

Neoplasie melanocitiche dell'iride del gatto.

Parte 2. Considerazioni patologiche, terapeutiche e prognostiche

RIASSUNTO

La seconda parte dell'articolo riguarda le modificazioni patologiche osservate in corso di neoplasia melanocitica dell'iride nel gatto, le possibili terapie e le attuali conoscenze e teorie sulla prognosi. Le interpretazioni patologiche si basano sulla morfologia cellulare e la distribuzione di invasività tissutale, senza che esistano comunque classificazioni universalmente seguite. Le correlazioni fra aspetti clinici e patologici sono difficili per la mancanza di dati completi sulle varianti delle forme presenti nel gatto. Inoltre la difficoltà nella classificazione e la mancanza di dati longitudinali non consentono commenti prognostici precisi né la valutazione oggettiva dell'influenza della enucleazione sulla sopravvivenza.

INTRODUZIONE

Dopo gli aspetti clinici delle lesioni melanocitiche iridee è opportuno affrontare una discussione riguardante le interpretazioni istopatologiche. Idealmente l'esame anatomopatologico microscopico dovrebbe rappresentare la chiusura del cerchio diagnostico e rispondere agli interrogativi posti dai limiti della classificazione clinica. Ci sono innegabili vantaggi nel poter esaminare istologicamente preparati provenienti da occhi enucleati ma allo stesso tempo vanno considerati anche i limiti associati. Alcuni sono di natura tecnica, altri di natura pratica e non va sottovalutata anche l'interpretazione soggettiva del patologo di fronte a situazioni borderline. Inoltre la mancanza di standardizzazione classificativa e di dati pertinenti correlazioni longitudinali degli aspetti clinici e patologici nei riguardi del tempo di sopravvivenza del paziente rende spesso la prognosi un'arte anziché un dato scientifico.

PATOLOGIA

Il processo infiltrativo inizia solitamente dalla superficie anteriore dell'iride che inizialmente viene ricoperta da melanociti modicamente atipici (ingranditi, rotondi, a pigmentazione moderata e con nuclei piccoli, rotondeggianti e centrali) che si dispongono in uno o più strati uniformi senza dimostrare invasività stromale spiccata (Fig. 1). Sono frequenti proliferazioni e migrazioni cellulari esofitiche oltre la superficie anteriore dell'iride e si deve prestare attenzione a non interpretare in questo senso artefatti di preparazione del campione (Fig. 2). La migrazione dei melanociti tumorali sulla superficie anteriore dell'iride è responsabile della dispersione cellulare che a volte si può notare in camera anteriore e sulla capsula anteriore con l'uso della lampada a fessura. Inoltre la dispersione di tali cellule può essere responsabile del fenomeno di disseminazione ("seeding") e contribuire alla molteplicità delle aree iridee coinvolte. Spesso anche nelle forme con minor atipia si riscontra la presenza di una sottile membrana fibrovascolare pre (o/e post) iridea (PIFM) (Fig. 1). La PIFM può rappresentare a questo stadio la causa di ectropion iridis, fenomeno che comunque non caratterizza malignità. Se la neoplasia progredisce, si assiste ad una migrazione in profondità dei melanociti che invadono lo stroma e la porzione iridea posteriore. Si riscontra in questo stadio una deformazione dello stroma e delle fibre del collagene che lo compongono che assumono direzioni irregolari. L'ispessimento maggiore della superficie anteriore dell'iride per la proliferazione cellulare neoplastica associato a questi cambiamenti stromali, può indurre una contrazione della porzione anteriore dell'iride con evidenza al margine pupillare dell'epitelio pigmentato posteriore (ectropion iridis).

Stefano Pizzirani

Medico Veterinario, Dottore di Ricerca in Oftalmologia Veterinaria, Diplomato ECVS, Diplomato ACVO
Cummings School of Veterinary Medicine, TUFTS University
North Grafton, MA, USA

Federica Maggio

Medico Veterinario, Diplomato ACVO
Tufts VETS, Walpole, MA, USA

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione il 01/09/2009 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 09/09/2009".

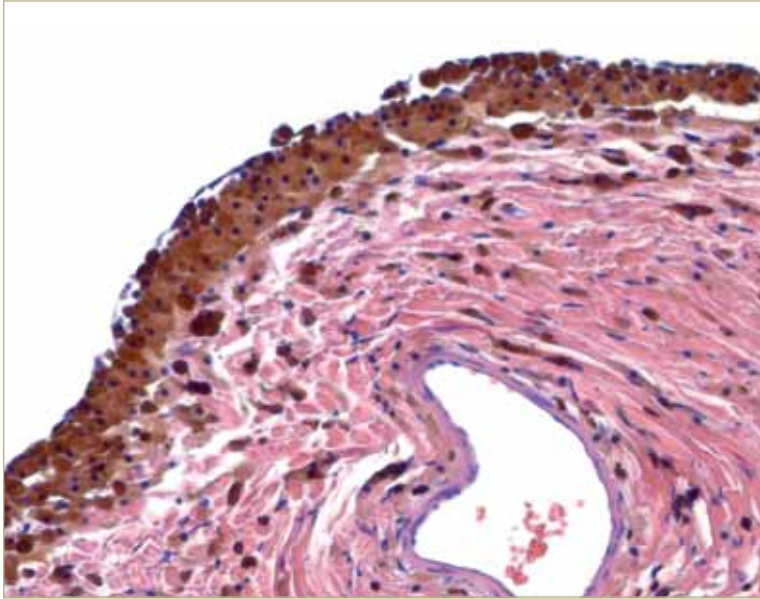


FIGURA 1 - Microfotografia a medio ingrandimento della porzione anteriore dell'iride di un gatto affetto da melanocitoma irideo. Le caratteristiche cellulari mostrano una popolazione omogenea di cellule pigmentate rotonde con rapporto nucleo/citoplasma basso che invadono lo strato di iride superficiale. Una membrana fibrovascolare pre-iridea è presente anteriormente.

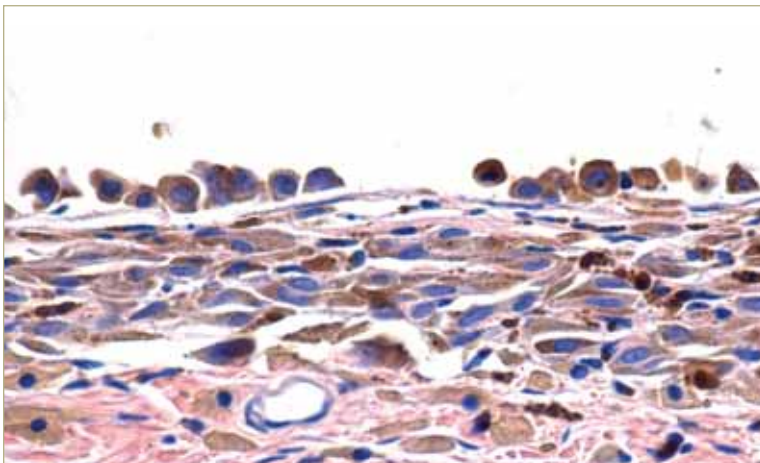


FIGURA 2 - Microfotografia di un melanoma irideo felino. Si osserva pleomorfismo cellulare, presenza di cellule epiteliodi e fusiformi con rapporto nucleo/citoplasma elevato. La superficie anteriore dell'iride mostra esocitosi di cellule a caratteristica maligna. La dispersione di melanoblasti in camera anteriore favorisce il fenomeno del seeding cellulare in altre sedi iridee e nel trabecolato.

In dermatopatologia, è importante discriminare una crescita radiale delle neoplasie melanocitiche cutanee (melanoma in situ) da una crescita verticale che invade il derma. Quest'ultimo viene ritenuto un parametro di aggressività e di potenziale indice metastatico.¹ Siccome l'iride manca di separazioni anatomiche correlabili alla cute, diventa difficile usare una simile valutazione per stadiare quando l'invasione verticale diviene un parametro discriminante. Tale valutazione ad esempio non viene seguita nella classificazione della Melanosi

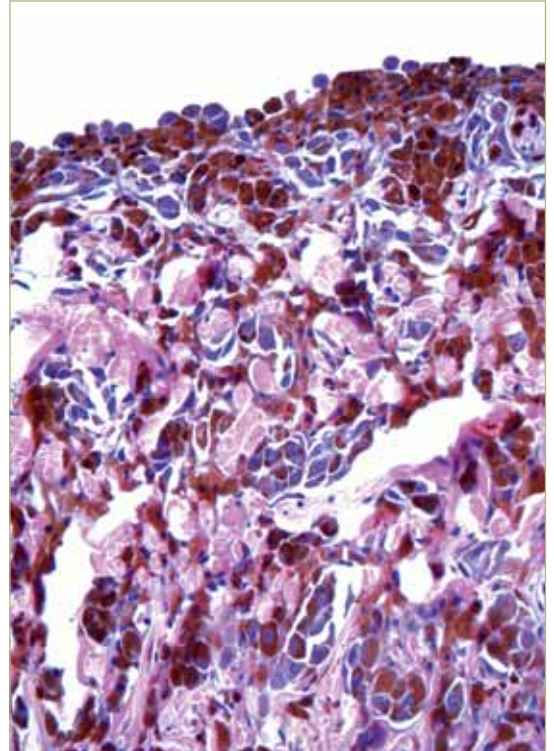


FIGURA 3 - Microfotografia di un melanoma irideo in un gatto. Lo stroma irideo è invaso da cellule più o meno pigmentate a morfologia varia. Plump cells e cellule epiteliodi sono la componente principale e queste si infiltrano verticalmente nel collagene stromale. Sono presenti anche alcune cellule a forma ed andamento sinusale. È visibile anisocitosi ed anisocariosi ed in generale i nuclei hanno dimensione aumentata sottolineando la classificazione maligna. È presente anche esocitosi dalla superficie anteriore.

Primaria Acquisita (PAM) congiuntivale,² ma classicamente rappresenta per l'iride un criterio spaziale, di solito associato con morfologia cellulare a caratteristiche più maligne, per sottolineare la tendenza a trasformazione e classificazione melanomatosa (Fig. 3).

La fessura ciliare ed il trabecolato uveale vengono interessati sia dalla progressione spaziale della massa neoplastica, sia dall'esfoliazione in corso di neoplasie ancora non coinvolgenti la periferia (Figg. 4 e 5). Con la progressione radiale e verticale, i corpi ciliari vengono poi invasi diffusamente ed infine cellule neoplastiche vengono ritrovate nei plessi venosi sclerali (Figg. 6, 7 e 8). Cellule neoplastiche possono migrare lungo la porzione interna della cornea limbale e si riscontrano a volte anche nello stroma periferico interno (Fig. 9). Nei casi più trascurati, l'invasione neoplastica può procedere all'esterno del globo oculare (extra-sclerale), seguire il nervo ottico e deformare il globo stesso. Invasioni orbitali vengono riportate ma ovviamente la maggior cura ed attenzione nei confronti dei pazienti animali che è avvenuta negli ultimi anni, rende questi casi sempre più rari.

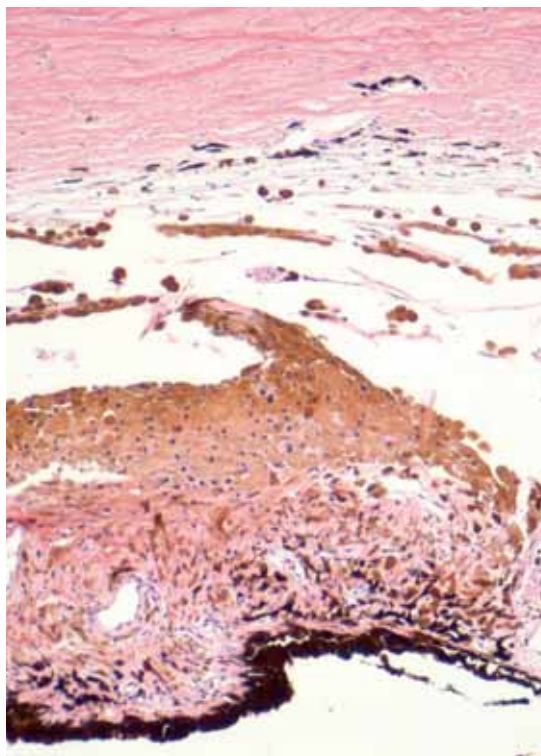


FIGURA 4 - Microfotografia a piccolo ingrandimento di una neoplasia melanocitica diffusa in un gatto. In questo caso si notino le caratteristiche cellulari a morfologia benigna (omogeneamente rotonde a nuclei piccoli) associate ad invasività tissutale oltre gli stati anteriori superficiali dell'iride. Si noti la diffusione sui legamenti pettinati e nella trabecolatura. Si noti anche la ridotta pigmentazione che in genere hanno nel gatto le cellule a derivazione melanocitica.

I melanocitomi uveali nell'uomo sono composti da melanociti fortemente pigmentati e dalla forma rotondeggiante e poliedrica. Presentano un limitato polimorfismo, il loro citoplasma è abbondante ed i nuclei discretamente uniformi.³ Le caratteristiche morfologiche cellulari sono simili a quelle che abbiamo riscontrato in limitati casi di istopatologia disponibile in lesioni pigmentate iniziali nel gatto ove comunque la pigmentazione è meno intensa (Fig. 1). Interessante notare che nell'uomo viene descritta una melanocitosi settoriale o diffusa dell'uvea caratterizzata da un infiltrato congenito di melanociti normali o leggermente atipici, il cui confine può estendersi ad abbracciare forme di melanocitomi borderline.⁴ Ma come detto le lesioni sono congenite e non tendono a variare nel corso del tempo, anche se rare trasformazioni maligne vengono riportate.⁵ Una forma di melanosì acquisita che potrebbe rappresentare un paragone con le lesioni che si incontrano nell'iride del gatto, almeno clinicamente, è la Melanosì Primaria Acquisita (PAM) che colpisce la congiuntiva umana. Le lesioni appaiono pigmentate, di colore marrone e sono piatte e diffuse. Istopatologicamente i melanociti

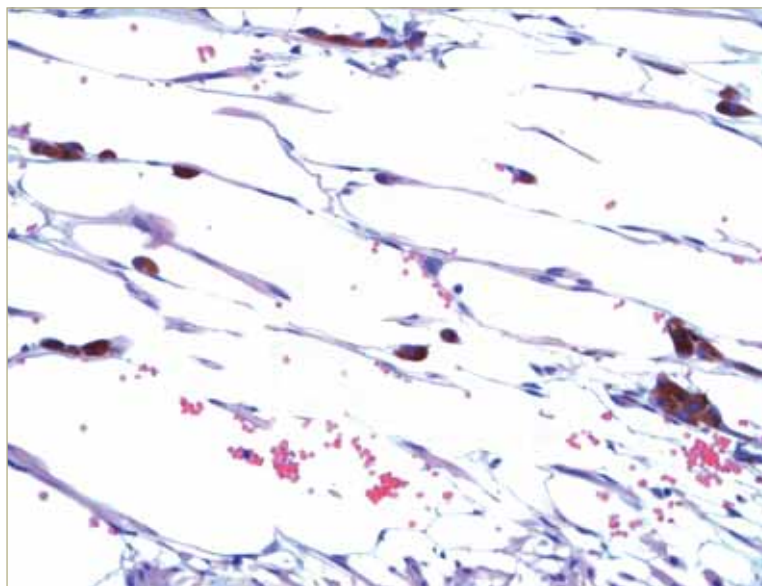


FIGURA 5 - Microfotografia a forte ingrandimento degli spazi trabecolari in un paziente felino affetto da melanoma irideo circoscritto alla porzione del collaretto irideo. Nonostante il confinamento della neoplasia a distanza dall'angolo, le strutture trabecolari mostrano il fenomeno del seeding cellulare dovuto alla facile esfoliazione anteriore al sito primario.

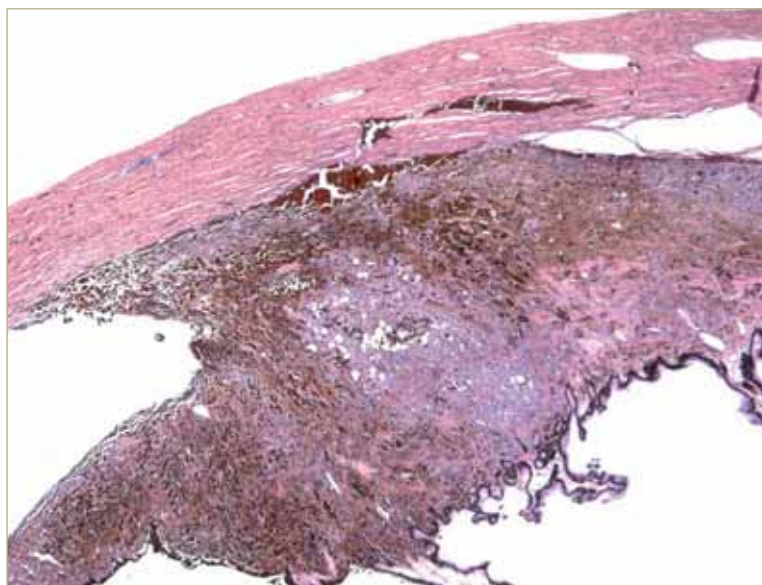


FIGURA 6 - Microfotografia a piccolo ingrandimento di un melanoma irideo diffuso nel gatto con interessamento delle strutture angolari e dei corpi ciliari. La porzione anteriore del plesso sclerale sembra invasa. La massa neoplastica mostra caratteristiche aree a pigmentazione variabile caratteristica dei tumori misti.

possono essere atipici o no, basandosi su valutazioni nucleari e di crescita. Il 50% delle lesioni di PAM che mostrano atipia possono evolvere in melanoma, mentre nessuna di quelle senza atipia lo fa.² Probabilmente non è ortodosso paragonare tessuti a caratteristiche anatomiche così diverse ed in più la differenza pratica fra una biopsia congiuntivale ed una iridea rende l'assimilazione ancora più difficile.

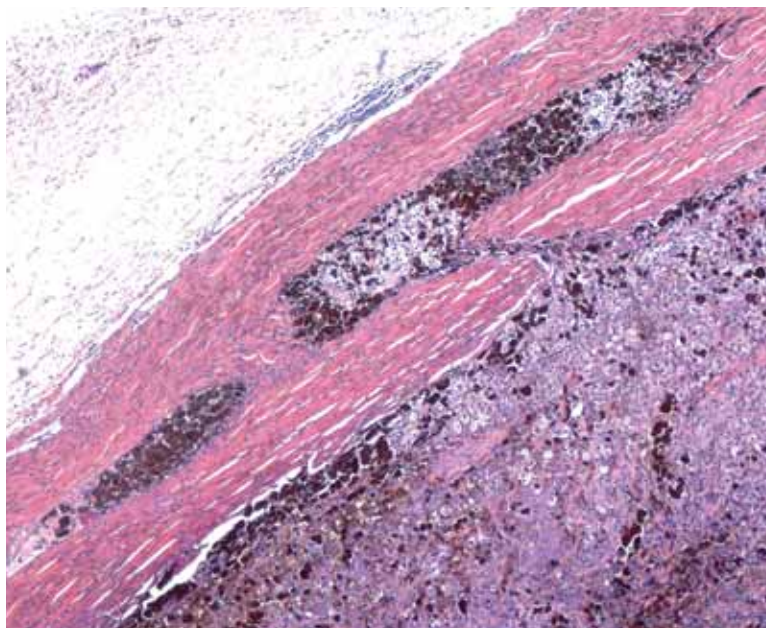


FIGURA 7 - Microfotografia a medio ingrandimento di un melanoma diffuso dell'iride in un gatto con invasione angolare e dei plessi sclerali. Si noti il pleomorfismo cellulare e la presenza di numerose cellule a pallone sia nel tessuto uveo-trabecolare che sclerale. L'avanzata anaplasia cellulare e l'invasione tissutale sono indice di malignità. Si noti l'invasione cellulare dei plessi venosi sclerali, segno da alcuni ritenuto indicativo di facile metastatizzazione e prognosticamente sfavorevole per aspettative di sopravvivenza.

Il giudizio patologico viene emesso seguendo criteri di morfologia cellulare e di morfologia topografica relativa all'invasività tissutale. Esistono forme borderline in cui la tipologia cellulare ha ancora connotati di benignità mentre la diffusione ed il quadro di invasione tissutale suggerisce un'aggressività maggiore (Figg. 4 e 8). Questi casi lasciano spazio ad interpretazioni soggettive data la scarsità di informazioni longitudinali e l'esperienza patologica e clinica del lettore sono di importanza primaria. Istopatologicamente, le descrizioni della morfologia cellulare variano sia come interpretazione che come terminologia a seconda dei vari autori. In generale e tentando di semplificare i tumori uveali del gatto sono caratterizzati principalmente da 3 tipi cellulari:

- cellule fusiformi, allungate, da sottili a più rotondamente fusiformi (spindle-plump) con nuclei affusolati od ovali. Queste cellule sono il clone più prossimo ai melanociti normali ed in umana (pur con differenze morfologiche non riscontrate negli animali) costituiscono la variante cellulare meno aggressiva;⁶ possono distribuirsi in fasci cellulari con andamento sinuoso;
- cellule rotonde, più grandi, distese dal contenuto di pigmento, che rappresentano melanociti neoplastici in fase postmitotica terminale (plump cells);⁷

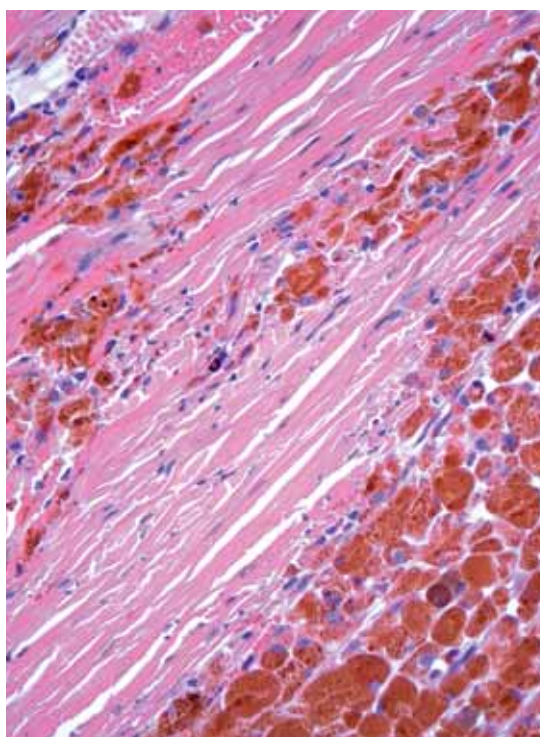


FIGURA 8 - Microfotografia a forte ingrandimento di una neoplasia melanocitica iridea diffusa in un gatto. Anche in questo caso si assiste ad un'invasione dei plessi sclerali venosi che sarebbe un indice di facile metastatizzazione. Allo stesso tempo le caratteristiche cellulari indicano la presenza di cellule grandi e rotonde con nuclei piccoli, citologicamente caratteristiche di forme più benigne.

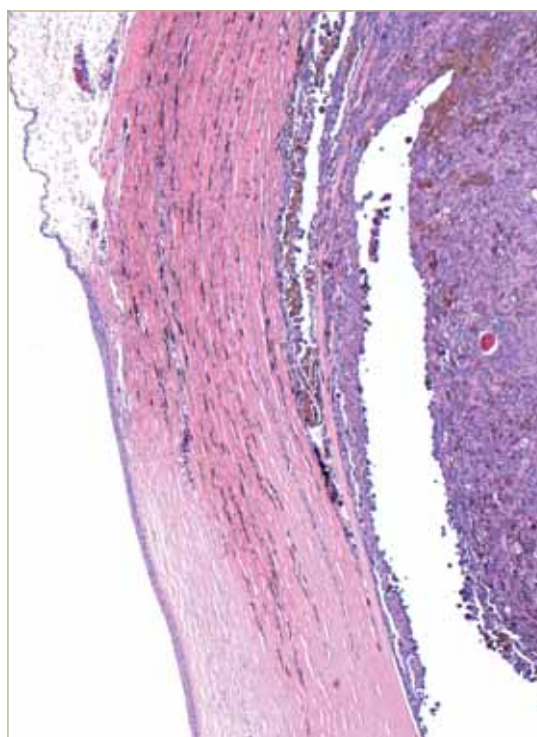


FIGURA 9 - Microfotografia a piccolo ingrandimento. Melanoma irideo diffuso in un gatto. In questo caso l'invasione cellulare neoplastica interessa anche la superficie interna della cornea e lo stroma limbare.

- cellule epitelioidi con morfologia poligonale, poliedrica con bordi più o meno distinti a seconda dell'anaplasia e dimensioni variabili. Le dimensioni del loro nucleo variano a seconda della malignità. Possono anche presentare nuclei multipli.⁸

La maggior parte dei tumori sono misti, con aree settoriali maggiormente invase da alcuni tipi o con cellularità mista. Quando la forma cellulare varia di caratteristiche e di dimensione, anche all'interno dello stesso clone, si parla di pleomorfismo cellulare e di solito quando presente è un indice di aggressività tumorale.⁹

Più raramente si incontrano cellule ad anello con castone e cellule con aspetto palloniforme (balloon cells) caratterizzate da una dimensione maggiore e da presenza di vacuoli settoriati citoplasmatici con nucleo centrale iperbasofilico (Fig. 10). Le cellule pallone sono possibili varianti delle cellule epitelioidi.^{10,11} Quando rappresentano il clone principale rendono la diagnosi difficile in quanto sono amelanotiche e possono mascherare altre forme neoplastiche a contenuto lipidico, per altro rare nell'occhio. In questi casi, si possono usare tecniche di immunisto chimica per la determinazione del tumore. La microscopia elettronica mette in risalto i caratteristici melanosomi citoplasmatici.¹⁰ Siti di necrosi sono comuni e circondati da cellule infiammatorie mononucleari.⁸

Le caratteristiche di anaplasia più o meno avanzata si possono notare soprattutto a carico delle cellule epitelioidi ove la dimensione del nucleo può variare da piccolo a grande, sempre rotondeggiante od ovalare, ma che può presentare indentazioni eosinofille. Cellule multinucleate si riscontrano facilmente nelle forme più aggressive, assieme ad un aumentato rapporto nucleo/citoplasma (Fig. 11); così come la scarsa definizione dei margini cellulari che si può accompagnare ad anisocariosi, con nuclei vacuolati o iperbasofilici, e con nucleoli ben distinti o multipli.^{7,9} L'indice mitotico è aumentato nelle masse a rapida espansione e, sebbene sia stata suggerita una correlazione con valori elevati ed indice di metastatizzazione, esistono casi riportati in cui tale criterio non è invece coerente e le mitosi possono essere limitate, nonostante il comportamento altamente maligno del tumore.⁹ La valutazione dell'indice mitotico nelle neoplasie pigmentate necessita spesso di una decolorazione del preparato. Nel gatto, di solito la decolorazione non è necessaria in quanto la pigmentazione non è così marcata come nel cane. Nonostante i criteri cellulari accompagnino indicazioni prognostiche nell'uomo, nel gatto è stato suggerito che la morfologia cellulare non dia indicazioni prognostiche. Comunque le neoplasie a maggior apparente malignità sono caratterizzate in generale da maggior pleomorfismo associato ad indice mitotico più alto ed invasione tissutale più avanzata.⁸ Il migliore indicatore del comportamento biologico nel melanoma felino sembra essere la diffusione ed

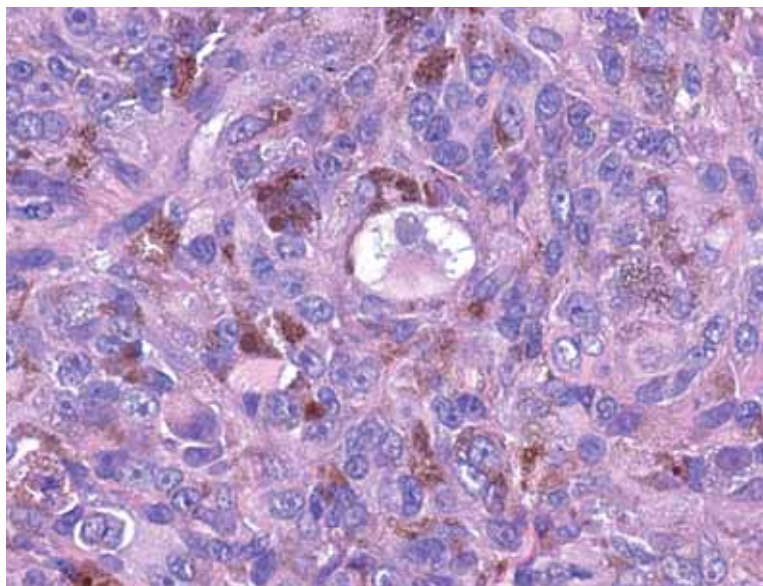


FIGURA 10 - Microfotografia a forte ingrandimento di un melanoma diffuso dell'iride in un gatto. Si noti la grave anaplasia cellulare con molte cellule neoplastiche che hanno perso la pigmentazione. Al centro è presente una cellula palloniforme in cui il citoplasma appare settato.

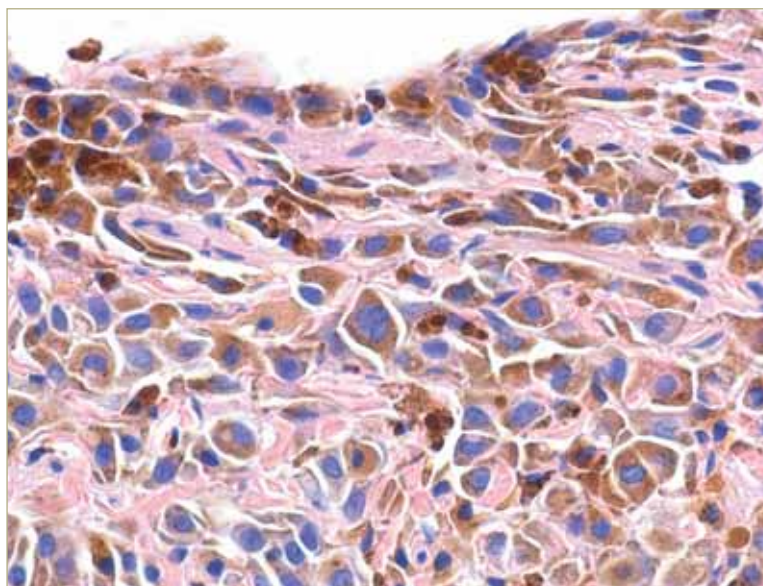


FIGURA 11 - Microfotografia a forte ingrandimento di un melanoma diffuso dell'iride in un gatto. Nonostante il moderato pleomorfismo, la maggior parte delle cellule ha morfologia epitelioidale. Al centro è visibile una cellula multinucleata, espressione di una aumentata aggressività cellulare.

invasione del processo neoplastico. L'invasione di cellule neoplastiche a carico dei corpi ciliari e soprattutto l'invasione dei plessi sclerali venosi vengono associate ad una diminuita aspettativa di vita e maggior frequenza di metastatizzazione.^{9,12}

Il limite delle conoscenze istologiche del melanoma felino è che esse derivano soprattutto da pazienti in cui la crescita neoplastica ha suggerito l'enucleazione e spesso l'intervento viene fatto ad uno stadio avanzato di infiltrazione.

D'altra parte non si ricorre alla enucleazione in caso di pigmentazione iridea iniziale né si conoscono dati longitudinali sul loro comportamento biologico. Né è dato sapere inoltre se un occhio rimosso in stadio iniziale avrebbe potuto evolvere in senso maligno e metastatizzare.

Melanocitoma e melanoma sono diagnosi istologiche e mal si correlano ad una terminologia clinica da usare per la descrizione delle forme iniziali.

Senza avere dati orizzontali e longitudinali sulla frequenza e sulla evoluzione delle melanosi primarie acquisite dell'iride, equiparare le neoplasie melanocitiche di quella sede con quelle della cavità orale o del letto ungueale, usando tout-court il termine melanoma riferendosi al potenziale comportamento biologico e non alla valutazione morfologica cellulare e di distribuzione tessutale, ci appare forzato ad oggi.

Un limite dell'informazione presente in patologia veterinaria è anche rappresentato dal fatto che usualmente i referti patologici vengono effettuati su un numero di sezioni limitato, mentre in patologia umana si esaminano sezioni seriali di tutta la lesione. Spesso la caratteristica istologica cellulare ha variazioni settoriali ed atipie cellulari possono essere confinate solo in determinati siti. Considerata la frequenza di diagnosi di melanoma diffuso dell'iride nel gatto, una diagnosi di melanocitoma in teoria andrebbe supportata da un esame seriale dell'intera lesione. Purtroppo motivi economici se non pratici limitano nel campo veterinario un approccio simile nella maggior parte delle strutture.

Immunoistochimica (IHC)

Tecniche di colorazione con immunoistochimica si rendono necessarie soprattutto per tumori altamente indifferenziati ed amelanotici, quando può esistere il dubbio di provenienza tissutale. In generale i melanomi sono positivi alla vimentina e negativi alle citocheratine, ma tali colorazioni sono aspecifiche, tanto che i sarcomi possono fornire risultati simili.¹³ I melanomi felini hanno alta sensibilità (87,5-100%) alla colorazione per S-100 ma questa colorazione immunitaria ha scarsa specificità in quanto colora una varietà di tessuti normali e tumori nonmelanocitici.^{14,15} L'utilizzo di anticorpi verso l'enolasi neuro-specifica (NSE) ha mostrato il 100% di reattività nei confronti dei melanomi felini¹¹. Anche la NSE comunque non ha alta specificità per i melanomi e dà risultati positivi nei confronti di altri tessuti e neoplasie (muscolo liscio e tumori neuro-endocrini).^{13,16}

Il Melan-A è una proteina del citoplasma melanocitario che è anche in grado di stimolare una reazione immunitaria. È considerato ad oggi il test di IHC più specifico per i melanomi.¹³ Serve anche per differenziare i melanofagi dai melanociti in quanto i primi sono negativi. Purtroppo i melanomi del gatto hanno una relativa positività alla colorazione (67% dei casi) e quelli amelanotici sono scarsamen-

te positivi con solo il 25% che risulta positivo.¹⁵ Nella valutazione dei tumori melanocitici del gatto, la colorazione per il Melan-A andrebbe sempre usata in associazione con quella per S-100.

Immunoistochimiche alle citocheratine associate ad una colorazione PAS possono fornire ulteriori indicazioni quando la differenziazione viene fatta fra tumori melanocitici e tumori epiteliali.

I tumori melanocitici sono positivi alla colorazione con immunoperoxidasi per anticorpi antimelanoma (HMB-45), proteina S-100 e vimentina che nell'uomo è di solito negativa nelle forme più maligne.¹⁷

In teoria sarebbe auspicabile poter disporre di una tecnica affidabile per la determinazione della aggressività e della tendenza alla metastatizzazione. Nell'uomo ad esempio la vimentina ha maggior espressione nelle forme benigne, mentre nelle maligne la colorazione è di solito negativa.¹⁷ Ipotesi sulla maggiore sensibilità al Melan-A di cellule benigne rispetto a quelle più maligne deve essere verificata nel gatto mentre è stata suggerita nel cane.¹⁸ Tecniche più avanzate di ibridizzazione in situ che mirino all'm-RNA specifico della tirosinasi (presente sia nei melanociti pigmentati e non) ha mostrato, nonostante problemi tecnici nell'effettuazione del test, interessanti prospettive nei melanomi amelanotici cutanei del gatto.¹¹

Test anticorpali usati in melanomi canini e diretti contro antigeni tumorali umani (HMSA-1 e HMSA-5) hanno dimostrato relativa specificità, colorando rispettivamente il 60% ed il 69% delle neoplasie testate quando usati singolarmente e l'83% quando combinati. Da notare purtroppo che anche il 29% dei tumori non-melanocitici risultava positivo.¹⁹ Nel gatto la colorazione con HMSA-5 si è dimostrata positiva nel 71% dei melanomi intraoculari ed ha consentito assieme ad altre colorazioni isto ed immunoistochimiche di riassegnare come melanoma 7 tumori precedentemente classificati su base morfologica come sarcoma.¹⁶ Il 4% di tumori diversi (sarcomi e linfomi) risultava altrettanto positivo.

Altri anticorpi monoclonali umani specifici per melanoma sono stati testati nel cane e mentre HMB-45 e Mel-1 reagirono con l'88% ed il 72% dei melanomi canini rispettivamente, l'NK1/C3 risultò negativo in tutti i campioni testati. La tecnica di utilizzo di questi anticorpi monoclonali umani richiede molteplici passaggi ed è comunque indaginosa.²⁰ Non esistono studi sull'uso di anticorpi monoclonali specifici nella valutazione dei melanomi felini.

TERAPIA E PROGNOSI

Gli obiettivi primari della terapia in corso di neoplasia melanocitica iridea nel gatto sono di evitare la diffusione sistemica del tumore e possibilmente di mantenere la funzione visiva il più a lungo possibile evitando sofferenze al paziente.

Come visto il melanoma irideo nel gatto è consi-

derato un tumore maligno tendente alla metastatizzazione, anche tardiva. Nonostante notizie aneddotiche sull'uso del laser a diodi per trattare le manifestazioni iniziali a carico dell'iride, non esistono riferimenti bibliografici al merito. La vasta diffusione al tessuto irideo che caratterizza il melanoma nel gatto rende il concetto difficile da accettare. La fotocoagulazione con laser a diodi può essere comunque suggerita per trattare aree pigmentate settoriali e discrete (Fig. 12 A-B).

Biopsie iridee sono associate a potenziali emorragie e compromissioni della funzione ed a migrazione ed invasione del sito chirurgico o di aspirazione, con aumentato rischio di metastatizzazione locale o a distanza.^{21,22}

A tutt'oggi, in mancanza di dati più completi, l'enucleazione rappresenta il trattamento di elezione per il sospetto melanoma irideo del gatto e, vista l'associazione di una diffusione sistemica con la diffusione ed invasione oculare da parte del tessuto neoplastico, una enucleazione precoce rappresenta la miglior soluzione suggeribile. L'atto chirurgico dovrebbe essere preceduto da analisi emato-chimiche complete, dall'esame dell'urina, da radiografie toraciche in proiezioni multiple e da esame ultrasonografico della cavità addominale. Da considerare comunque che metastasi sub-cliniche iniziali (micrometastasi) presenti al momento della diagnosi possono non dare alterazioni biochimiche o di immagine riscontrabili e nell'uomo sono considerate una possibile ragione per la mancata influenza del tipo di trattamento sulla prognosi.^{23,24} Nella specie umana solo nell'1-2%

dei casi è possibile riscontrare con i test a disposizione la presenza di metastasi al tempo della diagnosi,²⁵ ed il 40% dei pazienti con melanoma coroidale e che abbiano ricevuto una qualche forma di trattamento, hanno comunque metastasi (di solito al fegato) a 10 anni dalla diagnosi.²⁴

La decisione di enucleare appare ovvia quando masse estese coinvolgono l'iride e la sua periferia o quando l'occhio è cieco e/o buftalmico. I problemi decisionali insorgono quando non esistono caratteristiche morfologiche cliniche certe e l'occhio affetto è vedente.

L'enucleazione andrebbe effettuata soprattutto quando esiste il sospetto di invasione dell'angolo da parte di tessuto neoplastico. Kalishman et al.¹² hanno riportato una differenza significativa nell'aspettativa di sopravvivenza in gatti affetti da melanoma dell'iride in cui l'angolo ed i corpi ciliari non erano stati ancora interessati rispetto a soggetti enucleati in cui soprattutto i vasi sclerali ed i corpi ciliari dimostravano invasione di cellule tumorali.

Purtroppo l'informazione che l'invasione dell'angolo camerulare da parte di tessuto neoplastico rappresenta un indice di aggressività e di aumentato rischio di diffusione può creare un dubbio quando una apparente lesione pigmentata superficiale raggiunge le porzioni periferiche dell'iride di un occhio vedente. Il comportamento medico in questi casi andrebbe discusso con il proprietario a cui spetta la decisione ultima. Infatti, il reperto anatomopatologico di melanocitoma può essere frustrante in caso di enucleazione di un occhio vedente.

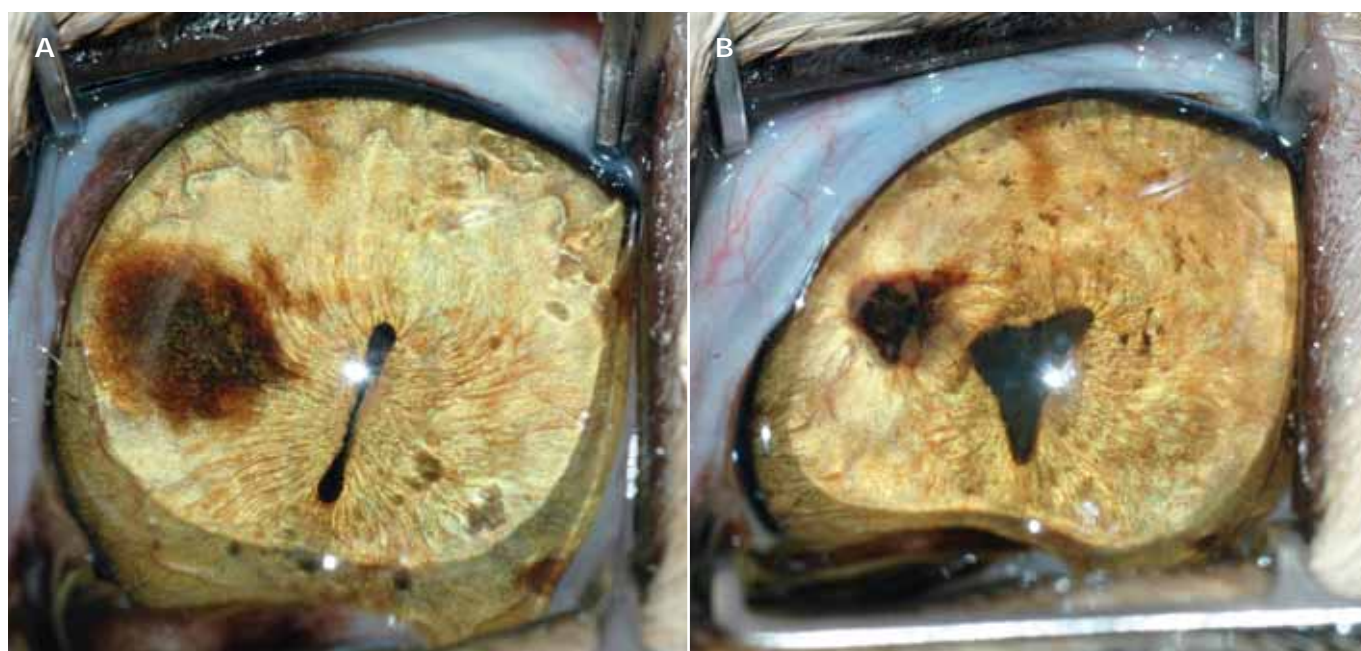


FIGURA 12 - (A) Fotografia clinica di una lesione neoplastica pigmentata dell'iride in un gatto. L'aspetto sottile ma vellutato della lesione e le sue dimensioni discrete e contenute suggerirono una iridofotocoagulazione con laser a diodi. Anche la piccola area periferica ad ore 4 venne trattata. (B) Lo stesso paziente a fine trattamento. Si noti la discoria dovuta alla contrazione per coagulazione tessutale. L'area iridea interessata dalla crescita pigmentata mostra un foro e la lente è visibile posteriormente.

Nei casi di invasione ciliare e sclerale, le metastasi sono più frequenti e possono verificarsi anche a distanza di anni. Lo studio di Kalishman et al.¹² indica che in generale, il tempo di sopravvivenza di pazienti felini affetti da melanoma diffuso dell'iride e sottoposti ad enucleazione è in maniera statisticamente significativa inferiore a quello di soggetti normali. Lo studio ha comunque dimostrato che analizzando i pazienti in base al grado di diffusione anatomica, l'aspettativa di vita diminuiva solo in caso di invasione dei corpi ciliari e dei vasi sclerali e non in caso di localizzazione all'iride (con o senza distruzione dell'epitelio posteriore) ed al trabecolato. Nell'esperienza dell'autore comunque anche neoplasie non invasive, se soggette ad esfoliazione, possono in teoria essere responsabili di metastatizzazione cellulare in quanto cellule neoplastiche possono essere reperite nel drenaggio trabecolare (Fig. 5). Se queste cellule presenti nel drenaggio angolare e verosimilmente accedenti alla circolazione sistemica siano in grado di riprodurre facilmente metastasi a distanza non è dato di sapere. Nello studio di Kalishman non venivano affrontati riferimenti alla morfologia cellulare.

Un'altro studio retrospettivo indicava analogamente nel grado di invasione tessutale un fattore prognostico significativo. L'indice mitotico veniva inoltre suggerito come parametro indicativo di prognosi anche se, sia nello stesso studio che in altri articoli scientifici diversi sono riportati casi con diffusione sistemica nonostante un indice mitotico basso.⁹

La morfologia cellulare al reperto patologico non sembra avere importanza prognostica,⁷ a differenza di quanto riportato in medicina umana.⁶ Da considerare tuttavia che il numero dei casi su cui si basa una simile affermazione è comunque limitato. Nell'uomo la percentuale di mortalità in pazienti affetti da melanoma coroidale non differisce fra trattamenti conservativi (brachiterapia) o enucleazione, consentendo nel caso della terapia radiante la conservazione del globo e della funzione visiva nel 40% dei pazienti.^{26,27}

In corso di melanoma uveale nell'uomo la mortalità è elevata con una mediana di sopravvivenza di circa 6 mesi dalla diagnosi.³³⁻³⁴

La difficoltà maggiore nel definire l'importanza prognostica dei vari stadi dei tumori melanocitici uveali negli animali ed i tempi di sopravvivenza dei pazienti affetti risiede nell'impossibilità di avere dati longitudinali oggettivi. Spesso i patologi veterinari che fanno la diagnosi anatomo-patologica e stabiliscono lo score invasivo, non hanno contatto clinico con i pazienti né con i proprietari, né hanno accesso ai follow-ups che, quando possibili, vengono basati su contatti telefonici o su informazioni fornite dai veterinari riferenti e spesso non sono comparabili. Sorprendentemente, anche in medicina umana si lamentano problemi simili,²⁸ anche se ovviamente i numeri maggiori e la maggior diffusione di dati consente analisi sistematiche molto più solide.

Non esistono al momento studi prospettivi, controllati e randomizzati in medicina veterinaria che abbiano affrontato il problema con criteri precisi di inclusione in un numero adeguato di pazienti.

A causa della scarsità delle segnalazioni, della mancata standardizzazione nel riportare dati clinici e patologici, della difficoltà in medicina veterinaria di avere follow-up prolungati e soprattutto esami necroscopici accurati, mancano precise informazioni sul comportamento biologico dei tumori iridei in base alla loro classificazione clinica ed istopatologica. Si auspica la creazione anche in medicina veterinaria di comitati di specialisti che seguano le direttive adottate dai colleghi medici umani e che suggeriscano protocolli diagnostici, terapeutici e di classificazione patologica la cui analisi a posteriori consenta di stabilire i migliori modelli di comportamento.

L'immunoterapia per melanoma è una delle nuove frontiere della terapia medica.²⁹ Sia i tumori melanocitici oculari che cutanei esprimono una serie di antigeni melanoma-associati (MAAs) in grado di stimolare una risposta citotossica con linfociti T (CTLs/CD8+). La risposta cellulo-mediata (incluso meccanismi di immunità innata - NK-) è la risposta più importante per il rigetto di tumori. È indubbio che nonostante l'immunogenicità del melanoma e l'identificazione di numerosi antigeni riconosciuti dalle CTLs, molti tumori sono resistenti alle risposte immunitarie.

I meccanismi con cui avviene il silenziamento della risposta immunitaria sono molteplici ed includono scarsa espressione dei MAAs (possono essere circa il 30% nei melanomi), la similarità dei MAAs con molecole self e successiva soppressione delle CTLs per selezione positiva nel timo per prevenire autoimmunità, mancanza di molecole co-stimolatorie.²⁹ Inoltre nell'occhio la presenza dell'ACAID e di livelli elevati di IL-10, consente alle cellule tumorali di evadere una risposta immunitaria e per questo motivo neoplasie primarie dell'occhio hanno metastasi a distanza più tollerate immunologicamente.

Nonostante reazioni infiammatorie nucleari siano segnalate nel gatto e nell'uomo in corso di melanomi uveali,⁸ in una recente pubblicazione che ha usato vari coloranti immunoistochimici in campioni istologici di neoplasie intraoculari feline, i melanomi non esprimevano antigeni LY5 o CD3, caratteristici dei linfociti B o T.¹⁶

Il bypassaggio dei meccanismi di silenziamento dei MAAs si può ottenere con terapie immunitarie a base di anticorpi monoclonali, utilizzo di citochine (IL-2, IFN α 2b e GM-CSF) o tecniche di vaccinazione.²⁹

La tirosinasi (TYR) è un enzima presente nelle cellule melanocitiche e che catalizza la formazione di melanina dalla tirosina. Questa glicoproteina viene riconosciuta dai CD8+ di pazienti con melanoma. TYR è espresso omogeneamente dalla maggior

parte dei campioni di melanoma e rappresenta un bersaglio ideale nelle strategie di vaccinazione contro i melanomi per la sua limitata e specifica espressione cellulare. Recentemente vaccini a base di DNA della tirosinasi umana hanno mostrato incoraggianti risultati nei melanomi maligni cutanei del cane.^{30,31} Nell'uomo ci sono differenze immunologiche fra melanomi cutanei ed uveali,³² e la possibile utilizzazione dei vaccini in corso di melanomi uveali non è stata ancora descritta. Nel gatto, probabilmente per la maggior rarità dei melanomi spontanei, non esistono a nostra conoscenza, pubblicazioni in merito. È comunque prospettivamente rilevante che i risultati finora ottenuti sembrano dimostrare una efficacia maggiore nei confronti delle metastasi più che nei confronti del tumore iniziale che deve comunque essere trattato classicamente (K.E. Burgess, ACVIM-Oncology, comunicazione personale).

I vaccini potrebbero rappresentare il trattamento ideale nel gatto enucleato e con invasione ciliare e

sclerale nel limitare/trattare le metastasi e nel prolungare l'aspettativa di vita.

■ **Feline iridal melanocytic neoplasia. Part 2. Pathological, therapeutical and prognostic considerations**

Summary

The second article regarding iris melanocytic neoplasia in cats deals with pathological interpretations, possible therapies and prognostic factors. Pathological interpretations rely on cellular and tissutal changes although a universally accepted classification does not exist. Correlation of clinical and pathological data is difficult because of the lack of specimens of early or non progressive lesions. The weakness of standardization and lack of complete longitudinal data question the current knowledge about prognosis and possible influence of enucleation on survival time.

BIBLIOGRAFIA

- Clark, W.H., Jr., et al., A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol*, 1984. 15(12): p. 1147-65.
- Folberg, R. and I.W. McLean, Primary acquired melanosis and melanoma of the conjunctiva: terminology, classification, and biologic behavior. *Hum Pathol*, 1986. 17(7): p. 652-4.
- Shields, J.A., C.L. Shields, and R.C. Eagle, Jr., Melanocytoma (hyperpigmented magnocellular nevus) of the uveal tract: the 34th G. Victor Simpson lecture. *Retina*, 2007. 27(6): p. 730-9.
- Zimmerman, L.E., Melanocytes, Melanocytic Nevi, and Melanocytomas. *Invest Ophthalmol*, 1965. 4: p. 11-41.
- Shields, C.L., et al., Two discrete uveal melanomas in a child with ocular melanocytosis. *Retina*, 2006. 26(6): p. 684-7.
- Callender, G., Malignant melanotic tumors of the eye. A study of histologic types in 111 cases. *Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.*, 1931(36): p. 131-142.
- Wilcock, B., Eye, Eyelids, conjunctiva, and Orbit, in *Pathologic Basis of Veterinary Diseases*, M. McGavin and J. Zachary, Editors. 2007, Mosby Elsevier: St. Louis. p. 1349-1413.
- Day, M.J. and V.M. Lucke, Melanocytic neoplasia in the cat. *Journal of Small Animal Practice*, 1995. 36(5): p. 207-213.
- Duncan, D. and R. Peiffer, Morphology and Prognostic Indicators of Anterior Uveal Melanomas in Cats. *Progress in Veterinary & Comparative Ophthalmology*, 1991. 1(1): p. 25-32.
- Wilkerson, M.J., et al., Metastatic balloon cell melanoma in a dog. *Vet Clin Pathol*, 2003. 32(1): p. 31-6.
- van der Linde-Sipman, J.S., et al., Cutaneous malignant melanomas in 57 cats: identification of (amelanotic) signet-ring and balloon cell types and verification of their origin by immunohistochemistry, electron microscopy, and in situ hybridization. *Vet Pathol*, 1997. 34(1): p. 31-8.
- Kalishman, J.B., et al., A matched observational study of survival in cats with enucleation due to diffuse iris melanoma. *Vet Ophthalmol*, 1998. 1(1): p. 25-29.
- Smith, S.H., M.H. Goldschmidt, and P.M. McManus, A comparative review of melanocytic neoplasms. *Vet Pathol*, 2002. 39(6): p. 651-78.
- Takahashi, K., et al., Immunohistochemical study on the distribution of alpha and beta subunits of S-100 protein in human neoplasm and normal tissues. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1984. 45(4): p. 385-96.
- Ramos-Vara, J.A., et al., Melan A and S100 protein immunohistochemistry in feline melanomas: 48 cases. *Vet Pathol*, 2002. 39(1): p. 127-32.
- Grahn, B.H., et al., Classification of feline intraocular neoplasms based on morphology, histochemical staining, and immunohistochemical labeling. *Vet Ophthalmol*, 2006. 9(6): p. 395-403.
- Rahimi-Movaghar, V. and M. Karimi, Meningeal melanocytoma of the brain and oculodermal melanocytosis (nevus of Ota): case report and literature review. *Surg Neurol*, 2003. 59(3): p. 200-10.
- Koenig, A., et al., Expression of S100a, vimentin, NSE, and melan A/MART-1 in seven canine melanoma cells lines and twenty-nine retrospective cases of canine melanoma. *Vet Pathol*, 2001. 38(4): p. 427-35.
- Berrington, A.J., K. Jimbow, and D.M. Haines, Immunohistochemical detection of melanoma-associated antigens on formalin-fixed, paraffin-embedded canine tumors. *Vet Pathol*, 1994. 31(4): p. 455-61.
- Sulaimon, S., B. Kitchell, and E. Ehrhart, Immunohistochemical detection of melanoma-specific antigens in spontaneous canine melanoma. *J Comp Pathol*, 2002. 127(2-3): p. 162-8.
- Acland, G.M., et al., Diffuse iris melanoma in cats. *J Am Vet Med Assoc*, 1980. 176(1): p. 52-6.
- Peiffer, R.L., Jr., W.G. Seymour, and L.W. Williams, Malignant melanoma of the iris and ciliary body in a cat. *Mod Vet Pract*, 1977. 58(10): p. 854-6.
- Eskelin, S., et al., A prognostic model and staging for metastatic uveal melanoma. *Cancer*, 2003. 97(2): p. 465-75.
- Singh, A.D., C.L. Shields, and J.A. Shields, Prognostic factors in uveal melanoma. *Melanoma Research*, 2001. 11: p. 255-263.
- Donoso, L.A., et al., Metastatic uveal melanoma. Hepatic metastasis identified by hybridoma-secreted monoclonal antibody MAb8-1H. *Arch Ophthalmol*, 1985. 103(6): p. 799-801.
- Diener-West, M., et al., The COMS randomized trial of iodine 125 brachytherapy for choroidal melanoma, II: characteristics of patients enrolled and not enrolled. COMS Report No. 17. *Arch Ophthalmol*, 2001. 119(7): p. 951-65.
- Krohn, J., et al., Posterior uveal melanoma treated with I-125 brachytherapy or primary enucleation. *Eye*, 2007.
- Singh, A.D. and A. Topham, Survival rates with uveal melanoma in the United States: 1973-1997. *Ophthalmology*, 2003. 110(5): p. 962-5.
- Komenaka, I., H. Hoerig, and H.L. Kaufman, Immunotherapy for melanoma. *Clin Dermatol*, 2004. 22(3): p. 251-65.
- Liao, J.C., et al., Vaccination with human tyrosinase DNA induces antibody responses in dogs with advanced melanoma. *Cancer Immun*, 2006. 6: p. 8.
- Bergman, P.J., et al., Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial. *Clin Cancer Res*, 2003. 9(4): p. 1284-90.
- Iwamoto, S., et al., Immunophenotypic differences between uveal and cutaneous melanomas. *Arch Ophthalmol*, 2002. 120(4): p. 466-70.
- Singh, A.D., Borden E.C. Metastatic uveal melanoma. *Ophthalmol Clin North Am*. 2005 Mar; 18(1):143-50.
- Damato B. Treatment of primary intraocular melanoma. *Future Drugs LTD*, 2006 April; 6(4): 493-506.