

INSULINOMA IN UN CANE BEAGLE

ANTONIO VIGLIETTI* DMV, DANIELA SARDO** DMV, MARIELDA CATALDI° DMV

*Libero Professionista, Carloforte (CA)

**Regione Sardegna, Cagliari

°Dipartimento Patologia e Sanità Animale, Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria, Università di Napoli

Riassunto

L'insulinoma è un tumore del pancreas caratterizzato dalla proliferazione delle cellule β , secernenti insulina, che colpisce prevalentemente il cane, con un quadro clinico causato da ipoglicemia grave.

Viene di seguito descritto un caso clinico in un Beagle, con i relativi aspetti diagnostici.

Summary

Insulinoma is a pancreatic tumor characterized by β cells proliferation, secreting insulin, that affects primarily the dog, with clinical signs of severe hypoglycaemia.

We describe a clinical case in a Beagle with its diagnostic features.

INTRODUZIONE

Nel cane adulto sano il pancreas endocrino è costituito da cellule α che secernono glucagone, spesso localizzate alla periferia dell'isolotto, da cellule β , secernenti insulina, più numerose e centrali e da quelle δ che elaborano somatostatina, rare e sparse¹.

Le neoplasie delle isole pancreatiche si dividono in tumori delle cellule β e tumori a cellule non- β , che producono polipeptidi ad attività ormonale quali gastrina, somatostatina, secretina, glucagone e il peptide vasoattivo intestinale (VIP), con conseguenti differenti sindromi paraneoplastiche. Sono raggruppati nella categoria degli apudomi (da APUD = Amine Precursor Uptake Decarboxilation), fra cui ricordiamo: insuloma o insulinoma, gastrinoma, glucagonoma, vipoma. Possono avere espressione ormonale multipla, ma solitamente la sintomatologia è attribuibile a un solo ormone.

L'insulinoma nel cane si può sviluppare tra i 4 e i 13 anni (media 9 anni) e ha maggiore incidenza nei meticci (22%) e in alcune razze quali Setter irlandese, Pastore tedesco, Boxer, Golden retriever, Barbone e Labrador retriever^{2,3}.

I segni clinici sono debolezza, tremori, letargia, atassia, convulsioni, collasso, determinati da uno stato di ipoglicemia grave. Sono descritti inoltre polifagia, intolleranza all'esercizio fisico, polidipsia e poliuria, aumento di peso, raramente diarrea, cecità e iperattività². L'ipoglicemia è di solito accompagnata da elevati livelli di insulinemia, che va perciò determinata durante la crisi ipoglicemica, contem-

poraneamente alla glicemia. Di solito non è necessario determinare il rapporto insulina/glucosio. La stima delle fruttosamine può essere di valido sussidio diagnostico⁴.

L'aumento di insulina nel sangue determina ipoglicemia sistemica, ma non neuroglicopenia immediata, in quanto le cellule del Sistema Nervoso Centrale (SNC) ottengono glucosio per diffusione e sono in grado di attingere a scorte di glucosio presenti nel SNC stesso: solo un'ipoglicemia grave e prolungata determina un esaurimento delle riserve con neuroglicopenia e sintomatologia clinica evidente⁵. Di solito i cani con ipoglicemia cronica tollerano a digiuno bassi livelli di glucosio. Stress, esercizio fisico, pasto o digiuno prolungato possono determinare crisi sintomatiche⁶. Il pasto determina l'innalzamento del glucosio ematico che stimola immediatamente la liberazione di insulina, esitando in ipoglicemia post-prandiale: l'insulinoma perciò non è un tumore totalmente autonomo ma è caratterizzato da una secrezione di insulina che risente anche dei livelli ematici di glucosio⁵.

L'insulinoma può essere benigno (adenoma) o più frequentemente maligno (carcinoma insulare) con tendenza a metastatizzare ai linfonodi regionali, al fegato, all'omento, al duodeno, alla milza e più raramente a livello vertebrale e renale². La stadiazione clinica si basa sul sistema TNM. Lo stadio clinico 1 ($T_1N_0M_0$), dove non si evidenziano né metastasi linfonodali né ad altri organi, ha tempi medi di sopravvivenza dalla diagnosi superiori a 1 anno (75%), con punte di 24-30 mesi e un intervallo elevato tra chirurgia e recidive. Lo stadio 2 ($T_1N_1M_0$), con metastasi ai linfonodi tributari, ha tempi di sopravvivenza analoghi allo stadio 1 ma è caratterizzato da un intervallo di assenza dei sintomi dalla chirurgia minore, inferiore ai 6 mesi (nell'80% dei casi 2 mesi). Lo stadio 3 ($T_1N_1M_1$ o $T_1N_0M_1$), con o senza

*Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 3/3/2005 ed accettato per pubblicazione dopo revisione il 28/6/2005.

metastasi linfonodali ma con metastasi a distanza, si caratterizza per un intervallo tra chirurgia e recidiva analogo allo stadio 2, ma la sopravvivenza dalla diagnosi è notevolmente bassa: il 60% non supera i 6 mesi e solo il 30% arriva all'anno di sopravvivenza dalla diagnosi⁷.

La terapia elettiva consiste nella rimozione chirurgica dei noduli primari e di eventuali macrometastasi. È prescritta una dieta iperproteica e a elevato contenuto di lipidi, carboidrati in forma complessa, suddivisi in 6 piccoli pasti quotidiani e riposo. La terapia medica si effettua con il prednisone (da 0,5 mg/kg/die) che stimola la glicogenolisi epatica contrastando l'effetto dell'insulina. Il diazossido (10-60 mg/kg diviso in due somministrazioni per os) riduce l'escrezione di insulina e favorisce la glicogenolisi: è costoso e ha effetti collaterali a livello del tratto gastroenterale e del midollo emopoietico. Il propranololo è un agente beta-bloccante adrenergico (10-30 mg/kg ogni 8 ore per os) che può favorire l'aumento della glicemia⁸. La streptozotocina (10-20 mg/kg endovena) determina un incremento dei livelli di Ca^{++} intracellulari a livello delle cellule β , con morte delle stesse e incremento della glicemia: da evidenziare l'elevata nefrotossicità nel cane^{8,9}. Sono segnalati l'idroclorotiazide (2-4 mg per os ogni 12 ore) che può potenziare gli effetti del diazossido, il glucagone (0,03 mg/kg endovena) e la somatostatina (octreotide acetato) (5-20 mg per os oppure sottocute ogni 8-12 ore)⁷.

CASO CLINICO

Cane, Beagle, maschio di 8 anni. L'anamnesi riporta episodi di debolezza, atassia, tremori e fascicolazioni muscolari che si verificavano inizialmente lontano dai pasti, dopo una corsa o in occasione di lunghe passeggiate e che si risolvevano spontaneamente con il riposo. Mostrava inoltre accentuata polifagia e conseguente incremento del peso. Alla visita clinica non è stata evidenziata nessuna anomalia. Sono stati eseguiti, con il cane a digiuno da 10 ore, l'emogramma, il profilo biochimico, l'esame delle urine e l'elettroforesi delle proteine sieriche. L'unica alterazione rilevata è stata ipoglicemia (41 mg/dl, intervallo di riferimento 75-115 mg/dl). Il cane manifestava un esagerato stress per il prelievo. È stata valutata l'insulinemia contestualmente a un episodio di ipoglicemia: 31,4 mU/ml (intervallo di riferimento: 3,0 - 13,0 mU/ml): il quadro clinico complessivo era indicativo di un insulinoma.

Non si evidenziava ecograficamente alcuna formazione riferibile alla neoplasia; perciò si procedeva a laparotomia esplorativa.

Per evidenziare meglio i noduli è stata preparata una soluzione di blu di metilene all'1% in 250 ml di soluzione fisiologica sterile, somministrata endovena (3 mg/kg) nell'arco di 30 minuti¹⁰.

È stata utilizzata come premedicazione acepromazina maleato, 0,05 mg/kg intramuscolo (Prequillan, Fatro), fentanyl, 0,002 mg/kg endovena lento in 1 minuto (Fentanest®, Pharmacia), dopo 20 minuti induzione con propofol 1% endovena (Rapinovet®, Schering-Plough) e mantenimento con una miscela di isoflurano (Isoba®, Schering-Plough) e ossigeno.

Durante l'anestesia la glicemia è stata monitorizzata a intervalli regolari di 10 minuti; il cane è stato tenuto in in-

fusione endovenosa continua di una soluzione elettrolitica reidratante III alternata ad una soluzione di glucosio al 5%. Si sono verificati due episodi di ipoglicemia contrastati con la somministrazione di boli di una soluzione glucosata al 33%.

La laparotomia rivelava un nodulo pancreatico e un nodulo epatico, ben colorati, delle dimensioni di 0,5 cm ciascuno, da cui sono stati eseguiti degli aghi aspirati e allestiti degli strisci per l'esame citologico. I vetrini sono stati fissati all'aria e colorati come di routine (Diff Quick®, Dade Behring).

Il pattern citologico era caratterizzato da cellule raggruppate in strutture simil-acinose. Le cellule presentavano citoplasma basofilo a margini sfumati. I nuclei erano ovali, con cromatina finemente granulare e nucleoli generalmente piccoli, ma evidenti; inoltre si osservavano variazioni della forma e delle dimensioni. Inoltre era possibile evidenziare una grande quantità di nuclei nudi con nucleolo piccolo (Fig. 1). È stata formulata, quindi, diagnosi suggestiva di neoplasia pancreatica con metastasi epatiche; entrambi i noduli sono stati asportati chirurgicamente.

Il decorso post-operatorio è stato regolare; è stato somministrato enrofloxacin (Baytril, Bayer) 5 mg/kg sottocute ogni 24 ore per 10 giorni. Non si sono avuti segni di pancreatite e la glicemia si è assestata su valori normali nell'arco di 3-4 giorni.

ESAME ISTOLOGICO

Materiali e metodi

Campioni della neoformazione pancreatica ed epatica sono stati fissati in formalina neutra al 10% e inclusi in paraffina. Sezioni di 6 μ m sono state colorate con ematossilina-eosina, altre sono state processate per l'immunohistochimica utilizzando il metodo streptavidina-biotina perossidasi (Dako LSAB K680; Dako, Burlingame, CA, USA). Le sezioni sono state incubate con l'anticorpo primario overnight a 4°C, alle diluizioni 1:100 e 1:200 per gli anticorpi monoclonali anti enolasi neurone-specifica (NSE) e cromogranina A (CgA), (DAKO, Burlingame, CA, USA), e alle dilui-

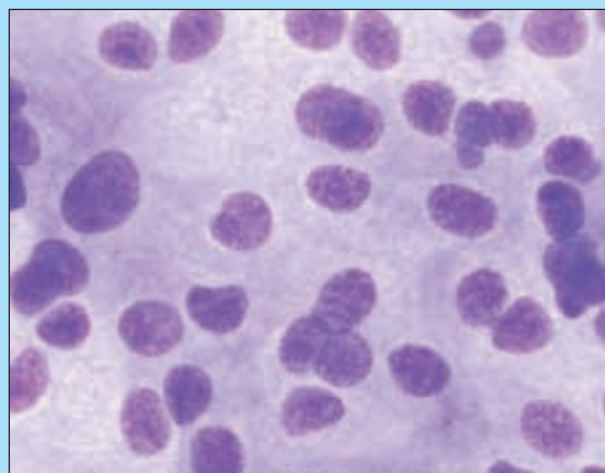


FIGURA 1 - Organizzazione simil acinosa delle cellule neoplastiche. Diff-Quick (100X).

zioni 1:500 e 1:1000 per l'anticorpo policlonale anti insulina (Peninsula Laboratories, INC GHC 7303 Guinea Pig Anti-Insulin Human Serum). Le sezioni di controllo sono state allestite omettendo l'anticorpo primario e incubandole con il tampone fosfato 0,01M (PBS) pH 7,4.

Per evidenziare l'immunolocalizzazione, come cromogeno, è stata usata la diaminobenzedina tetraidrocloride: come colorazione di contrasto è stata utilizzata invece l'ematossilina.

Risultati

La proliferazione neoplastica, nel pancreas, era caratterizzata da cellule di forma ovalare, a citoplasma ampio, debolmente eosinofilo e granuloso che si disponevano a formare lobuli e cordoni separati da tessuto connettivo (Fig. 2). I nuclei assumevano una posizione preferenzialmente centrale con cromatina marginata e nucleoli piccoli e mostravano modica variabilità dei diametri nucleari. Inoltre il nodulo pancreatico presentava una capsula ampia, ma infiltrata in diversi punti da clusters di cellule neoplastiche (Fig. 3). Piccoli gruppi di cellule neoplastiche, con le caratteristiche morfologiche sovrapponibili alla lesione pancreatica, erano osservabili anche a livello epatico. L'esame immunoistochimico evidenziava forte positività citoplasmatica delle cellule neoplastiche per l'insulina, sia nel pancreas che nel fegato (Fig. 4), mentre NSE e CgA erano negative.

In considerazione degli aspetti morfologici della neoplasia e dei risultati dell'esame immunoistochimico fu posta diagnosi di Insulinoma di grado III.

EVOLUZIONE CLINICA

La stadiazione clinica del paziente era riferibile a uno stadio 3 ($T_1N_0M_1$). I proprietari decidevano di non intraprendere la terapia medica del caso.

Dopo circa 30 giorni dall'intervento chirurgico si osservava la ricomparsa della sintomatologia: gli episodi di ipoglicemia erano sempre più frequenti e gravi, difficilmente controllabili e i proprietari decisero per l'eutanasia del soggetto.

CONCLUSIONI

L'insulinoma è una neoplasia rara nei carnivori domestici, il cui sospetto diagnostico fondato sui sintomi riportati è facilmente suffragato dai reperti di laboratorio.

La terapia elettiva rimane la chirurgia, con il supporto della terapia medica nei casi di diffusione metastatica: non esistono attualmente protocolli antineoplastici definiti contro l'insulinoma, ma solo una terapia palliativa per contrastare la sindrome paraneoplastica.

Il caso clinico riportato mostra una corrispondenza tra grado di malignità e produzione di insulina dei noduli neoplastici con la grave sintomatologia del soggetto; inoltre la rapida recidiva e il decesso a breve termine sono tipici di una stadiazione avanzata (stadio III) al momento della diagnosi.

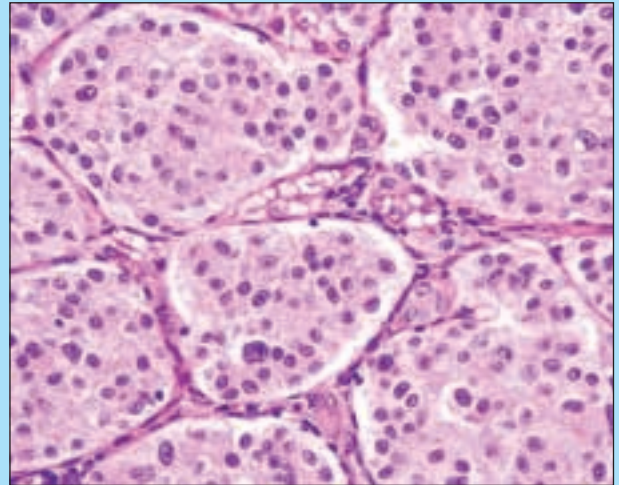


FIGURA 2 - Architettura lobulare della proliferazione neoplastica. EE (40X).

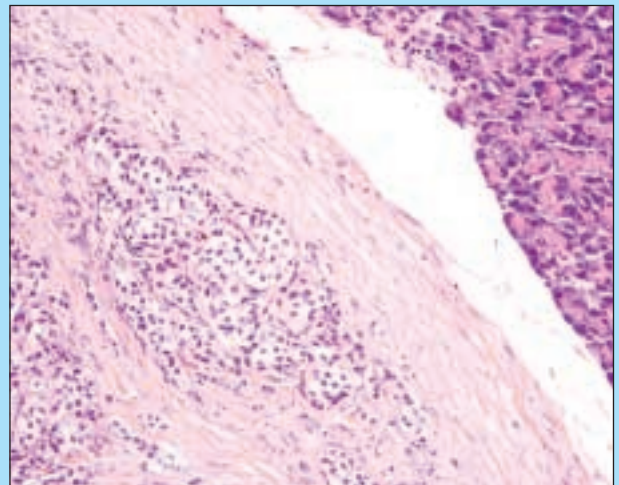


FIGURA 3 - Punti di infiltrazione della capsula. EE (20X).

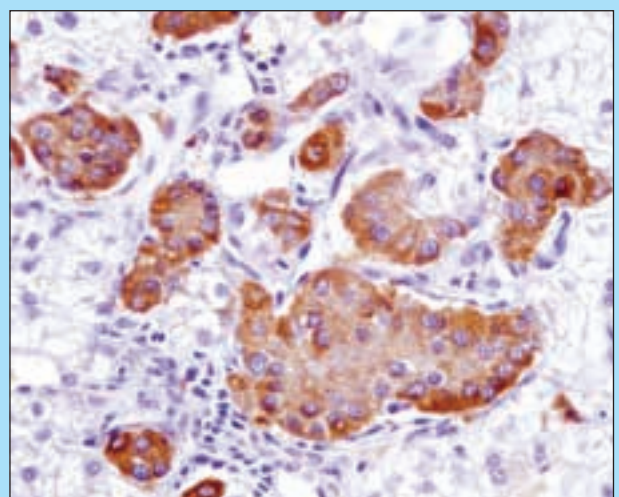


FIGURA 4 - Positività delle cellule neoplastiche per l'insulina (metastasi epatica). (40X).

Ringraziamenti

Si ringraziano la Dott.ssa Carlotta Piazza, la Dott.ssa Claudia Grimaldi, il Dott. Alfredo Coni, il Dott. Nicola Nero e il Dott. Giovanni Uleri. Un ringraziamento particolare va inoltre al Dott. Orlando Paciello e alla Prof.ssa Serenella Papparella dell'Istituto di Anatomia Patologica Veterinaria dell'Università di Napoli.

Parole chiave

Cane, insulinoma, ipoglicemia.

Key words

Dog, insulinoma, hypoglycaemia.

Bibliografia

1. Hawkins KL, Summers BA, Kuhajda FP et al: Immunocytochemistry of normal pancreatic islets and spontaneous islet cell tumors in dogs. *Vet Pathol* 34 (2): 138-145, 1997.
2. Marcato PS: *Patologia Sistematica Veterinaria*. Ed by Ed agricole, Bologna, 2002, pp 972-974.
3. Meuten DJ: *Tumors in Domestic Animals*, Fourth Edition, Iowa state press, 2002, pp 684-688.
4. Mellanby RJ, Herrtage ME: Insulinoma in a normoglycaemic dog with low serum fructosamine. *J Small Anim Pract* 43 (11): 506-508, 2002.
5. Fenton AC: Pancreatic insulin-secreting neoplasia in a 9-years-old Afghan hound. *Can Vet J* 44 (11): 918-920, 2003.
6. Nelson RW: *Medicina Interna del Cane e del Gatto*. Ed by Masson e EV, Milano, 2000, pp 583-587.
7. Withrow SJ, Mac Ewen EG: *Small Animal Clinical Oncology*. Ed by Saunders, Philadelphia, 2001, pp 436-440.
8. Withrow SJ, Mac Ewen EG: *Small Animal Clinical Oncology*. Ed by Saunders, Philadelphia, 2001, pp 39-42.
9. Grapengiesser E, Gylfe E, Hellman B: Disappearance of glucose-induced oscillations of cytoplasmic Ca^{++} in pancreatic β -cells exposed to streptozotocin or alloxan. *Toxicology* 63 (3): 263-271, 1990.
10. Fossum T: *Chirurgia dei piccoli animali*. Ed by Masson e EV, Milano, 1999, pp 418-421.

LIBRETTI DI VACCINAZIONE DEL CANE E DEL GATTO

I libretti di **vaccinazione del cane e del gatto**, realizzati dalla SCIVAC, secondo le indicazioni della FSA e della FECAVA, sono nuovamente disponibili. Nella loro versione originale, senza inserzioni pubblicitarie, i libretti possono essere richiesti alla tipografia **Press Point srl**, al puro costo di stampa e con contributo di spese di spedizione.



500 COPIE = Euro 87,80

Richiedere a:



Via Cagnola 35

20081 Abbiategrasso

Tel. 02/9462323 - 02/94965467

Fax 02/94969304

Email: fulvio@presspoint2000.it