento.

Em outras espécies, em fígados não cirróticos, vários pigmentos foram descritos e caracterizados. Assim, no homem foi evidenciado pigmento semelhante ao ceróide em 15% de indivíduos normais e, mais abundantemente, em casos de hepatite, nas regiões de degeneração celular (54); lipofuscina também foi encontrada em diferentes idades e em quantidade não relacionada a hepatites, cirrose e esteatose hepáticas, podendo aparecer ou desaparecer rapidamente, estando, portanto, mais ligada à função hepática que ao desgaste (1). Este mesmo fenômeno de desaparecimento de material corado, em certos estados patológicos do fígado, foi observado por outros autores (46) que não caracterizaram o pigmento em estudo. Ainda na espécie humana, a lipofuscina foi descrita na hepatite epidêmica (34); em carneiros, foi descrito o ceróide hepático, quando submetidos experimentalmente à inalação de cimento e quando afetados por fasciolose (60); em ratos, foi descrita a hemosiderina, em condições experimentais (55); em *Allouata fusca*, bueio americano, foi descrito e caracterizado o ceróide (26).

A presença de pigmento em fígados cirróticos, em diversas espécies, foi observada há muito. O exemplo mais clássico é o da hemocromatose que, até em nossos dias, vem sendo estudada. Assim é que, por métodos mais recentes e aplicando-se sistemáticas modernas, foram detectados, além da hemofuscina e da hemosiderina, cromolipóides, tipo ceróide, e lipofuscinas (28). Em coelhos, foi descrita a hemosiderina em condições experimentais de intoxicação pelo cobre (23). Numerosos autores, estudando a cirrose experimental em ratos, descreveram o ceróide (13, 14, 32). A hemosiderina foi descrita em coelhos e ratos, se bem que os autores (3) preferiram se referir a quadro de pseudo-cirrose. Em cavalos, na cirrose enzoótica, em que a ingestão de plantas tóxicas é sugerida como causa, é descrita a hemosiderina em grande quantidade, além de outro pigmento amarelado sob forma de grânulos e massas, de dimensões variáveis, azul da Prússia negativo, no interior de hepatócitos e das células de Kupffer, não caracterizado (12).

Na cirrose hepática natural do cão, embora alguns autores (53, 58) tenham descrito o quadro histopatológico, não fazem referências a pigmentos. Outros observaram depósitos de pigmentos hemáticos não caracterizados (47) e outros ainda descreveram hemosiderina, detectada pela técnica de MacCallum, ao redor de pseudo lobulos, nas células de Kupffer e no citoplasma de hepatócitos (36).

Vários pesquisadores, em uma série de experimentos, desencadearam o processo da cirrose hepática em cães de diferentes maneiras e, em seu detalhado estudo anatomopatológico, não mencionam a presença de pigmentos (9, 11, 18).

Quanto a origem dos pigmentos cromolipóides, por nós encontrados no presente estudo, ela pode ser devida à necrobiose de células hepáticas que ocorre na cirrose ou nos estágios pré-cirróticos. A natureza lipídica do ceróide já é de há muito conhecida (43) e visto que, na degeneração de hepatócitos, há uma fase em que lipídeos se acumulam em grande quantidade no seu interior, como pode ser suposto em nossos casos, estes poderiam servir de ponto de partida para a produção do referido pigmento. Obtivemos, como pode ser observado nos quadros de resultados, grânulos ácido resistentes, no interior de hepatócitos, em sete casos, o que nos poderia levar a esta conclusão. Por outro lado, em hepatócitos de alguns pseudolóbulos, este fato não foi observado, visto estarem em regeneração. Com a necrose dos hepatócitos haveria a liberação do pigmento que poderia então, ser fagocitado por macrófagos, indo formar depósitos no conjuntivo. Podemos aventar a hipótese desta histogênese para o ceróide em nossos casos, baseados em sugestões de vários autores (26, 45, 52) e em estudos experimentais em cães que receberam grandes doses de emulsões de gordura, e que também confirmam a origem intracelular de pigmentos do grupo lipofuscinas (42). Revelaram ainda, estes estudos, que nos estágios iniciais, o pigmento diferiu bastante daqueles do grupo lipofuscínico. Se levarmos em conta a opinião de PEARSE (44), segundo a qual o ceróide é um estágio evolutivo das lipofuscinas, aqueles autores estavam em presença do ceróide. No entanto, a lipofuscina poderia ser um pigmento normal da célula hepática que seria liberado e fagocitado quando os hepatócitos se desintegram (34).

Quanto à hemossiderina, sua presença foi facilmente evidenciável por conter ferro, detectável pela reação de Perls. Sua origem em nossos casos de cirrose, parece residir em hemácias extravasadas. Tendo em vista a variabilidade de nossos quadros histopatológicos e dos graus de evolução da cirrose em que nosso material foi colhido, é plenamente justificável a diferença de quantidades de pigmento férrico por nós encontrada. Em alguns casos, a sobrecarga férrica era tão grande que, juntamente com pigmento férrico ou não, no interior ou fora de hepatócitos, poderia lembrar quadro de hemocromatose idiopática humana (28).

SUMMARY

Both hemosiderin and a chromolipoid (ceroid type) were histochemically characterized in fourteen cirrhotic livers of dogs. These pigments were found within the cells of the interlobular connective tissue as well as within the hepatic and the Kupffer cells. Both carotenoids and melanins were not detected with the use of the present methods.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BACHMANN, K. D. — Über das lipofuscin der leber. *Virch. Arch.*, 323:133-142, 1953.
2. BARKA, T.; ANDERSON, P. J. — Histochemistry. Theory, practice, and bibliography. 2.^o ed. New York, Harper & Row, 1965.
3. BERTOLAMI, F.; SQUADRINI, F. — Le foie dans quelques formes de sidérose expérimentale; observations histomorphologiques et histo-chimiques. *Rev. int. Hépat.* 6:389-418, 1956.
4. BETTY, R. W.; MARKSON, L. M. — Liver biopsy in the diagnosis of ragwort (*Senecio Jacobea*) poisoning in a herd of cattle. *Vet. Rec.*, 66: 398-400, 1954.
5. BLUMBERG, H.; GRADY, H. G. — Production of cirrhosis of the liver in rats by feeding low protein, high fat diets. *Arch. Path.*, 34:1035-1041, 1942.
6. CADIOT, P. J.; BRETON, F. — Médecine et chirurgie canines. 4.^o ed. Paris, Asselin et HouzEAU, 1924.
7. CHAIKOFF, I. L.; CONNOR, C. L. — Production of cirrhosis of the liver of normal dog by high fat diets. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N.Y. 43: 638-641, 1940.
8. CHAIKOFF, I. L.; CONNOR, C. L.; BISKIND, G. R. — Fatty infiltration and cirrhosis of the liver in depancreatized dogs maintained with insulin. *Amer. J. Path.*, 14:101-110, 1938.
9. CHAIKOFF, I. L.; EICHHORN, K. B.; CONNOR, C. L.; ENTENMAN, C. — The production of cirrhosis in the liver of the normal dog by prolonged feeding of a high-fat diet. *Amer. J. Path.*, 19:9-21, 1943.
10. CLARKSON, T. B. — Diagnosis of hepatic cirrhosis in the dog. *Mod. vet. Pract.*, 40:36-38, 1959.
11. CONNOR, C. L. — Fatty infiltration of the liver and the development of cirrhosis in diabetes and chronic alcoholism. *Amer. J. Path.*, 14:347-363, 1938.
12. CURIAL, O.; GUIMARÃES, J. P. — Cirrose hepática enzoótica no cavalo. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 56:635-649, 1958.
13. EDWARDS, J. E.; DALTON, A. J. — Induction of cirrhosis of the liver and of hepatomas in mice with carbon tetrachloride. *J. nat. Cancer. Inst.*, 3:19-41, 1942.
14. ENDICOTT, K. M.; LILLIE, R. D. — Ceroid, the pigment of dietary cirrhosis of rats. Its characteristics and its differentiation from hemo-fuscin. *Amer. J. Path.*, 20:149-153, 1944.
15. FAVA DE MORAES, F. — Histochemical study of the ceroid pigment in dentigerous cysts. *Ann. Histochem.*, 9:221-228, 1964.
16. FISHER, E. R.; FISHER, B. — Cytoplasmic liver cell inclusions following arterialization in the dog. *Amer. J. Path.*, 30:987-1002, 1954.

17. GAISFORD, W. D.; ZUIDENA, G. D. — Nutritional Laennec's cirrhosis in the *Macaca mullata* monkey. *J. surg. Res.*, 5:220-235, 1965.
18. GILMAN, T.; CHAIKOFF, I. L. — Pathogenesis of experimental hepatic fibrosis and cirrhosis in the dog. *Arch. Pathol.*, 48:67-84, 1949.
19. GRAFF, I.; NEGRIN, J.; PAGE, I. H. — The development of hepatic cirrhosis in dogs after hypophysectomy. *Amer. J. Pathol.*, 20:823-855, 1944.
20. GRECCHI, R.; MARIANO, M.; SALIBA, A. M.; ZEZZA NETO, L. — Ceroid pigment in ovary of a mare. Histochemical study. *Rev. bras. Biol.*, 26:361-366, 1966.
21. GURR, E. — Staining animal tissues. Practical and theoretical. 1.^o ed. London, Leonard Hill Limited, 1962.
22. HAHN, P. F.; JACKSON, M. A.; GOLDIE, H. — Liver cirrhosis with ascites induced in dogs by chronic massive hepatic irradiation with radioactive colloidal gold. *Science*, 114:303-305, 1951.
23. HALL, E. M.; MACKAY, E. M. — Experimental hepatic pigmentation and cirrhosis. I. Does copper poisoning produce pigmentation and cirrhosis of the liver? *Am. Jour. Pathol.*, 7:327-342, 1931.
24. HARRIS, P. N.; HANDERSON, F. G.; CHEN, K. K. — Hepatic cirrhosis induced in sheep by *Senecio longilobus*. *Arch. Pathol.*, 64:297, 1957.
25. JOEST, E. — Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Berlin, Verlagsbuchhandlung von Richard Schoetz, 1936.
26. KATCHBURIAN, E.; SASSO, W. S.; DELLA SERRA, O. — Estudo histoquímico de um pigmento da célula hepática do bugio "*Alouatta fusca*". *Rev. Brasil. Biol.*, 21:131-138, 1961.
27. KÖHLER, H.; SWOBODA, R. — Liver cirrhosis produced in duck by groundnut meal. *Wien. Tierarztl. Msch.*, 49:205-219, 1962.
28. LAMOTTE, M.; MARTIN, E. T.; KLEINKNECHT, D. — Les pigments hépatiques de l'hémochromatose idiopathique. *Presse méd.*, 72:3361, 1964.
29. LAMSON, P. D.; WING, R. — Early cirrhosis of the liver produced in dogs by carbon tetrachloride. *J. Pharmacol. exper. Ther.*, 29:191-202, 1926.
30. LEE, C. S. — Histochemical studies on the ceroid pigments of rats and its relation to necrosis. *J. nat. Cancer. Inst.*, 11:339-349, 1950.
31. LILLIE, R. D. — Histopathologic technic and practical histochemical. 3.^o ed. London, McGraw-Hill Book Company, 1965.
32. LILLIE, R. D.; DAFT, F. S.; SEBRELL JR., W. H. — Cirrhosis of the liver in rats on a deficient diet and the effect of alcohol. *Publ. Hlth. Rep., Wash.*, 56:1255-1258, 1941.
33. LISON, L. — Histochimie et cytochimie animales. 3.^o ed. v. 2. Paris, Gauthier-Villars, 1960.

34. LUCKE, B. — The pathology of fatal epidemic hepatitis. *Amer. J. Path.*, 20:471-594, 1944.
35. MacDONALD, R. A. — Experimental pigment cirrhosis. Its production in rats by feeding a choline-deficient diet with excess iron. *Amer. J. Path.*, 36:499, 1960.
36. MADEIRA, A. C.; TROPA, E.; LOPES, J. S. — Um caso de cirrose no cão. *Rev. Med. Vet.*, Lisboa, 41:438-461, 1946.
37. MAFFEI, W. E. — Cirrose hepática. Sua patogenia à luz dos fatos clínicos e anátomo-patológicos. *Arq. Hosp. S. Casa*, S. Paulo, 1:17-68, 1954.
38. MATHEWS, F. P. — Poisoning of cattle by a species of groundsel. *Exper. Sta. Bull.* no. 481, Texas A & M. College, College Station, 1933.
39. McCULLOCH, E. C. — Hepatic cirrhosis of horses, swine and cattle due to seeds of the Tarweed *Amsinckia intermedia*. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 96:5-18, 1940.
40. McMANNUS, J. F. A. — Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, London, 158:202, 1946.
41. MURTI, G. S.; BORGMANN, R. — Intracytoplasmic periodic acid — Schiff positive nonglycogenic globules in canine liver. Their histochemical characterization. *Am. J. Vet. Res.*, 26:63-67, 1965.
42. NEGLIA, W.; BURROWS, L.; THOMPSON, S. W.; SCHAFFNER, S. F. — Ultrastructural studies of hepatic pigment following administration of intravenous fat. *Lab. Invest.*, 12:378-385, 1963.
43. NORRIN, S. A. — Lipid nature of ceroid in experimental nutritional cirrhosis. *Arch. Path.*, 82:259-266, 1966.
44. PEARSE, A. G. — Histochemistry. Theoretical and applied. 2.^a ed. London, J. & A. Churchill, Ltd., 1961.
45. POPPER, H.; GYORGY, P.; GOLDBLATT, H. — Fluorescent material (ceroid) in experimental nutritional cirrhosis...*Arch. Path.*, 37:161-168, 1944.
46. POST, J.; BENTON, J. G.; BREAKSTONE, R. — Observations on a cytoplasmic hepatic-cell pigment in man. *Arch. Pathol.*, 52:67-72, 1951.
47. RAMPICHINI, L.; NARDI, E.; DI ANTONIO, E. — Contributo allo studio della cirrosi epatica del cane da *Opisthorchis felinus* (Rivolta, 1884). *Vet. Italiana*, 14:980-988, 1963.
48. RATCLIFFE, H. L. — Hepatitis, cirrhosis and hepatoma in birds. *Cancer Res.*, 21:26-30, 1961.
49. Report of the board for classification and nomenclature of cirrhosis of the liver. Fifth Pan-American Congress of Gastroenterology, La Habana, Cuba, January 20-27, 1956. *Gastroenterology*, 31:213-216, 1956. Cit Steiner (56).

50. ROBBINS, S. L. — Patologia. Com aplicação clínica. 2.^a ed. Rio de Janeiro, Livraria Editora Guanabara Koogan S.A., 1965.
51. ROTHENBACHER, H.; LINDQUIST, W. D. — Liver cirrhosis and pancreatitis in a cat infected with *Amphimerus pseudofelineus*. *J. Am. vet. Ass.* 143(10):1099-1102, 1963.
52. SCHIFF, L. — Diseases of the liver. 2d. ed. Philadelphia, Montreal, J. B. Lippincott Company, 1963.
53. SCHIFFO, H. P. — El hepatograma en un caso de cirrosis en perro. *Veterinaria, Corrientes*, 1:15-18, 1963.
54. SCHMIDT, R. — Über das Vorkommen von ceroid haltigen Zellen (Fluorocyten) in der Leber. *Virch. Arch.*, 323:123-132, 1953.
55. SCHNITZER, B.; SMITH, E. B. — Localization of hemosiderin. *Arch. Path.*, 81:402-408, 1966.
56. STEINER, P. E. — Precision in the classification of cirrhosis of the liver. *Amer. J. Path.*, 37:21-48, 1960.
57. STEINER, P. E.; CAMAIN, R.; NETIK, J. — Observations on cirrhosis and liver cancer at Dakar, French West African. *Cancer Res.*, 19:567-580, 1959.
58. STRETT, C. S.; HERRERO, B. A. — Diabetes mellitus, Cirrhosis, duodenal ulcer, and neoplasms in a dog. *J. Amer. vet. med. Ass.*, 148:1382-1386, 1966.
59. Symposium in Kampala, August 1956. Cancer of the liver among African negroes. *Acta Unio internat. contra cancerum*, 13:519-873, 1957. Cit. Steiner (56).
60. TRAUTWEIN, G. W. — The occurrence of acid-fast lipopigments in animals. *Amer. J. Vet. Res.*, 23:134-145, 1962.
61. VILLA, N. — Caracterização de um pigmento ceróideo em "células intersticiais" do ovário de cadela *Canis familiaris*. *Rev. Fac. Odont. S. Paulo*, 2:49-57, 1964.

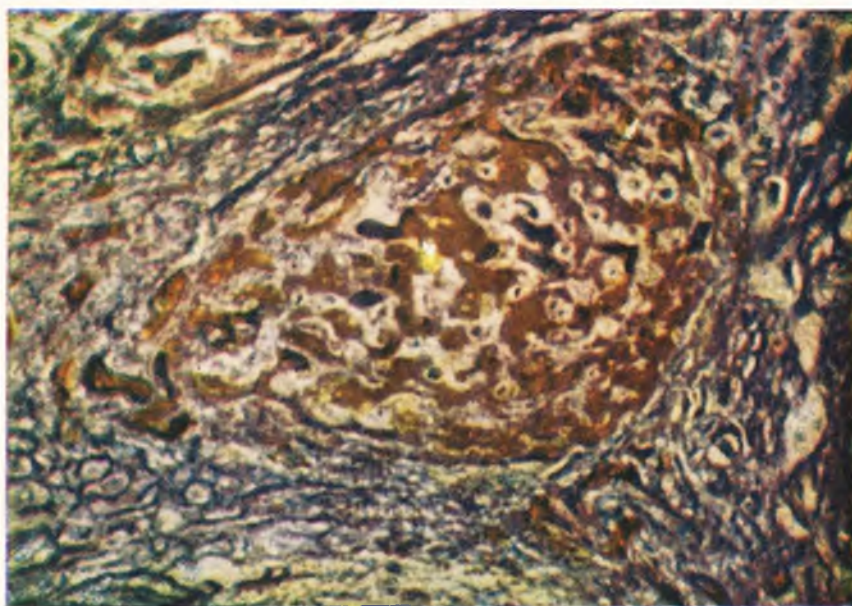


Fig. 1 — Distorção do parenquima hepático por bandas e bridas conjuntivas, formação de pseudolobulos e aprisionamento de hepatócitos nas malhas do tecido conjuntivo proliferado. Método de Mallory. 100 X.

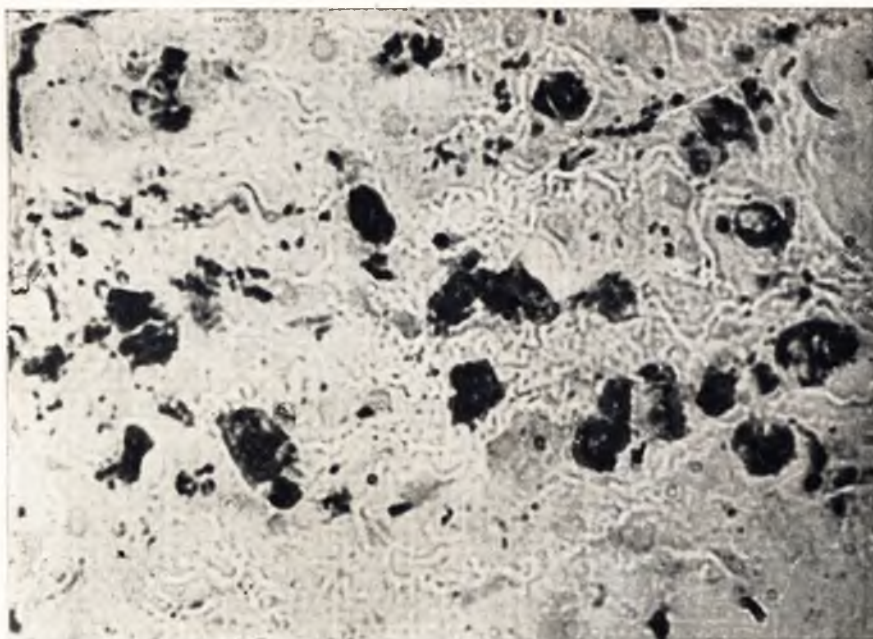


Fig. 2 — Evidenciação de granulos e depósitos de pigmento ceróide (em negro) em fígado cirrótico de cão. Método argentoafim de Masson. 400 X.

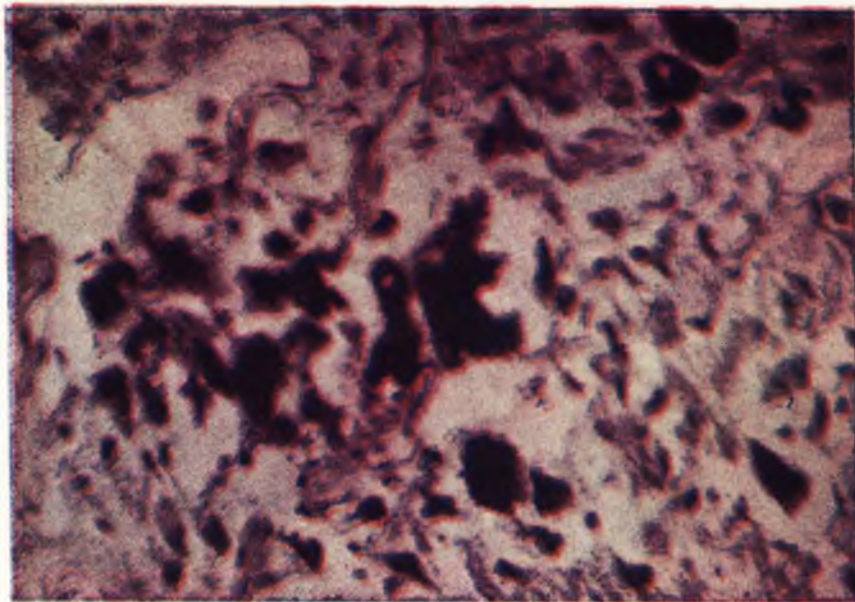


Fig. 3 — Grânulos e depósitos de material álcool-ácido resistente (pigmento ceróide) no conjuntivo de fígado cirrótico de cão. Método de Ziehl. 400 X.

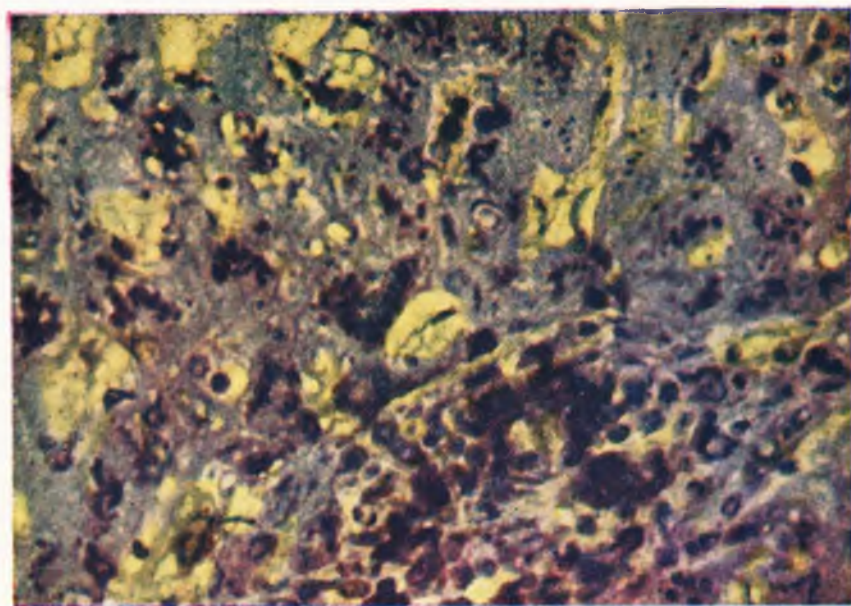
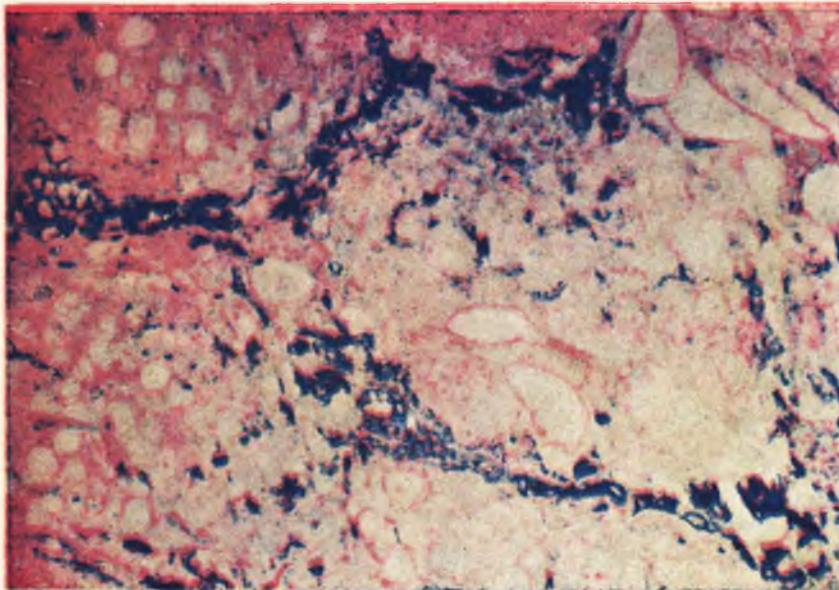


Fig. 4 — Evidenciação de pigmentos cromolipóides, em azul intenso, sob a forma de grânulos no interior de hepatócitos e de depósitos no conjuntivo de fígado cirrótico de cão. Nota-se, também, a vacuolização de hepatócitos. Método de Hueck. 400 X.



Fl. 5 — Depósitos de hemosiderina em azul no tecido conjuntivo proliferado. Observa-se, também, a vacuolização do parenquima hepático. Método de Perls. 100 X.

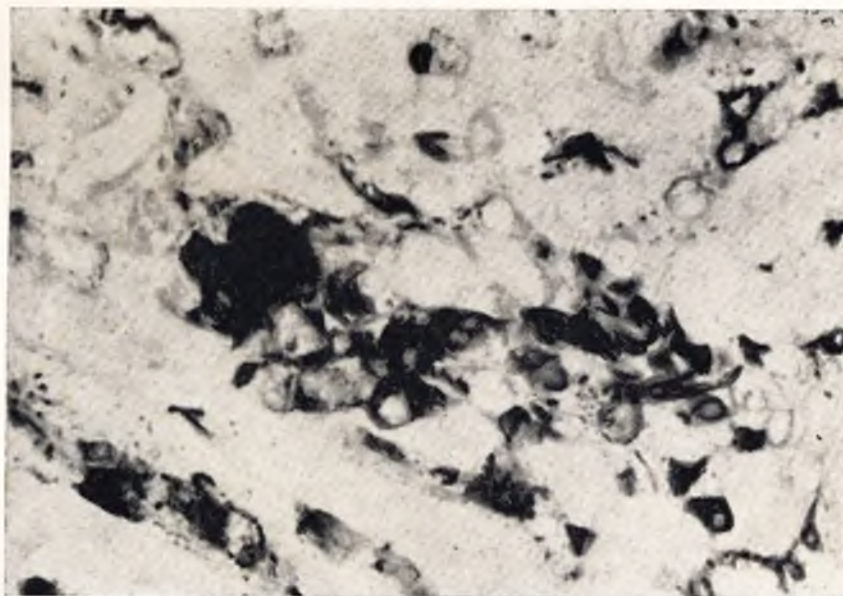


Fig. 6 — Depósitos de grânulos de hemosiderina aparecem corados em azul e observa-se, também, a presença de outro pigmento em sua cor natural (acastanhado). Fígado cirrótico de cão. Método de Perls. 400 X.