

VALUTAZIONE DELL'ERITRONE FELINO IN CONDIZIONI DI SALUTE E DI MALATTIA*

MOSETTE EIBERT, DVM
DAVID C. LEWIS, BVSc, PhD
Kansas State University

Riassunto

L'eritrone felino presenta diversi aspetti inusuali, per cui occorre essere cauti nell'applicare al gatto le proprie conoscenze generali circa la fisiologia e il metabolismo degli eritrociti. Il presente lavoro descrive caratteri propri soltanto dell'eritrone felino e spiega come questi influenzino l'interpretazione dei dati relativi ai globuli rossi in questa specie animale.

Summary

The feline erythron has several unusual features; veterinarians must be caution when applying their general knowledge of red blood cell (RBC) physiology and metabolism to feline patients. This article describes features that are unique to the feline erythron and explains how they impact the interpretation of RBC data in cats.

REQUISITI GENERALI

La valutazione dell'eritrone felino comprende esami quantitativi e qualitativi. I dati quantitativi forniti dai laboratori sono rappresentati da conteggio degli eritrociti, ematocrito, livelli di emoglobina, volume corpuscolare medio (MCV), concentrazione emoglobinica corpuscolare media (MCHC) ed ampiezza di distribuzione dei globuli rossi (RDW).

Gli analizzatori quantitativi del *buffy coat* (strato di leucociti e piastrine che si forma tra plasma ed eritrociti dopo la centrifugazione) misurano l'ematocrito e la concentrazione emoglobinica, da cui è possibile calcolare l'MCHC. La valutazione qualitativa degli eritrociti (mediante esame di uno striscio di sangue) completa l'analisi quantitativa. La ricerca di cellule invase da parassiti e di alterazioni di morfologia, dimensioni e affinità per i coloranti degli eritrociti può fornire valide informazioni diagnostiche. I tecnici che esaminano gli strisci di sangue devono conoscere bene la morfologia degli eritrociti felini.

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Articolo #5, Vol. 19, N.3, marzo 1997. Con l'autorizzazione dell'Editore.

RACCOLTA E TRATTAMENTO DEL CAMPIONE

Il prelievo dalla vena giugulare consente di raccogliere rapidamente e in modo affidabile un volume ematico soddisfacente su cui eseguire un'analisi completa. L'acido etilendiaminotetracetico, o EDTA (contenuto nelle provette con il tappo lavanda) è l'anticoagulante di elezione. Per ridurre al minimo la quantità di sangue da prelevare dai gatti di piccola taglia e da quelli in cui è necessario effettuare più analisi in un breve arco di tempo, è preferibile utilizzare piccole provette (2,0-5,0 ml). Le provette devono essere riempite fino al livello consigliato per garantire un rapporto corretto fra sangue e anticoagulante, quindi si mescolano delicatamente i due componenti.

La diluizione del campione con EDTA dovuta a scarso riempimento della provetta induce la contrazione degli eritrociti, a cui conseguono falsi abbassamenti di ematocrito e MCV e falsi aumenti di MCHC.¹ Gli strisci di sangue devono essere allestiti immediatamente dopo il prelievo utilizzando il sangue non trattato con anticoagulanti che rimane nell'ago, quindi devono essere fatti asciugare rapidamente all'aria (agitare il vetrino è un ottimo sistema). In questo modo si riducono al minimo gli artefatti legati all'essiccamento, in particolare la dentellatura degli eritrociti che li rende simili ad acantociti (Fig. 1). È consigliabile refrigerare i campioni poiché la conservazione del sangue

SI È ROVINATA???

FIGURA 1 - Acantociti in un gatto con lipidosi epatica. Gli acantociti si riscontrano comunemente nei gatti affetti da epatopatie. La dentellatura (crenazione) degli eritrociti (dovuta all'essiccamento lento degli strisci di sangue) conferisce a questi l'aspetto di acantociti. (Colorazione con Diff-Quik®, ingrandimento originale X 100)

in EDTA a temperatura ambiente per tempi prolungati (più di 6 ore) favorisce il rigonfiamento eritrocitario con falsi aumenti di ematocrito e MCV e false diminuzioni di MCHC.²

FISIOLOGIA

Le differenze fisiologiche sono responsabili dei numerosi aspetti caratteristici dei disordini eritrocitari felini. I globuli rossi del gatto sono più piccoli di quelli di molte altre specie animali; infatti, il loro diametro medio è pari a 5,8 μ , rispetto ai 7 μ degli eritrociti canini e agli 8 μ di quelli umani.^{3,4} Per garantire conteggi eritrocitari accurati, la finestra di conta dell'analizzatore automatico deve essere tarata sul giusto intervallo delle dimensioni globulari. Gli analizzatori programmati per eritrociti di dimensioni maggiori (ad es. quelli umani e canini) forniscono risultati inferiori alla realtà, con conseguenti errori nei calcoli dell'ematocrito e degli indici globulari.

Nel gatto, le dimensioni ridotte degli eritrociti e le ampie variazioni di dimensione delle piastrine comportano sovrapposizioni fra i due elementi.⁵ A causa di questo fattore e data la tendenza delle piastrine feline ad aggregarsi nel sangue trattato con EDTA, i contaglobuli automatici non possono fornire conteggi piastrinici affidabili nel gatto; pertanto, i conteggi anomali devono essere verificati mediante valutazione di strisci di sangue. Nel corso di un esame citologico, bisogna tenere presente le piccole dimensioni degli eritrociti felini, che possono fare apparire relativamente grossi gli altri elementi cellulari. Ad esempio, applicando i principi di valutazione validi nel cane i linfociti maturi del gatto possono essere interpretati come elementi reattivi o immaturi.

Gli eritrociti sono continuamente esposti ad elevate tensioni di ossigeno e a potenziali danni ossidativi. A motivo delle differenze strutturali, l'emoglobina e la membrana eritrocitaria felina sono più sensibili a questo tipo di danno rispetto a quelle delle altre specie animali.^{6,7} La maggiore tendenza dell'emoglobina felina a formare corpi

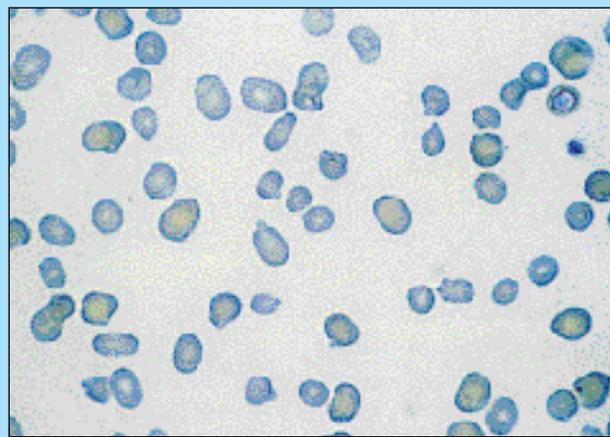


FIGURA 2 - Numerosi corpi di Heinz che appaiono come protuberanze degli eritrociti in un gatto affetto da linfoma. (Colorazione con Diff-Quik®, ingrandimento originale X 100)

di Heinz in seguito a lesioni ossidative è attribuita al numero più elevato (otto) di gruppi sulfidrilici reattivi che questa possiede in confronto alle altre specie (che ne hanno meno di quattro) e alla facilità con cui si dissocia da tetramero a dimero.⁸ Inoltre, gli eritrociti contenenti corpi di Heinz persistono in circolo perché la milza nel gatto non li rimuove in modo efficiente. I corpi di Heinz sono accumuli di emoglobina ossidata e denaturata che vengono messi in evidenza negli strisci colorati con metodi di Romanowsky (ad es. Diff-Quik®, Wright o Giemsa) ed appaiono come protuberanze pallide della membrana eritrocitaria o come aree rifrangenti chiare endocellulari (Fig. 2). Con il nuovo blu di metilene, i corpi di Heinz appaiono come piccole inclusioni situate all'interno dell'eritrocita o sporgenti sulla sua superficie (Fig. 3).

I corpi di Heinz possono essere riscontrati anche in globuli rossi di gatti apparentemente normali, ma la vita media degli elementi cellulari sarà ridotta.⁹ Non tutti i soggetti contenenti queste inclusioni eritrocitarie risultano anemici e lo sviluppo di un'anemia emolitica indotta da tali strutture è più probabile se queste sono di grosse dimensioni o numerose. Si ritiene che l'accorciamento della vita media degli eritrociti contenenti i corpi di Heinz sia attribuibile al legame della componente globinica denaturata dell'emoglobina alle proteine di membrana, con conseguente perdita dell'integrità membranaria, ridotta deformabilità cellulare e lisi della cellula.⁹

Gli eritrociti felini sono dotati di diverse caratteristiche morfologiche tipiche. Gli elementi normali presentano un pallore centrale minimo e inconsistente (Fig. 4). Quelli in cui manca la zona centrale pallida sono simili a sferociti e la situazione non può essere distinta dalle condizioni di sferocitosi evidenti nei soggetti colpiti da anemia emolitica immunomediata.¹⁰ Le anomalie morfologiche eritrocitarie sono più comuni nel gatto che nelle altre specie a causa delle caratteristiche strutturali della milza felina. Quest'ultima viene considerata come organo non-sinusoidale, poiché non possiede una struttura reticolare simile a un setaccio o una barriera endoteliale che gli eritrociti debbano attraversare per rientrare nel circolo ematico.¹¹

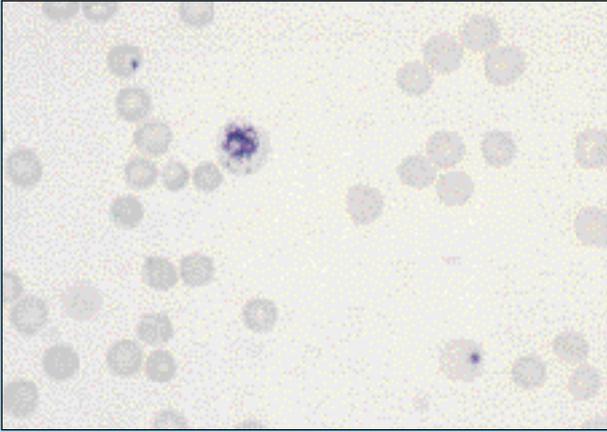


FIGURA 3 - Due corpi di Heinz (piccole inclusioni eritrocitarie di colore blu) e un globulo rosso in via di disgregazione. (Colorazione con nuovo blu di metilene, ingrandimento originale X 100)

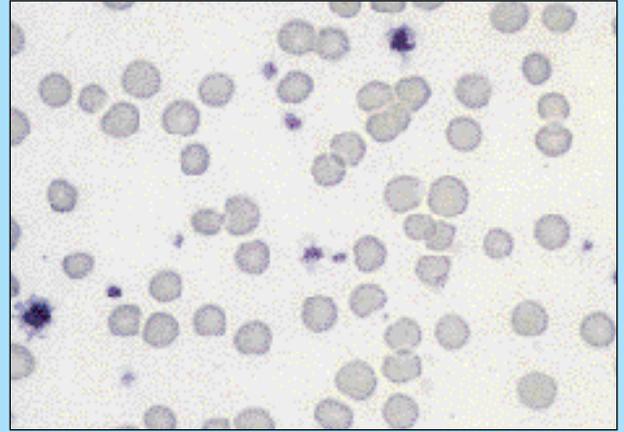


FIGURA 4 - Striscio di sangue felino normale in cui si evidenzia una zona minima ed incostante di pallore al centro. Per questa ragione, nel sangue felino è difficile individuare gli sferociti. Si noti la variabilità delle dimensioni delle piastrine, alcune delle quali sono più grandi dei globuli rossi. Le ampie dimensioni piastriniche e la tendenza di questi elementi ad aggregarsi impediscono di eseguire una conta accurata con i contaglobuli automatici. (Colorazione Diff-Quik®, ingrandimento originale X 100)

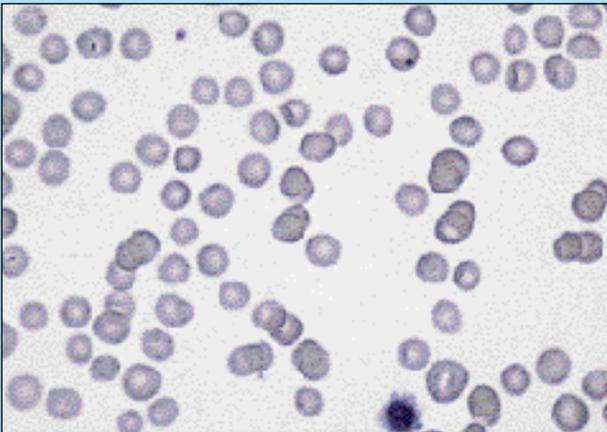


FIGURA 5 - Corpi di Howell-Jolly (residui nucleari) in uno striscio di sangue di gatto normale. Questi elementi sono di dimensioni maggiori e si colorano in modo più omogeneo rispetto a H. felis. (Colorazione Diff-Quik®, ingrandimento originale X 100)

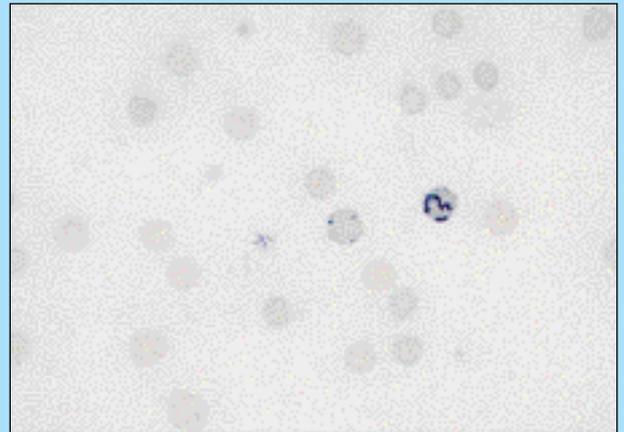


FIGURA 6 - Un reticolocita con aggregati e uno puntinato in un gatto con anemia emolitica dovuta all'infezione da H. felis. (Colorazione con nuovo blu di metilene, ingrandimento originale X 100)

Ne consegue che gli eritrociti danneggiati e le relative inclusioni (ad es. corpi di Heinz, corpi di Howell-Jolly e parassiti endoglobulari) vengono rimossi in modo inefficiente dai macrofagi splenici e si riscontrano con maggiore frequenza nel sangue periferico.¹¹ I corpi di Howell-Jolly sono residui nucleari che si colorano in blu scuro con i coloranti di Romanowsky (Fig. 5).

Nel gatto, i caratteri biochimici degli eritrociti differiscono da quelli degli altri animali. In tutte le specie, i globuli rossi non sono dotati di mitocondri e, quindi, della capacità metabolica di produrre efficientemente energia (ATP) attraverso il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa, dipendendo invece dalla glicolisi anaerobica.¹² Nella specie felina, la velocità di assunzione e di utilizzazione del glucosio da parte degli eritrociti è più bassa che negli altri animali.^{13,14} Questo potrebbe dipendere dal fatto che gli eritrociti del gatto non richiedono la sintesi di 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) a partire dal glucosio.

L'emoglobina felina sembra possedere la caratteristica innata di scarsa affinità per l'ossigeno e non dipende dal 2,3-DPG per rilasciare ossigeno ai tessuti in misura efficiente.^{12,15}

L'apparente frequenza con cui si osservano stati di anemia nel gatto dipende probabilmente da alcuni caratteri fisiologici tipici degli eritrociti in questa specie animale, la cui vita media è fra le più brevi nell'ambito dei mammiferi domestici; infatti raggiunge all'incirca i 70 giorni rispetto ai 112 del cane.^{3,4} Il volume ematico e l'ematocrito nel gatto sono significativamente più bassi che nel cane; infatti, nel primo si registrano rispettivamente valori di 50-60 ml/kg e 30-45%, mentre nel secondo i valori raggiungono 80-90 ml/kg e 37-55%.^{7,16} Nei felini, la massa eritrocitaria complessiva è del 20-30% più bassa, per cui lo sviluppo di stati anemici in seguito ad emorragie o emolisi è più frequente. La massa eritrocitaria minore e la brevità della vita media delle emazie contribuiscono allo sviluppo più rapi-

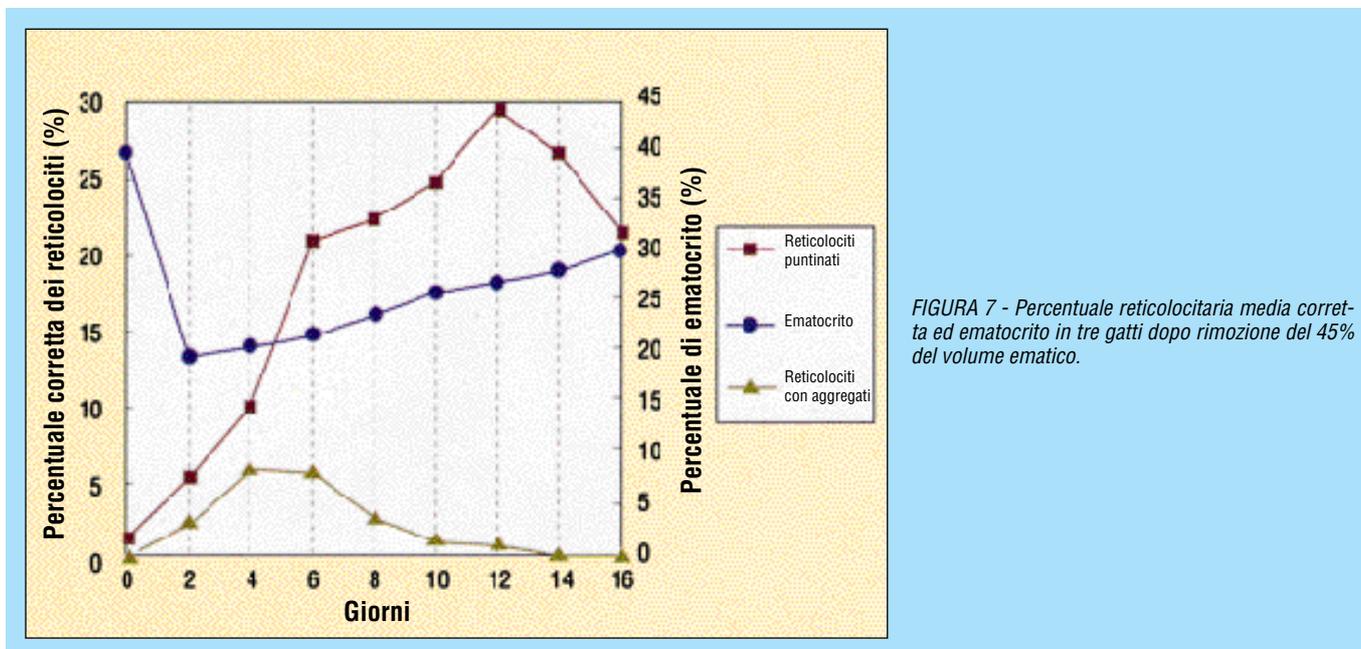


FIGURA 7 - Percentuale reticolocitaria media corretta ed ematocrito in tre gatti dopo rimozione del 45% del volume ematico.

do di anemia associata a patologie croniche. Nei felini, tuttavia, la predisposizione all'anemia viene in qualche modo compensata dalla scarsa affinità dell'emoglobina per l'ossigeno, che consente un'ossigenazione tissutale più efficiente.¹⁵

Nel gatto, la classificazione delle anemie in rigenerative e non rigenerative non è semplice come nel cane, poiché spesso i meccanismi che contribuiscono allo sviluppo dello stato anemico sono numerosi e i caratteri di laboratorio che distinguono le risposte eritrocitarie rigenerative da quelle non rigenerative sono meno evidenti.¹⁷ Nei felini, il midollo osseo ha maggiore tendenza a trattenere i reticolociti fino a quando non siano morfologicamente maturi.¹⁷

Nel gatto, la valutazione degli strisci di sangue colorati con il metodo Romanowsky per ricercare segni di policromasia è un sistema inaffidabile per determinare l'esistenza di una risposta eritrocitaria rigenerativa. Come nel cane, la presenza di tale risposta in un soggetto anemico viene indicata da un numero più elevato di eritrociti policromatofili (che assumono colorazione blu-grigia). Tuttavia, soltanto le emazie feline molto giovani sono riconosciute come policromatofile mediante le colorazioni di Romanowsky (queste cellule colorate con il nuovo blu di metilene appaiono come reticolociti classici o aggregati) e rappresentano soltanto una parte degli eritrociti immaturi presenti in circolo nel corso di una risposta rigenerativa all'anemia. Le colorazioni Diff-Quik® comunemente utilizzate per procedimenti veloci non permettono di individuare alcun eritrocita immaturo.^{10,17,18} Quindi, benché la presenza di numerose cellule policromatofile (da 3 a 4 per campo ad immersione in olio) in uno striscio di sangue allestito da un soggetto anemico e colorato con metodo Romanowsky sia indice di risposta rigenerativa, quest'ultima non può essere esclusa in assenza di policromasia.^{12,17}

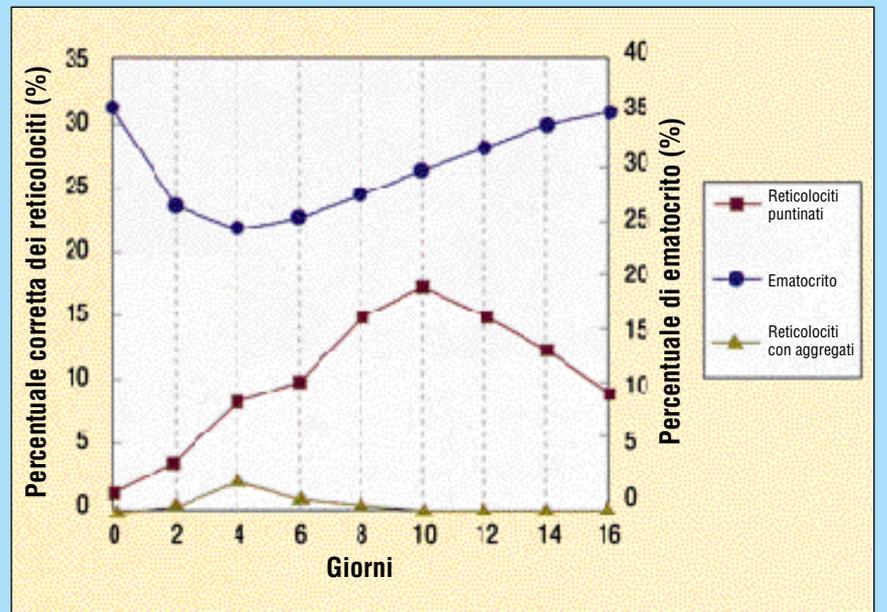
Anche se è il sistema migliore per distinguere l'anemia rigenerativa da quella non rigenerativa, il conteggio dei reticolociti è un metodo noioso da eseguire e comporta

una notevole variabilità; inoltre, nel gatto è più difficile da interpretare che nel cane.^{19,20} La conta dei reticolociti è indicata nei gatti con anemia apparentemente non rigenerativa o inadeguatamente rigenerativa in base a quanto osservato negli strisci colorati con il metodo di Romanowsky. I conteggi vengono eseguiti colorando lo striscio con nuovo blu di metilene. Una certa quantità di sangue contenente EDTA viene mescolata ad una pari quantità di nuovo blu di metilene allo 0,5% e incubata per 20 minuti prima di allestire lo striscio per stabilire la percentuale di reticolociti ogni 1000 emazie. Il nuovo blu di metilene fa precipitare e colora l'RNA e i residui proteici presenti negli eritrociti immaturi; tali residui conferiscono il caratteristico aspetto puntinato ai reticolociti.

A differenza di quelli di altre specie, i reticolociti felini sono classificati in due tipi principali in base alla quantità di precipitati che contengono. I reticolociti aggregati, classici o di classe I contengono abbondanti precipitati lineari e sono i meno maturi fra quelli circolanti. Sono riconoscibili come policromatofili mediante le colorazioni di Romanowsky e maturano nella forma puntinata entro 12 ore (Fig. 6). I reticolociti puntinati (o di classe II) contengono uno o più punti di precipitato e circolano per circa 10 giorni prima di maturare evolvendo in eritrociti normali.²¹ I reticolociti puntinati non si colorano come policromatofili con i coloranti di Romanowsky.

Non sempre è possibile distinguere nettamente fra i reticolociti con aggregati e quelli puntinati, per cui in alcuni schemi di classificazione è stato introdotto un terzo gruppo di reticolociti. Il conteggio citometrico dei reticolociti colorati in arancio con tiazolo è un sistema più sensibile della conta manuale e consente di individuare i reticolociti con aggregati e quelli puntinati come popolazioni distinte²²; tuttavia, questa tecnica non è molto diffusa. I valori di reticolocitosi variano a seconda dei laboratori ed è importante sapere quali tipi di elementi sono stati contati e se sono stati differenziati quelli con aggregati da quelli puntinati. La maggior parte dei laboratori considera soltanto questi ultimi nella percentuale. Per un'interpretazio-

FIGURA 8 - Percentuale reticolocitaria media corretta ed ematocrito in tre gatti dopo rimozione del 15% del volume ematico.



ne accurata, la percentuale grezza dei reticolociti deve essere corretta per il grado di anemia calcolando la quantità assoluta di eritrociti o la percentuale corretta di tali elementi nel modo seguente:

$$\text{Conteggio assoluto dei reticolociti} = \text{Percentuale di Reticolociti} \times \text{Conteggio Eritrocitario (G.R.} \times 10^6/\mu\text{l)}$$

$$\text{Percentuale Corretta di Reticolociti} = \text{Percentuale di Reticolociti} \times (\text{Ematocrito del paziente} \div 37\%)$$

L'indice di produzione dei reticolociti non è valido nel gatto. Un numero assoluto di reticolociti con aggregati superiore a 50.000/ μl oppure una percentuale corretta di reticolociti superiore a 0,5 depongono per un'anemia rigenerativa.^{7,17} Le conte dei reticolociti contenenti aggregati sono valide per valutare le forme di anemia da moderata a grave (ematocrito inferiore a 20%), ma spesso sottostimano la risposta rigenerativa nei gatti con stati anemici lievi (ematocrito superiore a 20%).⁸ Nei soggetti con anemia da moderata a grave dovuta a perdita di sangue, i reticolociti con aggregati vengono rilasciati entro 4-7 giorni dall'evento (Fig. 7).²³ Il numero di reticolociti puntinati sale nel corso della prima e seconda settimana successive e può aumentare per 4 settimane per la maturazione delle forme con aggregati in quelle puntinate e per il continuo rilascio di queste ultime da parte del midollo osseo.^{23,24} Data la vita media relativamente lunga dei reticolociti puntinati, questi sono meno affidabili come indici della richiesta di globuli rossi in un dato momento.

Tuttavia, nei gatti con leggera anemia emorragica o emolitica, l'aumento dei reticolociti con aggregati può essere limitato o transitorio e la risposta rigenerativa può passare inosservata se non si contano gli elementi puntinati¹⁷ (Fig. 8).²³ Per cui, nei gatti con anemia moderata o grave (ematocrito inferiore a 20%) si contano esclusivamente i reticolociti con aggregati, mentre in quelli con forme anemiche lievi si devono valutare entrambe le forme reticolocitarie.

EZIOLOGIA E CARATTERI DELL'ANEMIA NEL GATTO

Alcune fra le cause e le caratteristiche dell'anemia felina sono tipiche di questa specie (vedi il riquadro). Altre, benché riscontrabili in diverse specie animali, comportano effetti particolari sull'eritrone felino.

Affezione cronica

Le patologie croniche aspecifiche ed i processi infiammatori deprimono la capacità del midollo osseo di produrre eritrociti. Vari processi infettivi, infiammatori o neoplastici localizzati o generalizzati possono provocare o contribuire allo sviluppo di anemia nei gatti con patologie croniche. Benché il meccanismo principale dell'anemia associata a queste condizioni sia il sequestro di ferro nei macrofagi del midollo osseo, la rapidità con cui l'anemia si sviluppa indica che l'accorciamento della vita media degli eritrociti (per meccanismi non perfettamente compresi) svolge un ruolo significativo.^{7,25,26} L'anemia associata alle malattie croniche è di tipo non rigenerativo ed è di grado lieve o moderato (ematocrito non inferiore a 15%).²⁵ A differenza del cane, il gatto colpito da una malattia cronica può sviluppare uno stato anemico nell'arco di 3-4 giorni.^{7,25,26} Questo sembra dipendere da 1) vita media più breve e maggiore sensibilità ai danni ossidativi degli eritrociti felini e 2) massa eritrocitaria totale più limitata in questa specie.

Infezione da virus della leucemia felina

L'anemia è comune nei gatti con infezione da virus della leucemia felina (FeLV) e può dipendere da vari meccanismi.^{27,28} L'anemia associata a malattie croniche può derivare da infezioni opportuniste indotte dal virus FeLV.²⁷ Quest'ultimo predispone il gatto allo sviluppo di anemia emolitica correlata a meccanismi immunitari, formazione

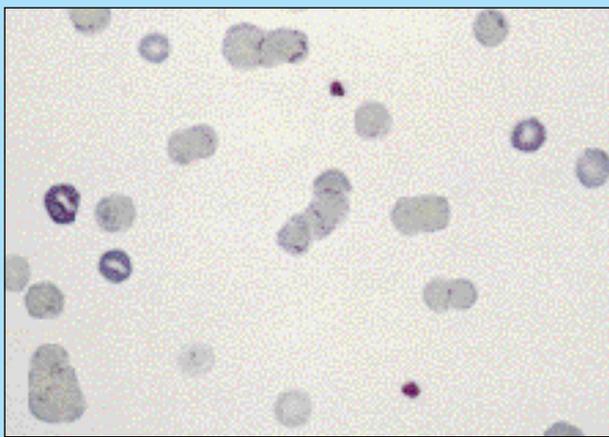


FIGURA 9 - Hemobartonella felis, in forma bacillare, coccica e anulare, in un gatto con infezione da virus della leucemia felina. Si notino i due eritrociti policromatofili (colorazione blu-grigiastra). Queste cellule appaiono come aggregati di reticolociti se colorati con nuovo blu di metilene. (Colorazione di Wright, ingrandimento originale X 100)

di corpi di Heinz o infezione da *Hemobartonella felis*.²⁸ Nei gatti infettati da FeLV, l'anemia dovuta a patologie midollari può dipendere da stati di pura ipoplasia eritrocitaria, mielodisplasia o neoplasie emopoietiche.^{28,29} L'anemia di tipo non rigenerativo ma macrocitico è spesso attribuibile a infezioni da FeLV.²⁸

Infezione da virus dell'immunodeficienza felina

In presenza di infezione da virus dell'immunodeficienza felina (FIV), l'anemia si rileva raramente se il gatto è asintomatico, mentre è un reperto frequente nei soggetti con manifestazioni cliniche.^{30,31} L'anemia potrà essere di gravità variabile, di tipo rigenerativo o non rigenerativo e, spesso, sarà accompagnata da altre forme di citopenia.^{31,32} Nei gatti con infezione da FIV, lo stato anemico può essere dovuto a immunodepressione virale delle cellule emopoietiche, malattie croniche conseguenti a infezioni opportuniste, emobartonellosi, denutrizione o processi maligni.

Emobartonellosi

L'anemia dovuta a infezioni sostenute da *H. felis* è di gravità variabile e può essere di tipo rigenerativo o non rigenerativo in base al decorso della malattia e del concomitante quadro clinico.^{33,34} Solitamente, le anemie emolitiche comportano le risposte rigenerative più marcate, poiché il riciclo di emoglobina fornisce un ampio substrato all'eritropoiesi. Tuttavia, poiché l'emobartonellosi può decorrere in forma iperacuta o acuta, nei gatti portati alla visita con gravi stati anemici può essere trascorso un tempo insufficiente allo sviluppo di una risposta rigenerativa. Inoltre, la concomitanza di patologie croniche ed infezioni da FIV oppure da FeLV può compromettere l'eritropoiesi. L'emolisi provocata da *H. felis* deriva dal sequestro splenico dei globuli rossi danneggiati oppure da un processo immunomediato.^{7,33} *H. felis* è di piccole dimensioni e assume aspetto bacillare, coccico (elementi singoli o catene) o anulare sulla superficie dei globuli rossi (Fig. 9).

Eziologia e caratteristiche dell'anemia nel gatto

- Patologie croniche
- Infezione da virus della leucemia felina
- Infezione da virus dell'immunodeficienza felina
- Emobartonellosi
- Cytauxzoonosi
- Aumento del numero di corpi di Heinz
- Ipofosfatemia
- Epatopatie
- Insufficienza renale cronica
- Disordini congeniti
- Malattia emolitica immunomediata

L'emobartonellosi felina può essere difficile da confermare poiché i microrganismi sono presenti negli eritrociti in modo discontinuo e, spesso, in numero limitato; inoltre, possono apparire come precipitati di colorante o corpi di Howell-Jolly. I precipitati di colorante vengono distinti dal microrganismo poiché modificando il fuoco al microscopio divengono rifrangenti, mentre *Hemobartonella* conserva la propria basofilia; i corpi di Howell-Jolly invece tendono ad avere dimensioni maggiori e a colorarsi in modo più omogeneo. Gli strisci di sangue contenenti numerosi eritrociti fortemente parassitati sono un'eccezione.³³

Molti gatti affetti da emobartonellosi risultano positivi al test antiglobulinico diretto o al test di Coombs, anche quando non è possibile mettere in evidenza i microrganismi. Questi ultimi tendono a fuoriuscire dall'eritrocita nel sangue trattato con anticoagulante e si evidenziano più facilmente allestendo gli strisci con sangue fresco, senza aggiunta di anticoagulanti, e prelevato da una vena periferica (ad es. la vena marginale laterale dell'orecchio).³ Date le difficoltà legate alla conferma della diagnosi di emobartonellosi, quando si sospetti la presenza dell'infezione è consigliabile somministrare empiricamente doxiciclina per via orale (da 2,5 a 5,0 mg/kg ad intervalli di 12 ore per 21 giorni).^{33,34}

Cytauxzoonosi

Il protozoo *Cytauxzoon felis* è all'origine di un'anemia emolitica sempre fatale ed è stato segnalato nelle regioni medio-occidentali e sudorientali degli Stati Uniti.^{35,36} La lince rossa è l'ospite serbatoio di *C. felis* e le zecche ne sono il probabile vettore. I segni clinici dell'affezione comprendono depressione, anoressia, febbre, pallore, ittero, linfadenopatia e splenomegalia.³⁶ I reperti di laboratorio sono rappresentati da grave anemia non rigenerativa normocitica-normocromica, leucopenia, trombocitopenia ed iperbilirubinemia. Nella maggior parte dei gatti colpiti, è parassitata una percentuale di eritrociti compresa fra l'1% ed il 5%. I microrganismi sono di grandi dimensioni e

presentano forma anulare o bipolare con nucleo e citoplasma distinti³⁵ (Fig. 10). È possibile riscontrare schizonti nei macrofagi aspirati da linfonodi, milza e midollo osseo. Non esiste un trattamento definitivo e solitamente la morte sopravviene entro 7 giorni dalla diagnosi.

Aumento dei corpi di Heinz

L'anemia emolitica a corpi di Heinz solitamente deriva dall'azione di ossidanti esogeni (ad es. blu di metilene, vitamina K, acetaminofene, lidocaina, benzocaina, DL-metionina, cipolle, zinco o l'agente anestetico propofolo).^{9,37,38} Anche il glicol propilenico, usato in passato come umettante per i cibi semi-umidi, provoca la formazione dei corpi di Heinz.³⁹ Un aumento di tali formazioni può contribuire allo sviluppo di anemia nei gatti con malattie endogene, in particolare diabete mellito (soprattutto la chetoacidosi diabetica), linfomi o ipertiroidismo, oltre che in quelli affetti da varie altre patologie (ad es. infezione da FeLV, ascessi, infezioni delle vie respiratorie superiori, stomatiti, peritoniti, affezioni delle basse vie urinarie e insufficienza renale cronica).^{9,28,40} Nel gatto, gli alimenti per bambini contenenti cipolle in polvere possono indurre lo sviluppo di anemia emolitica con corpi di Heinz, soprattutto nei soggetti predisposti alla formazione di questi ultimi a causa di malattie preesistenti.⁴¹

Nei felini, in genere i corpi di Heinz sono di grandi dimensioni e si evidenziano prontamente negli strisci di sangue colorati con metodo Romanowsky (Fig. 2). Il nuovo blu di metilene può essere utilizzato per conferma (Fig. 3). La presenza dei corpi di Heinz può indurre un falso innalzamento dei livelli di emoglobina, che comporta un falso aumento della concentrazione emoglobinica globulare media.⁴¹

Ipofosfatemia

Casi di ipofosfatemia da moderata a grave (fosforemia inferiore a 1,5 mg/dl) che hanno indotto lo sviluppo di anemia emolitica sono stati segnalati in seguito a terapia insulinica in gatti con chetoacidosi diabetica ed in soggetti denutriti dopo il ritorno all'alimentazione corretta.^{42,43} L'ipofosfatemia si sviluppa perché il fosforo è essenziale per la glicolisi e la sintesi di ATP e la quota presente in circolo viene esaurita rapidamente quando inizia il supporto nutrizionale di un soggetto precedentemente denutrito. La lisi degli eritrociti si verifica quando i livelli di fosforo sono insufficienti per continuare a produrre ATP. L'emolisi ha luogo in sede intravascolare e l'ematocrito può diminuire drasticamente.^{42,43}

Nei soggetti con ipofosfatemia moderata o grave è consigliata l'integrazione di fosforo per via endovenosa. La dose iniziale di fosfato di potassio è compresa fra 0,01 e 0,03 mmol/kg/h e viene somministrata in soluzioni prive di calcio, controllando frequentemente i livelli di fosforo e modificando il dosaggio in base alle necessità. Alcuni gatti ipofosfatemici richiedono dosaggi molto più elevati dell'elemento; in questi casi è utile fornire da un terzo alla metà del fabbisogno di potassio sotto forma di fosfato e il resto come cloruro. Poiché il fabbisogno di potassio è maggiore

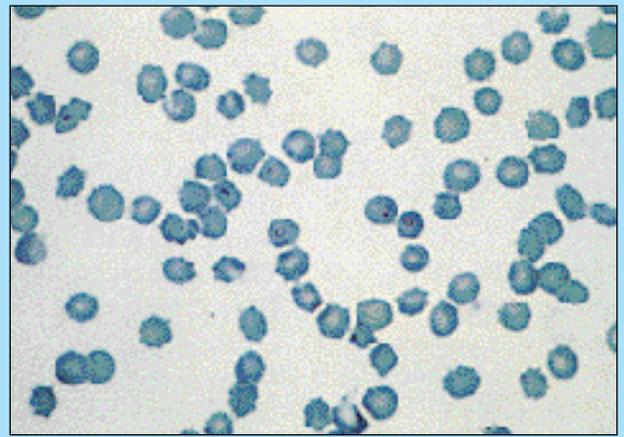


FIGURA 10 - *Cytauxzoon felis*, inclusioni grosse, anulari con nucleo e citoplasma visibili. (Colorazione Diff-Quik®, ingrandimento originale X 100)

di quello di fosforo, questo protocollo può produrre il sovradosaggio di fosforo se i livelli dell'elemento non vengono controllati attentamente. La fosforemia deve essere misurata spesso (da due a quattro volte al giorno) per ottimizzare la terapia integrativa. Nei soggetti con ipofosfatemia di grado moderato, si può ricorrere all'integrazione orale di fosforo (da 0,5 a 2,0 mmol/kg/die).⁴⁴ La formazione dei corpi di Heinz e l'ipofosfatemia possono intervenire nella genesi dell'anemia emolitica che talvolta si verifica nei gatti con diabete mellito.^{40,42}

Epatopatie

Nei gatti con epatopatie, l'anemia può essere messa in relazione a malattie croniche, perdite ematiche indotte da coagulopatie, ipofosfatemia o concomitanti patologie midollari. La presenza di poichilociti (eritrociti morfologicamente anomali) è comune nei gatti con patologie epatiche.⁴⁵ La maggior parte di queste cellule è rappresentata da acantociti, vale a dire globuli rossi con un numero variabile da 2 a 12 di protuberanze irregolarmente distribuite (Fig. 1). È stato proposto che il meccanismo all'origine dell'acantocitosi sia l'alterata composizione lipidica della membrana cellulare nei gatti con affezioni epatiche.⁴⁵ Non è stato chiarito se la durata media della vita degli acantociti sia ridotta.

Insufficienza renale cronica

Il deficit di produzione renale di eritropoietina è il meccanismo principale all'origine dell'anemia non rigenerativa, normocromica e normocitica nei gatti affetti da insufficienza renale cronica. Altri fattori favorevoli sono rappresentati da emorragie derivanti da ulcere gastroenteriche, carenza di ferro, formazione di corpi di Heinz, riduzione della vita media degli eritrociti attribuibile ad alterata composizione fosfolipidica della loro membrana cellulare e fibrosi del midollo osseo. L'anemia varia da lieve a grave e risponde a trattamento con eritropoietina esogena.⁴⁶

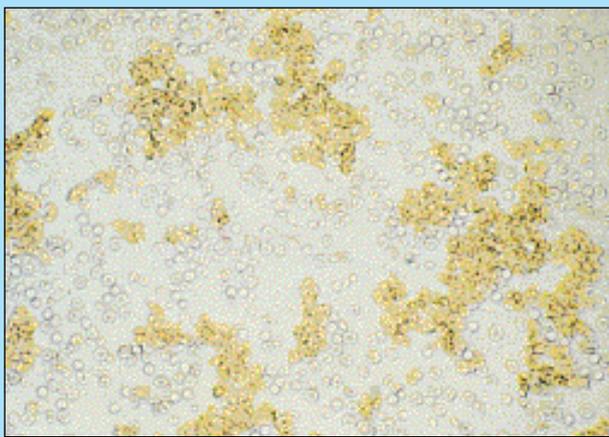


FIGURA 11 - Autoagglutinazione eritrocitaria in un gatto con anemia emolitica immunomediata secondaria a infezione da *H. felis*. Una goccia di sangue viene mescolata a due gocce di soluzione fisiologica, quindi si applica un vetrino coprioggetto per procedere all'esame microscopico. (Ingrandimento originale X 20)

La somministrazione dell'eritropoietina spesso è consigliata nei gatti con valore ematocrito inferiore a 20%, somministrandola al dosaggio di 100 unità/kg tre volte alla settimana fino a raggiungere il valore prefissato del 30-35%. Quindi, la dose viene modificata per mantenere tale valore entro i limiti di riferimento. Prima di somministrare l'eritropoietina bisogna iniziare l'integrazione con ferro (50-100 mg/gatto/die di solfato ferroso) e correggere l'ipertensione. L'anemia che sembra essere refrattaria al trattamento con eritropoietina può dipendere da deficit di ferro, emorragie gastroenteriche, emolisi indotta dai corpi di Heinz, emobartonellosi o presenza di anticorpi antieritropoietinici.⁴⁶

Disordini congeniti

I disordini emolitici congeniti sono rari. La carenza di piruvatochinasi eritrocitaria è stata riconosciuta quale causa di anemia emolitica nel gatto Abissino.⁴⁷ In soggetti di razza Abissina e Somala e in un Siamese sono stati segnalati casi di aumentata fragilità osmotica eritrocitaria (un test che misura la tolleranza dei globuli rossi a diversi valori di osmolalità del siero)³ all'origine di crisi emolitiche con macrocitosi, scarsa rigenerazione e splenomegalia.^{48,49} La causa che determina l'aumento della fragilità osmotica in questi gatti non è stata chiarita. La porfiria (che può derivare da vari difetti nella formazione dell'eme da cui derivano deficit di sintesi dell'emoglobina e accumulo dei prodotti intermedi dell'eme stesso) è stata descritta nel gatto domestico a pelo corto e nel siamese. I prodotti intermedi dell'eme provocano la colorazione brunastra dei denti e dell'urina, che mostra una fluorescenza rosata alla luce ultravioletta. Nel gatto siamese, la porfiria provoca gravi forme di anemia rigenerativa.⁴⁸

Malattie emolitiche immunomEDIATE

L'anemia emolitica immunomediata primitiva (positiva al test antiglobulinico diretto o test di Coombs) è rara nel gatto. Nella maggior parte dei casi di anemia positiva al



Figura 12 - Accumulo di eritrociti (formazione di rouleaux) in un gatto con epatopatia infiammatoria. I rouleaux possono apparire grossolanamente come fenomeni di autoagglutinazione; per distinguere i due processi è necessario ricorrere a valutazione microscopica (dopo avere mescolato il sangue con soluzione fisiologica). (Ingrandimento originale X 40)

test di Coombs, l'eziologia è secondaria e comprende infezioni da *H. felis* e da FeLV e reazioni a farmaci (ad es. al propiltiouracile o al metimazolo).^{7,33,37,49} Le trasfusioni di sangue non compatibili comportano l'emolisi immunomediata degli eritrociti del donatore. L'isoeritrolisi neonatale è una forma di emolisi immunomediata che si osserva in alcuni gattini con sangue di tipo A dopo l'ingestione di colostro di una gatta con sangue di tipo B.⁵⁰ La malattia da crioagglutinine, che provoca la necrosi delle estremità a causa dell'agglutinazione immunomediata a freddo dei globuli rossi, è rara, ma è stata segnalata nel gatto in seguito ad avvelenamento da piombo.⁵¹

Nei felini, la sferocitosi non può essere utilizzata come indice di anemia emolitica immunomediata (Fig. 4), mentre riveste valore diagnostico in tale senso l'autoagglutinazione (aggregazione eritrocitaria) che talvolta si osserva in questa specie (Fig. 11). Nei gatti colpiti, si può anche verificare la formazione di *rouleaux* (accumuli di eritrociti impilati come monete) (Fig. 12). Entrambi i fenomeni conferiscono al sangue un aspetto grossolanamente granuloso e devono essere differenziati esaminando al microscopio una gocciolina di sangue mescolata con due gocce di soluzione fisiologica allo 0,9%. L'aggiunta della soluzione fisiologica comporta la disgregazione dei *rouleaux*, mentre non modifica l'autoagglutinazione.

CONCLUSIONE

Nel gatto, l'interpretazione accurata dei dati relativi agli eritrociti dipende dalla valutazione approfondita dei componenti quantitativi e qualitativi dell'eritrone, effettuata tenendo conto delle caratteristiche fisiologiche uniche dei globuli rossi in questa specie animale. L'anemia nel gatto comporta difficoltà diagnostiche notevoli; infatti, alla base spesso vi sono meccanismi multifattoriali che impediscono di definire categorie nettamente distinte. Non è semplice stabilire se la risposta rigenerativa eritrocitaria sia o meno adeguata e la presenza di parassiti endocellulari può essere difficile da documentare.

L'esame emocromocitometrico completo e la conta dei reticolociti sono test poco costosi e non invasivi per valutare l'eritrono felino. Se interpretati in modo appropriato, forniscono informazioni utili, mentre se valutati senza tenere conto delle peculiarità della specie conducono facilmente ad errori interpretativi.

Note sugli autori

I Dr. Eibert e Lewis sono affiliati al Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Kansas State University, Manhattan, Kansas. Il Dr. Lewis è Diplomate of the American College of Veterinary Internal Medicine.

Bibliografia

- Penny RHC, Carlisle CH, Davidson HA, Gray EM: Some observations on the effect of the concentration of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) on the packed cell volume of domesticated animals. *Br Vet J* 126:383-389, 1970.
- Nelson DA, Morris MW: Basic methodology, in Henery JB (ed): *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1984, pp 578-602.
- Jain NC: Erythrocyte physiology and changes in disease, in *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993, pp 133-158.
- Kurata M, Suzuki M, Agar NS: Antioxidant systems and erythrocyte life-span in mammals. *Comp Biochem Physiol* 3:477-487, 1993.
- Weisner MG, Kociba GJ: Platelet concentration and platelet volume distribution in healthy cats. *Blood* 60:295-303, 1982.
- Weiss DJ: Susceptibility of canine, feline and human erythrocytes to oxidant mediated injury. *Vet Clin Pathol* 13:27-31, 1984.
- Wright-George J: What's unique in feline hematology and clinical chemistry. *Proc ACVIM*:34-36, 1994.
- Christopher MM, White JG, Eaton JW: Erythrocyte pathology and mechanisms of Heinz body-mediated hemolysis in cats. *Vet Pathol* 27:299-310, 1990.
- Christopher MM: Relation of endogenous Heinz bodies to disease and anemia in cats: 120 cases (1978-1987). *JAVMA* 194:1089-1095, 1989.
- Cowell RL, Tyler RD: Diagnosis of anemia, in August JR (ed): *Consultations in Feline Internal Medicine*. 1. Philadelphia, WB Saunders Co, 1991, pp 335-342.
- Blue J, Weiss L: Vascular pathways in nonsinusoidal red pulp— An electron microscope study of the cat spleen. *Am J Anat* 161:135-168, 1981.
- Harvey JW: Erythrocyte metabolism, in Kaneko JJ (ed): *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Philadelphia, Academic Press, 1989, pp 185-234.
- Arai T, Washizu T, Sagara T, et al: D-glucose transport and glycolytic enzyme activities in erythrocytes of dogs, pigs, cats, horses, cattle and sheep. *Res Vet Clin Sci* 58:195-196, 1995.
- Arai T, Washizu T, Sako T, et al: D-glucose transport activities in erythrocytes and hepatocytes in dogs, cats, and cattle. *Comp Biochem Physiol* 102A(2):285-287, 1992.
- Hamilton MN, Edelstein SJ: Cat hemoglobin: pH dependent cooperativity of oxygen binding. *Science* 178:1104-1105, 1972.
- Jain NC: Comparative hematology of common domestic animals, in *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1993, pp 19-53.
- Loar AS: Anemia: Diagnosis and treatment, in August JR (ed): *Consultations in Feline Internal Medicine*. 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1994, pp 469-487.
- Alsaker RD, Laber JL, Stevens J, et al: Comparison of polychromasia and reticulocyte counts in assessing erythrocyte regenerative response in the cat. *JAVMA* 170:39-42, 1977.
- Abbott DL, McGrath JP: Evaluation of flow cytometric counting procedure for canine reticulocytes by use of thiazole orange. *Am J Vet Res* 52:723-727, 1991.
- Gilmer PR, Koepka JA: The reticulocyte: An approach to definition. *Am J Clin Pathol* 66:262-267, 1976.
- Fan LC, Dorner JL, Hoffman WE: Reticulocyte response and maturation in experimental acute blood loss anemia in the cat. *JAAHA* 14:219-224, 1978.
- Perkins PC, Grindem CB, Cullins LD: Flow cytometric analysis of punctate and aggregate reticulocyte responses in phlebotomized cats. *Am J Vet Res* 56:1564-1569, 1995.
- Fan LC, Dorner JL, Hoffman WE: Reticulocyte response and maturation in experimental acute blood loss anemia in the cat. *JAAHA* 14:219-224, 1978.
- Cramer DV, Lewis RM: Reticulocyte response in the cat. *JAVMA* 160:61-67, 1972.
- Weiss DJ, McClay CB: Studies on the pathogenesis of the erythrocyte destruction associated with the anemia of inflammatory disease. *Vet Clin Pathol* 17:90-93, 1988.
- Mahaffey EA, Smith JE: Depression anemia in cats. *Feline Pract* 8:19-22, 1978.
- Hoover EA, Mullins JI: Feline leukemia virus infection and diseases. *JAVMA* 199:1287-1297, 1991.
- Weiser MG, Kociba GJ: Erythrocyte abnormalities in feline leukemia virus associated anemia. *Vet Pathol* 20:687-697, 1983.
- Abkowitz JL: Retrovirus-induced feline pure red blood cell aplasia: Pathogenesis and response to suramin. *Blood* 7: 1442-1451, 1991.
- Yamamoto JK, Hansen H: Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. *JAVMA* 194:213-220, 1989.
- Shelton GH, Linenberger ML, Abkowitz JL: Hematologic abnormalities in cats seropositive for feline immunodeficiency virus. *JAVMA* 199:1353-1357, 1991.
- Sparkes AH, Hopper CD, Millard WG, et al: Feline immunodeficiency virus infection: Clinicopathologic findings in 90 naturally occurring cases. *J Vet Intern Med* 7:85-90, 1993.
- Carney HC, England JJ: Feline hemobartonellosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 23:79-90, 1993.
- Steenhouse JL, Taboda J, Dorfman MI: Hemobartonella felis infection with atypical hematological abnormalities. *JAAHA* 31:165-169, 1995.
- Hoskins JD: Canine hemobartonellosis, canine hepatozoonosis, and feline cytauxzoonosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 21:129-140, 1991.
- Hoover JP, Walker DB, Hedges JD: Cytauxzoonosis in cats: Eight cases (1985-1992). *JAVMA* 204:455-460, 1994.
- Couto CG: Hemolytic anemia in the cat. *Proc ACVIM*: 359-360, 1994.
- Andrews JL, Day TK, Day DG: The effects of consecutive day propofol anesthesia on feline red blood cells. *Vet Surg* 24:277-282, 1995.
- Bauer MC, Weiss DJ, Perman V: Hematologic alterations in adult cats fed 6 or 12% propylene glycol. *Am J Vet Res* 53:69-72, 1992.
- Christopher MM: Hematologic complications of diabetes mellitus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 23:625-637, 1995.
- Tvedten HW, Holan K: What is your diagnosis? *Vet Clin Pathol* 25:148-154, 1996.
- Adams LG, Hardy RM, Weiss DJ, Bartges JW: Hypophosphatemia and hemolytic anemia associated with diabetes mellitus and hepatic lipidoses in cats. *J Vet Intern Med* 7: 266-271, 1993.
- Justin RB, Hohenhaus AE: Hypophosphatemia associated with enteral alimentation in cats. *J Vet Intern Med* 9:228-233, 1995.
- Macintire DK: Disorders of potassium, phosphorus, and magnesium in critical illness. *Compend Contin Educ Pract Vet* 19(1):41-48, 1997.
- Christopher MM, Lee SE: Red cell morphologic alterations in cats with hepatic disease. *Vet Clin Pathol* 23:7-12, 1994.
- Polzin DJ, Osborne, CA, James KM: Medical management of chronic renal failure in cats: Current guidelines, in August JR (ed): *Consultations in Feline Internal Medicine*. 3. Philadelphia, WB Saunders Co, 1997, pp 325-336.
- Ford S, Giger U: Inherited erythrocyte pyruvate kinase (PK) deficiency causing hemolytic anemia in an Abyssinian cat. *J Vet Intern Med* 2:123, 1992.
- Giger U, Haskins ME: Inherited disorders, in August JR (ed): *Consultations in Feline Internal Medicine*. 2. Philadelphia, WB Saunders Co, 1994, pp 183-191.
- Giger U, Kohn B: Feline hemolytic anemias. *Proc ACVIM*: 230-231, 1995.
- Gandolfi RC: Feline neonatal isoerythrolysis: A case report. *California Vet* 42:9-10, 1988.
- Godfrey DR, Anderson RM: Cold agglutinin disease in a cat. *J Small Anim Pract* 35:267-270, 1994.