

CORNER DIAGNOSTICO

Citologia



PRESENTAZIONE CLINICA

Un cane meticcio di dieci anni, maschio intero di grossa taglia, viene portato in visita perché da qualche giorno manifesta abbattimento, inappetenza, zoppia ed epistassi. Essendo un cane randagio, non si conosce con esattezza l'anamnesi recente e remota.

Poiché il paziente è aggressivo viene subito sedato, quindi vengono eseguiti esami ematobiochimici completi (Tabella 1-2), un'elettroforesi sierica capillare (Fig. 1), un esa-

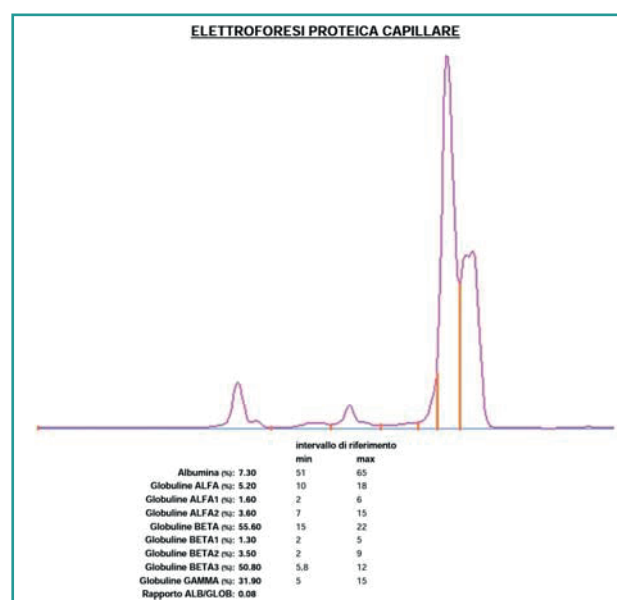


Figura 1 - Elettroforesi proteica capillare.

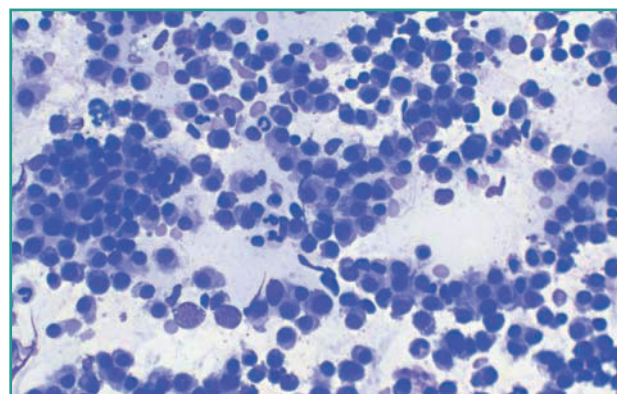


Figura 2 - Esame citologico del midollo osseo ematopoietico, May-Grunwald Giemsa, 40x.

Andrea Colli, Med. Vet
Clinica Veterinaria Tibaldi - Anicura
Via Pezzoti 2, 20141, Milano

Stefano Bruno, Med. Vet
Centro Veterinario Specialistico LOCOVET
Via Martiri della Libertà 36, 70010, Locorotondo (BA)

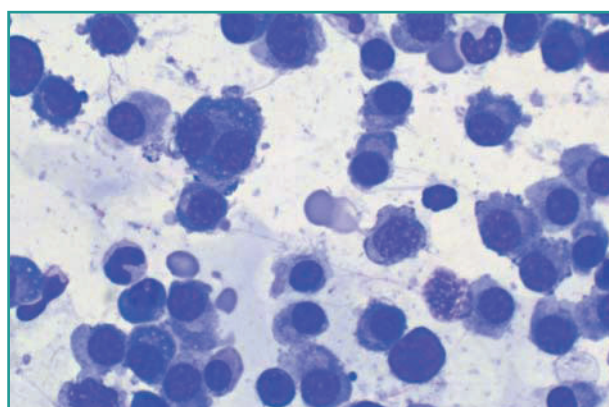


Figura 3 - Esame citologico del midollo osseo ematopoietico, May-Grunwald Giemsa, 100x.

Tabella 1 - Esame emocromocitometrico.

	Valore paziente	Intervallo di riferimento
RBC (x10 ⁶ /uL)	2,32	6,2 - 8,1
HGB (g/dL)	5,50	15,7 - 19,9
Hct (%)	16,50	46,9 - 60,8
MCV (fL)	70,90	68,5 - 79,3
MCH (pg)	23,90	22,3 - 26,1
MCHC (g/dL)	33,70	31,6 - 35,1
RDW (%)	19,60	11,7 - 13,6
Reticolociti (/uL)	26448	15505 - 115432
WBC (x10 ³ /uL)	4,18	5,6 - 14
Neutrofili band. (/uL)	0	0 - 300
Neutrofili segm. (/uL)	3327	3800 - 8900
Linfociti (/uL)	656	1200 - 4100
Monociti (/uL)	130	200 - 750
Eosinofili (/uL)	42	150 - 1100
Basofili (/uL)	8	0 - 110
PLT (x10 ³ /uL)	88	103 - 395
PCT (%)	0,11	0,16 - 0,42
STIMA PIASTRINICA	NON ADEGUATA	
ANISOCITOSI	+++	
IPOCROMIA	+	

Risposte alle pagine successive

me citologico del midollo osseo (Fig. 2-3), uno studio radiografico toracico ed addominale, ed un'ecografia addominale (tali indagini di diagnostica per immagini non hanno evidenziato alterazioni patologiche di rilievo).

Domande

- 1) Che tipo di alterazioni possiamo osservare dagli esami ematobiochimici?
- 2) Che tipo di tracciato possiamo osservare nell'esame elettroforetico delle siero-proteine?
- 3) In base alla citologia del midollo osseo (Fig. 2-3) e alle alterazioni ematologiche, qual è la tua ipotesi diagnostica?

Tabella 2 - Esame biochimico.

	Valore paziente	Intervallo di riferimento
CPK (IU/L)	92	20 - 150
AST (IU/L)	42	12 - 54
ALT (IU/L)	25	15 - 64
GGT (IU/L)	1	2 - 8
Bilirubina tot. (mg/dL)	0,08	0,08 - 0,3
Glucosio (mg/dL)	90	75 - 115
Colesterolo (mg/dL)	72	110 - 330
Trigliceridi (mg/dL)	23	23 - 110
Urea (mg/dL)	126	11 - 43
Creatinina (mg/dL)	1,42	0,7 - 1,3
Amilasi (IU/L)	925	360 - 1100
Lipasi tot. (IU/L)	164	23 - 527
Proteine totali (g/dL)	12,25	5,5 - 7,6
Albumina (g/dL)	1,05	2,4 - 3,8
Globuline (g/dL)	11,20	2,5 - 4,3
Rapporto A/G	0,09	0,6 - 1,3
Calcio (mg/dL)	14,5	8 - 11,6
Fosforo (mg/dL)	6,1	2,5 - 5,5
Calcio x Fosforo	103,0	< 60
Sodio (mEq/L)	143	140 - 152
Potassio (mEq/L)	4,3	3,5 - 5,5
Cloro (mEq/L)	104	108 - 120

RISPOSTE E RISULTATI

1) All'esame emocromocitometrico si osserva una tricitemia con grave anemia normocitica normocromica non rigenerativa, panleucopenia e trombocitemia. Dall'esame biochimico invece è possibile osservare una grave iperproteinemia e iperglobulinemia, associata a grave ipoalbuminemia. Da segnalare anche un moderato aumento di calcio, fosforo, urea e creatinina.

2) L'elettroforesi siero-proteica rivela un picco monoclonale nella frazione globulinica beta3 e un picco oligoclonale nella frazione delle gamma-globuline.

3) Nonostante in prima istanza debbano essere incluse in diagnosi differenziale anche cause infettive, è stato infatti eseguito un'IFAT leishmania risultato negativo, dall'esame citologico del midollo e dal tracciato elettroforetico, la diagnosi è di neoplasia plasmacellulare (mieloma multiplo); come si può osservare dall'immagine, la normale componente ematopoietica risulta ampiamente infiltrata e sostituita da una popolazione di elementi plasmacellulari moderatamente atipici. A conferma di questa diagnosi, sono state eseguite una TC total-body, che ha messo in evidenza la presenza lesioni osteolitiche a livello dei processi spinosi delle vertebre (indicative di

diagnosi di mieloma multiplo - MM) e un esame istologico del midollo osseo (Fig. 4), che ha confermato un'infiltrazione riferibile a neoplasia plasmacellulare.

DISCUSSIONE

Il MM è una neoplasia ematopoietica caratterizzata da una proliferazione maligna di plasmacellule originanti da un singolo clone di cellule linfoidi B, coinvolgente il midollo osseo¹.

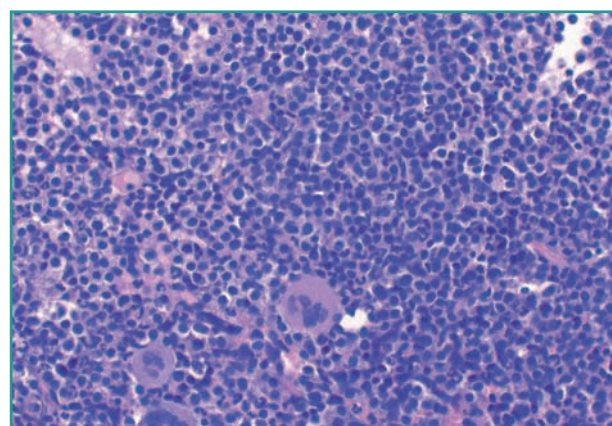


Figura 4 - Esame istologico del midollo osseo ematopoietico, Ematossilina-Eosina 40x.

Il cane risulta l'animale più frequentemente soggetto a questa neoplasia, in cui rappresenta circa l'1% di tutti i tumori maligni (circa l'8% dei tumori ematopoietici e il 3,6% di tutti i tumori ossei, primari e secondari)^{2,3}. I criteri che si utilizzano per effettuare diagnosi di mieloma multiplo si basano sulla presenza di almeno 2-3 delle seguenti anomalie:

- aumento nel numero di plasmacellule nel midollo osseo (>20% delle cellule nucleate totali)
- gammopatia discreta/monoclonale;
- evidenza radiografica di lesioni osteolitiche;
- presenza di free light chain nelle urine (proteinuria di Bence-Jones).

In corso di MM le indagini di laboratorio mostrano quasi sempre la presenza di marcata iperglobulinemia conseguente alla produzione incontrollata di immunoglobuline o di loro subunità aventi medesima carica elettrica e peso molecolare simile (paraproteina o proteina M)⁴, facilmente individuabile nel tracciato elettroforetico come un picco discreto solitamente in posizione beta/gamma, come nel presente caso. Esistono tuttavia rari casi di MM non secretorio⁵ in cui non viene rilevata una M-component.

Conseguentemente all'iperglobulinemia, si osserva in questi pazienti una ipoalbuminemia da moderata a marcata dovuta a possibili molteplici fattori, tra i quali la produzione di citochine proinfiammatorie (l'albumina è una proteina di fase acuta negativa), riduzione della produzione da parte del fegato in risposta all'aumentata pressione oncotica dovuta alla grave iperglobulinemia, oppure una possibile compromissione a carico di fegato, reni o intestino dovuta da eventuali lesioni metastatiche secondarie^{6,7}.

I cloni di plasmacellule maligni infiltrando il midollo osseo tendono a sostituire la normale popolazione mieloide, eritroide e megacariocitica, conducendo a una progressiva deplezione delle stesse e a conseguente anemia non rigenerativa associata a leucopenia e trombocitopenia¹. All'esame citologico ed istologico del midollo osseo ematopoietico si potrà osservare un marcato aumento della popolazione plasmacellulare (in condizioni normali <1% delle cellule nucleate totali), con plasmacellule mature normoconformate rotondeggianti, con abbon-

dante citoplasma basofilo (aumentato reticolo endoplasmatico ruvido) e un alone chiaro perinucleare (apparato di Golgi fortemente attivato per la produzione di immunoglobuline), oppure da grandi plasmacellule pleomorfe immature con cromatina grossolanamente granulare, citoplasma abbondante, occasionalmente bi/multi-nucleate^{2,8}.

Nel MM la proliferazione neoplastica delle plasmacellule provoca osteolisi; sebbene il meccanismo esatto non sia ancora chiaramente noto, è stato dimostrato che gli osteoclasti supportano la crescita delle cellule tumorali e che, il contatto diretto tra i due tipi cellulari, promuove la sopravvivenza degli osteoclasti stessi, con conseguente aumento della loro attività. A livello clinico-patologico, ciò esita in lesioni osteolitiche evidenziabili attraverso esami di diagnostica per immagini (radiografia, TC), ipercalcemia, iperfosfatemia e aumento dell'ALP².

In medicina veterinaria la determinazione delle free-light chain nelle urine non è facilmente disponibile, in quanto per la loro misurazione bisogna ricorrere a tecniche di immunofissazione utilizzate in medicina umana, difficilmente reperibili in commercio.

BIBLIOGRAFIA

1. Harvey JW. Chapter 9 - Disorders of Bone Marrow. In: John W. Harvey, Veterinary Hematology. 1st ed. W.B. Saunders, 2012, pp 260-327.
2. Matus RE, Leifer CE, MacEwen EG, *et al.* Prognostic factors for multiple myeloma in the dog. Journal of the American Veterinary Medical Association, Jun 1;188(11):1288-92, 1986.
3. Dorfman SK, Hurvitz AI, Patnaik AK. Primary and secondary bone tumours in the dog. Journal of Small Animal Practice, May;18(5):313-26, 1977.
4. Boes KM, Durham AC. Bone Marrow, Blood Cells, and the Lymphoid/Lymphatic System. In: Pathologic Basis of Veterinary Disease. 2017;724-804.
5. Marks SL, Moore PF, Taylor DW, *et al.* Nonsecretory multiple myeloma in a dog: immunohistologic and ultrastructural observations. Journal of Veterinary Internal Medicine, Jan-Feb;9(1):50-4, 1995.
6. Stockham SL e Scott MA. Proteins. In: Stockham SL, Scott MA, Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2nd ed. Wiley-Blackwell, 2008, pp 369-414.
7. Fairfield H, Falank C, Avery L, Reagan MR. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. Annals of the New York Academy of Science, Jan;1364(1):32-51, 2016.
8. Borgatti A. Plasma cell tumor. In: Weiss DJ, Wardrop KJ, eds. Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley Blackwell, 2010:511-519.