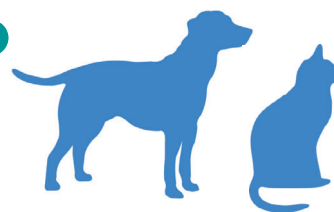


Approccio diagnostico alla trombocitopenia nel cane e nel gatto



La trombocitopenia è la più frequente alterazione piastrinica del cane e del gatto. Che essa sia lieve, moderata o grave, è un dato clinico-patologico col quale possiamo scontrarci sia nella attività clinica di routine, sia quando gestiamo pazienti che richiedono trattamenti intensivi. A fronte di una presentazione clinica estremamente eterogenea, i passaggi necessari per la diagnosi eziologica della trombocitopenia non sono sempre chiari. Una completa indagine anamnestica, comprensiva della storia ematologica del paziente, e un'approfondita valutazione clinica ci forniscono numerosi punti di partenza, evidenziando, o meno, condizioni cliniche sottostanti utili nel comprendere il meccanismo all'origine della trombocitopenia. L'esame emocromocitometrico, sempre comprensivo di valutazione dello striscio ematico, rappresenta il primo step, tuttavia, i parametri piastrinici offrono poco supporto nel differenziare le diverse cause di trombocitopenia e senza altre informazioni spesso non è possibile orientarsi fra le diagnosi differenziali. In corso di malattie del midollo osseo e ridotta produzione piastrinica è frequente la presenza di altre citopenie. Tuttavia, ci sono molte condizioni nelle quali ad essere inibita o arrestata è la sola maturazione piastrinica (malattie infettive, farmaci, tossici). Nelle forme di trombocitopenia da consumo, la concentrazione piastrinica può essere variabile, e generalmente la gravità della sua riduzione si allinea alla gravità di altre alterazioni emostatiche. Trombocitopenie molto gravi, in assenza di manifestazioni cliniche suggestive di specifiche malattie e in presenza di parametri coagulativi normali, ci orientano con maggiore decisione verso forme di trombocitopenia immunomediata, che tuttavia rimangono sempre una diagnosi ad esclusione.



Carola Sofia Selva Coddè
Med Vet



Kateryna Vasylyeva
Med Vet



Chiara Agnoli
Med Vet, PhD

INTRODUZIONE

La trombocitopenia, definita come una riduzione del numero di piastrine circolanti, è un riscontro descritto in circa il 7 % dei cani¹ e 1%-3% dei gatti ospedalizzati.^{2,3} Si tratta di un dato clinico-patologico evidenziabile a seguito di numerose malattie infettive/inflammatorie, neoplastiche o metaboliche¹. Il protocollo diagnostico da in-

In letteratura sono riportate delle razze canine che fisiologicamente presentano una concentrazione piastrinica inferiore rispetto alla popolazione generale.

traprendere per indagare la trombocitopenia è volto a valutare complessivamente l'assetto emostatico del paziente e la presenza di condizioni patologiche sottostanti. Nel caso in cui non si evidenzino alterazioni comples-

Ospedale veterinario universitario, *Alma Mater Studiorum* - Università di Bologna
Via Tolara di sopra 50, 40064 Ozzano dell'Emilia, Bologna

Corresponding author:
carola.selvacodde2@unibo.it

Ricevuto: 10/12/2022 - Accettato: 24/01/2023

se dell'emostasi, o specifiche malattie concomitanti, può essere considerata la diagnosi di trombocitopenia immunomediata primaria (ITP).⁴

Pazienti con trombocitopenie lievi o moderate sono più comunemente asintomatici.

Le piastrine possiedono un ruolo fondamentale nel complesso meccanismo dell'emostasi, sia in quella primaria sia in quella secondaria. In seguito all'esposizione e liberazione di fattori agonisti da parte dell'endotelio danneggiato (es. fattore di von Willebrand, collagene e fibronectina), le piastrine si attivano, si aggregano fra loro, aderiscono alla superficie del vaso e formano il tappo piastrinico che sarà consolidato dalla successiva deposizione di fibrina, prodotto finale della cascata della coagulazione. Inoltre, grazie all'espressione della P-selectina (una proteina di membrana), le piastrine sono in grado di interagire con i globuli bianchi, rappresentando così un ponte tra emostasi e infiammazione.⁵

In caso di trombocitopenia, qualunque trauma vascolare

può esitare in sanguinamenti patologici (petecchie, ecchimosi, sanguinamenti mucosali). Tali sanguinamenti possono, talvolta, mettere a rischio la vita del paziente. È quindi fondamentale nell'approccio alla trombocitopenia procedere metodicamente per comprenderne quanto prima il meccanismo patogenetico sottostante ed impostare, quando possibile, le terapie più appropriate.⁴

PRESENTAZIONE CLINICA DEL PAZIENTE CON TROMBOCITOPENIA

Il segnalamento e la raccolta anamnestica sono fondamentali nell'approccio al paziente trombocitopenico. Cani e gatti di qualsiasi età, sesso e razza possono presentare trombocitopenia. La ITP, tuttavia, è maggiormente riportata in animali giovani-adulti con età mediana di 4-8 anni alla prima presentazione clinica, e predisposizione di razza (es. Cocker Spaniel, Barboncino e Bobtail).⁶ Altre forme di trombocitopenia possono insorgere invece in animali adulti o anziani, secondariamente ad alcune malattie sottostanti o trattamenti farmacologici (Tabelle 1, 2). Inoltre, in letteratura sono riportate delle razze canine che fisiologicamente presentano una concentrazione piastrinica inferiore rispetto alla popolazione generale.^{7,8}

In un'elevata percentuale di pazienti la trombocitopenia rappresenta un reperto laboratoristico inatteso; infatti, cani e gatti affetti da trombocitopenie lievi o moderate possono essere completamente asintomatici. In altri casi la trombocitopenia può essere associata a segni clinici abbastanza distintivi quali petecchie, ecchimosi, presenza di sanguinamenti mucosali (es.: sanguinamento del cavo orale, epistassi, ifema, ematochezia, melena, ematemesi, ematuria) (Figura 1), o a prolungamento del tempo di sanguinamento dopo un trauma o un intervento chirurgico.⁴ Si possono, inoltre, osservare sintomi neurologici nel caso in cui un eventuale sanguinamento coinvolga il sistema nervoso (crisi convulsive, paresi, plegia), o sintomi respiratori (tosse, tachipnea, dispnea o emottisi), quando l'evento emorragico coinvolge l'apparato respiratorio.⁴ Questi segni clinici non sono specifici poiché si possono riscontrare anche in corso di vasculopatie, malattia di von Willebrand e trombocitopatie: condizioni patologiche che possono alterare l'emostasi primaria, ma sono tuttavia poco frequenti.⁴ Ancora, il paziente trombocitopenico può presentare sintomi più aspecifici quali abbattimento e disappetenza, o segni clinici indotti da condizioni patologiche eventualmente scatenanti la trombocitopenia stessa, quali, per esempio, ipertermia, ittero, linfadenomegalia, poliuria/polidipsia, vomito e diarrea, o altri. In alcune occasioni i sanguinamenti possono determinare una grave anemia da perdita ematica accompagnandosi ai sintomi e segni clinici più tipici della sindrome anemica.⁴ Sebbene il rischio di sanguinamento

Tabella 1 - Principali cause di trombocitopenia nel cane che comprendono vari meccanismi patogenetici (distruzione, perdita/consumo, ridotta produzione, sequestro).

| Categoria | Eziologia |
|-----------------------|---|
| Virus | Cimurro, herpes virus, adenovirus, parvovirus |
| Batteri | setticemia, endotossiemia, <i>Anaplasma phagocitophilum</i> , <i>A. platys</i> , <i>Ehrlichia canis</i> , Leptospirosi, salmonellosi, bartonellosi |
| Malattie fungine | istoplasmosi, candidosi |
| Malattie protozoarie | leishmaniosi, babesiosi, hepatozoonosi |
| Malattie parassitarie | filariosi cardio-polmonare, angiostrongilosi |
| Neoplasie | emangiosarcoma, neoplasie linfoproliferative e mieloproliferative, altri tumori solidi |
| Farmaci/tossici | antibiotici (es. sulfamidici, cefalosporine, penicilline, cloramfenicolo); farmaci chemioterapici (es. ciclofosfamide, doxorubicina); antinfiammatori (es. carprofene, fenilbutazone, acetaminofene, ibuprofene, acido acetilsalicilico); altri (fenobarbitale, tiacetarsamide, blu di metilene, benzocaina, morso di vipera) |
| Altre cause | coagulazione intravasale disseminata, epatopatie, nefropatia proteino-disperdente, enteropatia proteino-disperdente, iperestrogenismo |

I meccanismi patogenetici alla base della trombocitopenia sono rappresentati da: ridotta produzione, aumentata distruzione, aumentato consumo, sequestro splenico (nel cane).

non sia strettamente correlato alla conta piastrinica e l'evento emorragico non sia frequente in corso di trombocitopenie lievi o moderate, l'emorragia può essere esacerbata, nei pazienti trombocitopenici, da concomitanti disturbi della coagulazione o alterazioni endoteliali.⁴

MECCANISMI PATOGENETICI

Al fine di comprendere l'origine della trombocitopenia e identificare il corretto protocollo diagnostico, è fondamentale conoscerne i meccanismi patogenetici.

I processi patogenetici riconosciuti alla base della trombocitopenia sono i seguenti:

- **anomala/ridotta produzione delle piastrine da parte del midollo osseo:**

le piastrine originano dai megacariociti maturi presenti a livello midollare. Alcune razze canine possono presentare una macrotrombocitopenia ereditaria. Questa condizione è riconosciuta come conseguenza di mutazioni del gene che codifica per la beta1-tubulina nei megacariociti; tale anomalia è caratterizzata da ridotta concentrazione piastrinica e da un volume piastrinico medio (MPV) aumentato.⁷ Nei portatori omozigoti la concentrazione piastrinica varia da 30,000/mm³ a 100,000/mm³. Nei Cavalier King Charles spaniel (CKCS) è stata identificata una comune mutazione di questo gene in circa 30-50% dei soggetti analizzati.⁷ Le mutazioni a carico dello stesso gene sono state occasionalmente riscontrate anche in altre razze (Norfolk e Cairn Terrier, Labrador Retriever, Shih tzu, Chihuahua, Maltese, Jack Russell Terrier, Boxer, Cocker Spaniel, Bichon Frisé, Akita Inu).⁸ Anche nei Greyhound e altri levrieri è riportata una lieve/moderata trombocitopenia con concentrazione piastrinica compresa fra i limiti minori dell'intervallo di riferimento e le 100,000 piastrine/mm³.⁹ La riduzione della concentrazione piastrinica in tutte queste razze è parafisiologica e non si associa di per sé a sanguinamenti patologici.⁴

I processi patologici che invece coinvolgono il midollo osseo (quali mielofiosi, mielonecrosi, mielofibrosi) possono determinare un danno selettivo ai megacariociti, o più spesso colpire anche i precursori delle altre linee cellulari, esitando in citopenie multiple.¹⁰ Talvolta, si osserva una ridotta attività midollare in

Tabella 2 - Principali cause di trombocitopenia nel gatto che comprendono vari meccanismi patogenetici (distruzione, perdita/consumo, ridotta produzione, sequestro).

| Categoria | Eziologia |
|-----------------------|---|
| Virus | FeLV, FIV, Peritonite infettiva feline (FIP), parvovirus |
| Batteri | setticemia, endotossiemia, <i>Anaplasma phagocitophilum</i> , <i>Mycoplasma spp</i> , salmonellosi, bartonellosi |
| Malattie fungine | istoplasmosi |
| Malattie protozoarie | toxoplasmosi, cytauxzoonosi |
| Malattie parassitarie | filariosi cardio-polmonare, angiostrongilosi |
| Neoplasie | neoplasie linfoproliferative e mieloproliferative, altri tumori solidi |
| Farmaci/tossici | antibiotici (es. sulfamidici, cefalosporine, penicilline, cloramfenicolo); farmaci chemioterapici (es. ciclofosfamide, doxorubicina); antinfiammatori (es. carprofene, fenilbutazone, acetaminofene, ibuprofene, acido acetilsalicilico); altri (fenobarbitale, tiacetarsamide, blu di metilene, benzocaina, morso di vipera) |
| Altre cause | Coagulazione intravasale disseminata, epatopatie, cardiopatie |

seguito alla somministrazione di alcuni farmaci, all'esposizione a tossici, alla presenza di infezioni (Tabella 1, 2) o malattie del sistema immunitario.⁴

- **Perdita e consumo piastrinico:** le emorragie esterne si associano a perdita e consumo piastrinico, con conseguente riduzione della loro concentrazione e alterazione anche di altri parametri emostatici (fattori della coagulazione, antitrombina, eccetera). In questi casi, la gravità della trombocitopenia varia in relazione all'entità dell'evento emorragico. Generalmente si tratta di una condizione autolimitante che si risolve con l'eventuale risoluzione dell'emorragia.¹⁰

Un accelerato consumo piastrinico, e la conseguente trombocitopenia, invece, si verificano in numerose condizioni patologiche che comportano un danno endoteliale diretto e/o un'attivazione massiva della coagulazione mediante molteplici meccanismi patogenetici. I processi infiammatori possono indurre l'attivazione della coagulazione attraverso la produzio-

La distruzione piastrinica può avvenire sia per cause immunomEDIATE, sia per cause non immunomEDIATE.

ne di citochine proinfiammatorie coinvolte anche nell'attivazione e aggregazione piastrinica e nell'induzione di danno endoteliale.¹¹ Si assiste a un consumo piastrinico anche in corso di coagulazione intravasale disseminata (CID), un'attivazione sistemica e incontrollata del normale processo emostatico, che si può sviluppare secondariamente a particolari condizioni patologiche quali ad esempio sepsi, colpo di calore o neoplasie.^{12,13}

- **Aumentata distruzione:** l'aumentata distruzione delle piastrine può avvenire per cause sia immunomediata, sia non immunomediata:

- **distruzione non immunomediata:** le piastrine possono andare incontro a una prematura e aumentata distruzione in presenza di vari disturbi che causano lisi cellulare o fagocitosi, indipendentemente dall'attivazione anticorpale o del complemento. Esempi di meccanismi di distruzione non immunomediata includono il danno piastrinico diretto con conseguente lisi o prematura rimozione delle piastrine (colpo di calore) e la fagocitosi mediata da citochine del sistema reticoloendoteliale durante gravi condizioni infiammatorie, sindrome emofagocitica ed eventi neoplastici.¹⁴ È da tempo noto, come emostasi e infiam-



Figura 1 - Sanguinamenti patologici in corso di trombocitopenia; petecchie a livello di regione addominale in cane maltese maschio castrato di 4 anni (in alto a sinistra); sanguinamento buccale in cane meticcio di 8 anni (in alto a destra); gatto europeo di 1 anno con ecchimosi a livello di regione sopraorbitale sinistra (in basso a sinistra); cane Pinscher femmina intera di 3 anni con ifema bilaterale (in basso a destra).

mazione siano due ambiti estremamente correlati e le piastrine ne rappresentano a tutti gli effetti il *trait d'union*. Le piastrine attivate esprimono P-selectina, proteina di membrana che media la loro adesione ai monociti e la loro conseguente fagocitosi; il legame fra piastrine e leucociti tramite la P-selectina ha anche un importante ruolo nell'ulteriore attivazione dei leucociti in corso di infiammazione e sepsi.⁵ La sindrome emofagocitica, invece, è caratterizzata da una proliferazione non neoplastica di linfociti e macrofagi, associata a una iperproduzione di citochine. Nei pazienti affetti da questa sindrome, rara ma probabilmente sotto-diagnosticata, si osservano spesso citopenie periferiche, epato- e splenomegalia, iperferritinemia, ipoalbuminemia, ipofibrinogenemia, oltre ad aumento dell'attività degli enzimi epatici.¹⁴ Anche la somministrazione di alcuni farmaci può causare l'espressione di segnali proapoptotici che stimolano la fagocitosi delle piastrine da parte dei monociti. I meccanismi di apoptosi piastrinica non sono ancora ben noti in medicina veterinaria, ma il danno ossidativo provocato da alcuni farmaci (acetaminofene, acido acetilsalicilico, benzocaina, blu di metilene) sembra poter attivare questo processo.¹⁶ In corso di neoplasie la trombocitopenia si manifesta nel 10-36% dei pazienti. I meccanismi patogenetici riconosciuti sono numerosi; per quanto riguarda la distruzione non immunomediata, è stata osservata un'attività fagocitica anomala da parte di cellule neoplastiche, in particolare a carico di macrofagi/istiociti neo-

plastici nel sarcoma istiocitico emofagocitico. La presenza di trombocitopenia è infatti riportata fino all'88% dei pazienti colpiti da questa neoplasia.¹⁴

- **distruzione immunomediata:** l'ITP (affrontata in maggior dettaglio nella successiva review), è una condizione patologica nella quale erroneamente vengono prodotti anticorpi che si legano alla superficie delle piastrine e ne mediano la fagocitosi da parte dei macrofagi.¹⁷ In corso di ITP, la risposta immunitaria può anche essere rivolta verso i precursori piastrinici, l'esito può essere quello di un arresto maturativo dei megacariociti (presenza di precursori che non riescono a maturare in piastrine funzionali), o di una loro completa assenza (trombocitopenia amegacariocitica).^{17,18} Infine l'ITP può essere classificata in ITP primaria e secondaria a seconda della presenza di un potenziale *trigger* (causa scatenante).¹⁷

- **alterata distribuzione piastrinica:** nel cane, in condizioni fisiologiche, il 30-40% delle piastrine circolanti si trova localizzato all'interno della milza, mentre in corso di ipersplenismo (una sindrome caratterizzata da splenomegalia, citopenie e iperplasia midollare), nella milza si possono localizzare fino al 90% delle piastrine.¹⁰ Questa condizione è poco descritta in medicina veterinaria e non è riportata nel gatto, tuttavia, deve essere inserita tra le diagnosi differenziali in presenza di grave splenomegalia nel cane. Il protocollo diagnostico in corso di ipersplenismo è orientato alla ricerca ed esclusione di tutte le diagnosi differenziali di splenomegalia, fra queste ri-

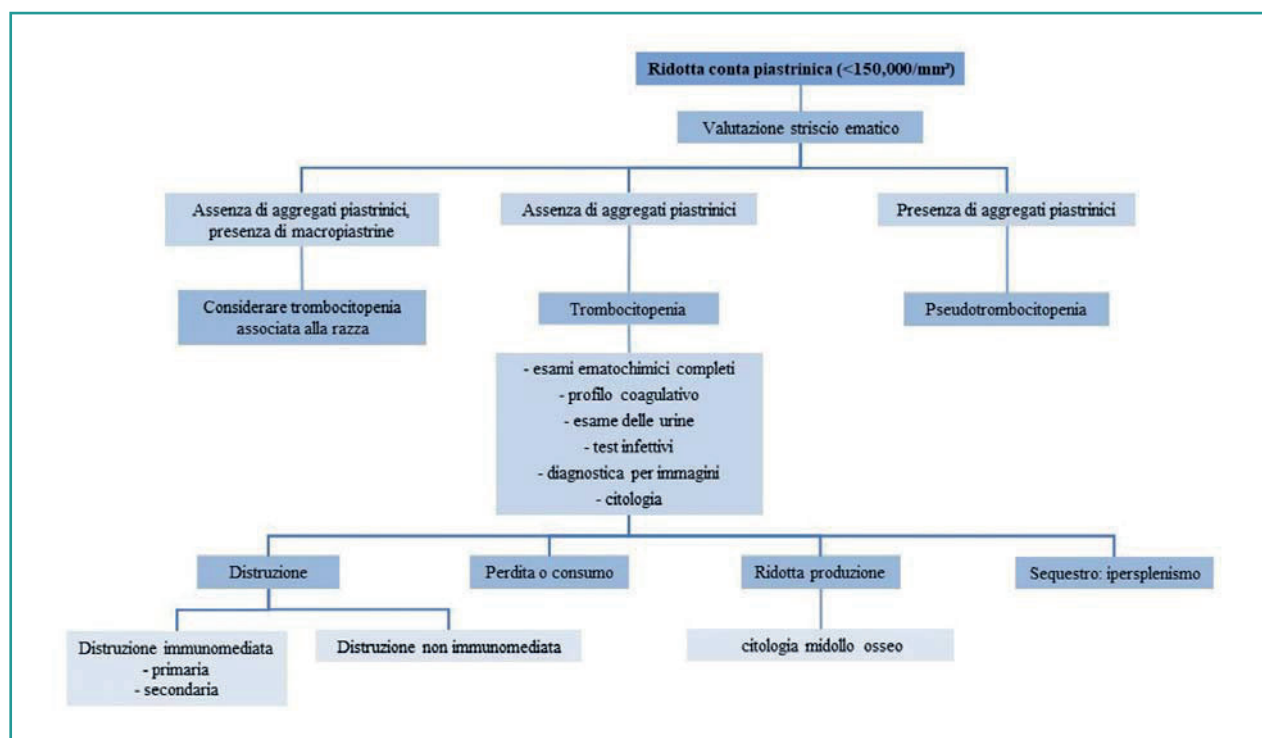


Figura 2 - Algoritmo per l'approccio alla trombocitopenia.

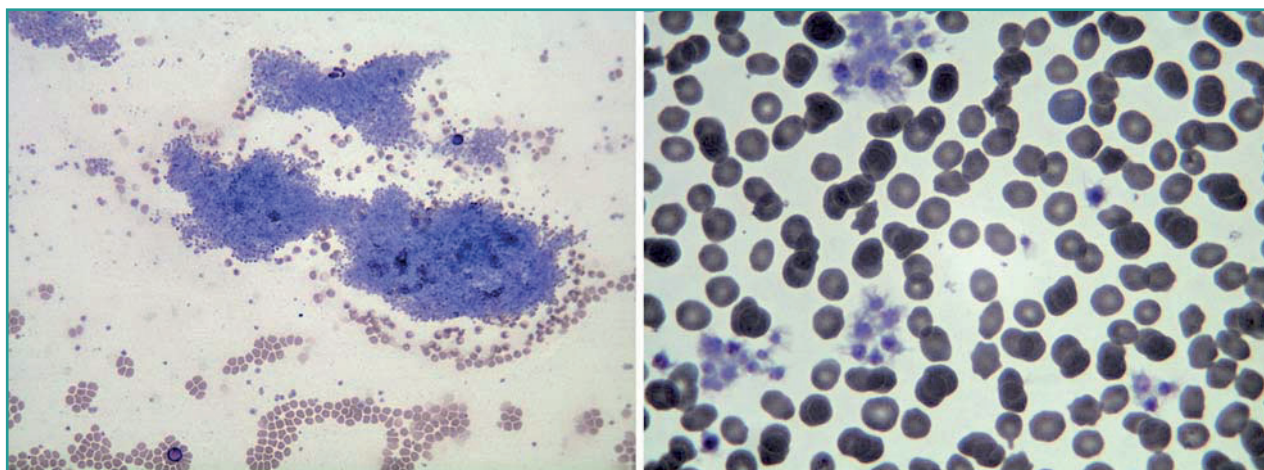


Figura 3 - A sinistra striscio ematico di cane con macroaggregati piastrinici (May Grünwald-Wright-Giemsa, 100X); a destra striscio ematico di gatto con microaggregati piastrinici (May Grünwald-Wright-Giemsa, 1000X).

cordiamo agenti infettivi, neoplasie e congestione secondaria a ipertensione portale o insufficienza cardiaca.^{4,10}

Interferenze o artefatti che determinano una conta piastrinica falsamente ridotta possono verificarsi anche quando si utilizzano analizzatori ematologici performanti.

APPROCCIO DIAGNOSTICO

Lo scopo del protocollo diagnostico in un paziente trombocitopenico è quello di individuare la causa della trombocitopenia, procedendo con metodo per raccogliere e verificare i dati clinici e clinico-patologici utili al raggiungimento della diagnosi (Figura 2, algoritmo diagnostico).⁴

In presenza di un esame emocromocitometrico che depone per una ridotta stima piastrinica, la prima condizione che è importante escludere è la pseudotrombocitopenia. Con questo termine ci si riferisce ad una “falsa” trombocitopenia, causata da un’incompleta conta delle piastrine nel campione analizzato.¹⁰ Tale artefatto può verificarsi in presenza di aggregati piastrinici che si creano quando il sangue prelevato entra in contatto con l’anticoagulante presente in provetta, in assenza di un’adeguata miscelazione. In particolare, questo accade se l’anticoagulante utilizzato è l’acido etilendiamminotetracetico (EDTA), o se la quantità di sangue raccolto è eccessiva rispetto all’anticoagulante presente in provetta.^{10,19} Quando nel campione ematico si riscontra la presenza di aggregati piastrinici (Figura 3), la valutazione della concentrazione piastrinica ottenuta attraverso l’analizzatore risulta sempre inaccurata e falsamente ridotta. La pseudotrombocitopenia si rileva più frequentemente nei cam-

pioni ematici del gatto,^{8,19} per cui, per escludere la reale presenza di trombocitopenia, è necessario ripetere l’esame emocromocitometrico e valutare sempre con attenzione lo striscio ematico. Nei casi in cui, anche a seguito della ripetizione dell’esame emocromocitometrico, rimanga il sospetto di una pseudotrombocitopenia, alcuni autori consigliano di utilizzare provette contenenti citrato di potassio, poiché questo anticoagulante sembrerebbe inibire l’attivazione piastrinica in vitro.¹⁰

In corso di macrotrombocitopenia parafisiologica del cane (es.: macrotrombocitopenia ereditaria del CKCS), nel sangue sono presenti piastrine in numero ridotto e dimensioni notevolmente aumentate. La concentrazione piastrinica di questi pazienti può essere inoltre ulteriormente e falsamente ridotta poiché alcuni analizzatori automatici (generalmente strumenti ad impedenza) non sono in grado di riconoscere queste cellule come piastrine e pertanto non le contano.¹⁹ La pseudotrombocitopenia non si associa a sanguinamenti patologici, ed è molto importante riconoscere questo artefatto per evitare procedure diagnostiche e terapeutiche non necessarie. Una volta esclusi artefatti e condizioni parafisiologiche ereditarie, il medico veterinario ha a disposizione diverse modalità per contestualizzare la trombocitopenia. A seguire una sintesi degli approfondimenti più indicati da effettuare e una rassegna delle possibili diagnosi differenziali di trombocitopenia nel cane e nel gatto.

- **Esame emocromocitometrico:** l’esame emocromocitometrico consiste nella valutazione, mediante analizzatori ematologici automatici, di numerosità e indici cellulari specifici per eritrociti, leucociti e piastrine, ed è un ottimo strumento diagnostico e di monitoraggio. Come anticipato, anche con i migliori analizzatori possono verificarsi delle interferenze o artefatti in grado di determinare una errata conta pia-

strinica (ad esempio questo accade in presenza di aggregati piastrinici, di piastrine molto grandi, di eritrociti molto piccoli o di frammenti eritrocitari, o di lipemia del campione). Per questi motivi è sempre opportuno associare alla conta automatizzata l'esecuzione e la valutazione microscopica dello striscio ematico. Per l'esecuzione di uno striscio ematico, il campione di sangue, raccolto in EDTA, deve essere strisciato su un vetrino e colorato tramite colorazioni di Romanowsky (es.: Wright o Wright-Giemsa); un'adeguata valutazione, seppure di qualità inferiore, può essere effettuata a seguito di colorazioni rapide come il Diff-Quick.²⁰ Le piastrine devono essere valutate con obiettivo ad alto ingrandimento, osservando almeno dieci campi.

Nel protocollo diagnostico della trombocitopenia è importante effettuare una valutazione approfondita dell'assetto emostatico complessivo.

Una stima piastrinica adeguata corrisponde alla presenza di 10-30 piastrine per campo. Oltre a valutare la presenza di aggregati piastrinici ai bordi dello striscio ematico, è importante osservare la forma e la dimensione piastrinica, e verificare l'assenza di eventuali inclusioni citoplasmatiche all'interno delle piastrine (es.: morule di *Ehrlichia*/*Anaplasma spp.*).²¹ In un animale trombocitopenico, la presenza di macropiastrine suggerisce una spiccata trombopoiesi oppure un disturbo congenito come la macrotrombocitemia (osservata ad esempio nei CKCS), mentre se tali piastrine si osservano in un animale non trombocitopenico, esse possono indicare una recente ripresa da un episodio di trombocitopenia.²¹ Più raramente, la presenza di macropiastrine è associata a malattie mielodisplastiche, mieloproliferative o a mielofibrosi. Quando si riscontrano numerose macropiastrine, può risultare utile effettuare la conta manuale delle piastrine al microscopio o tramite emocitometro al fine di ottenere una valutazione più accurata.¹⁴ In corso di trombocitopenia immunomediata o di malattie infiammatorie croniche è stata tuttavia osservata anche la presenza di un aumentato numero di piastrine di ridotte dimensioni.²¹ Insieme alla dimensione delle piastrine (MPV), gli analizzatori ematologici più all'avanguardia ci forniscono anche altre informazioni sulla morfologia piastrinica, tramite gli indici piastrinici. Tra questi, importante è citare il piastrinocrito (PCT) che esprime la percentuale del volume di sangue rappresentata dalle piastrine, e viene calcolato a partire dalla conta piastrinica e dal MPV. Il valore di PCT rappresenta meglio, rispetto alla sola conta, quella che è la massa piastrinica circolante, che

esprime il potenziale rigenerativo ed emostatico delle piastrine.¹⁹ I CKCS e i Levrieri spesso hanno una conta piastrinica fisiologicamente ridotta, in presenza di un PCT nella norma in quanto, come visto in precedenza, presentano piastrine più grandi.²²

- **Valutazione dell'emostasi:** una volta confermata la presenza di una reale trombocitopenia, è importante indagare l'assetto emostatico del paziente per individuare o escludere una forma di trombocitopenia secondaria a perdita o a consumo.¹⁷ Fra i test che abbiamo a disposizione in quest'ambito ricordiamo: la valutazione dei tempi della coagulazione, la determinazione della concentrazione di fibrinogeno e di antitrombina, la misurazione dei prodotti di degradazione della fibrina e dei d-dimeri. Sia in caso di perdita (emorragia), sia di consumo (ad esempio a seguito di malattie quali anemia emolitica immunomediata nel cane, cardiopatia del gatto, sepsi, eventi neoplastici), oltre alla trombocitopenia, potremmo evidenziare infatti anche alterazioni di questi parametri, che seppur spesso poco sensibili o difficilmente interpretabili, rappresentano le poche modalità a nostra disposizione per comprendere le complesse dinamiche dell'emostasi. Per esempio, un aumento del tempo di tromboplastina attivata (aPTT) e del tempo di protrombina (PT) indicano una condizione ipocoagulante legata a un consumo o una carenza dei fattori della coagulazione; in corso di ipercoagulabilità si potrebbe osservare una riduzione del fibrinogeno (progressivamente trasformato in fibrina) e una riduzione/consumo dell'antitrombina.^{23,24} La tromboelastografia (TEG), di cui si parla molto nell'ultimo decennio, è un altro test utilizzabile per valutare complessivamente l'assetto emostatico di un paziente e ha maggiore sensibilità nell'individuare precocemente condizioni ipercoagulanti alla base di trombocitopenie da consumo.²⁵ Il costo elevato di questo test diagnostico e la necessità di analizzare il campione entro poche ore dal prelievo limitano l'utilizzo della TEG nella pratica clinica.
- **Esame biochimico sierico, analisi delle urine ed esame coprologico:** l'esecuzione di questi esami è fondamentale per indagare ed eventualmente escludere la presenza di malattie associate o favorenti la trombocitopenia. Per esempio, il riscontro di iperproteinemia e in particolare ipergammaglobulinemia può suggerire la presenza di malattie infettive quali leishmaniosi o ehrlichiosi nel cane e peritonite infettiva felina (FIP) o infezioni retrovirali nel gatto, malattie che con diversi meccanismi patogenetici, possono condurre a trombocitopenia. Alterazioni degli enzimi epatici o dei marker di funzionalità epatica (bilirubina, colesterolo, albumina, urea), inoltre, posso-

no indicare una condizione di danno o insufficienza epatica. Nelle gravi epatopatie la riduzione della produzione di trombopoietina (principale molecola che stimola la produzione piastrinica) o dei fattori della coagulazione, possono favorire la trombocitopenia attraverso ridotta produzione (nel primo caso), o consumo (nel secondo caso). L'angiostrongilosi è una malattia che si accompagna spesso a condizioni di ipocoagulabilità e iperfibrinolisi; per la diagnosi, si possono utilizzare test rapidi antigenici su siero o effettuare un esame coprologico con la tecnica di Baermann, che rimane ad oggi il *gold standard*.²⁶ La nefropatia proteino-disperdente (glomerulopatia) è caratterizzata da grave proteinuria (rapporto proteine/creatinina urinaria >2), ipoalbuminemia e ipercolesterolemia e si associa spesso a trombofilia, e consumo piastrinico.

- **Test per le malattie infettive:** è sempre consigliato definire gli agenti eziologici da ricercare sulla base della zona di provenienza del paziente.¹⁷ Nel cane gli agenti eziologici più frequentemente riportati in corso di trombocitopenia sono *Anaplasma spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Babesia spp.*, *Hepatozoon canis* e *Leishmania infantum*.^{17,27} Più raramente la trombocitopenia può essere indotta da infezioni batteriche quali ad esempio leptospirosi, salmonellosi, borreliosi, bartonellosi. La riduzione della conta piastrinica, associata o meno ad alterazioni dell'emostasi secondaria, infine è riportata in corso di filariosi cardiopolmonare e angiostrongilosi.^{14,17,27}

La trombocitopenia nel cane e nel gatto è correlata a numerose diagnosi differenziali e solo una valutazione d'insieme può favorire il processo decisionale del medico veterinario.

Nei gatti, la trombocitopenia si può associare a malattie virali quali FIP, immunodeficienza (FIV) e leucemia felina (FeLV) o parvovirosi (FPV), malattie batteriche (fra le quali consideriamo in particolare la micoplasmosi), protozoarie o micotiche (Tabella 2).

Le linee guida per la diagnosi delle malattie batteriche e protozoarie sopracitate sono numerose e variano a seconda del patogeno oggetto dell'analisi. In generale si raccomanda l'utilizzo di test sierologici quantitativi, quali l'immunofluorescenza indiretta (IFI o IFAT) e i test immunoenzimatici (ELISA) e di indagini molecolari (PCR). La visualizzazione diretta del patogeno mediante lettura dello striscio ematico, citologia linfonodale o midollare, o analisi fecale può essere una valida alternativa; tuttavia, la sensibilità e la specificità di questa mo-

dalità dipende dal tipo di patogeno ricercato e dall'esperienza dell'operatore. Ad esempio, è raro trovare morule di *Ehrlichia spp.* o *Anaplasma spp.* in cani infetti anche se sintomatici, poiché in molti di questi animali il numero di leucociti infetti è esiguo; mentre la ricerca di microrganismi riferibili a *Leishmania spp.* o *Babesia spp.* su una matrice adeguata ha una maggiore sensibilità.

- **Diagnostica per immagini:** l'ecografia e/o la radiologia sono mezzi diagnostici fondamentali per indagare e identificare la presenza di processi patologici associati alla trombocitopenia. Mediante queste indagini si possono evidenziare organomegalia (es.: splenomegalia in corso di linfoma, ipersplenismo, o emangiosarcoma), presenza di ascessi, pancreatite acuta, epatopatie, metastasi o fenomeni trombotici (venosi o arteriosi) che provocano frequentemente una riduzione della conta piastrinica.

Il rilievo di versamenti cavitari può indicare la presenza di diatesi emorragica, o può essere associato alla malattia sottostante alla trombocitopenia. L'analisi chimico-fisica e citologica del liquido può fornire utili informazioni diagnostiche, così come il campionamento citologico dei parenchimi degli organi coinvolti. L'esame citologico, diversamente dal prelievo biotico, è poco invasivo, dai costi contenuti e consente di ottenere risultati diagnostici in tempi brevi. La citologia ci permette di conoscere la natura delle alterazioni osservate clinicamente o tramite la diagnostica per immagini e spesso rappresenta un importante *step* diagnostico. Non esistono vere e proprie linee guida sull'esecuzione dei campionamenti citologici in corso di trombocitopenia. Il prelievo citologico è generalmente una procedura sicura, ma in un paziente trombocitopenico il rischio/beneficio del campionamento deve essere attentamente ponderato. Ad esempio, quando vi è un forte sospetto di un processo neoplastico, il beneficio di raggiungere una diagnosi eziologica potrebbe essere superiore al rischio di complicazioni.²⁸

- **Valutazione del midollo osseo:** la valutazione del sangue midollare, associata all'esame emocromocitometrico, è molto importante. In particolare, la valutazione citologica del sangue midollare è importante per quantificare gli elementi della linea megacariocitica, per evidenziare eventuali anomalie maturative (displasie della linea megacariocitica) e per escludere quadri infiltrativi neoplastici.²⁹ L'esecuzione di una biopsia midollare e la sua valutazione istologica invece consente di diagnosticare stati patologici quali mielofibrosi, infiammazione, osteolisi, mielonecrosi, ipoplasia e aplasia midolla-

re.³⁰ Ad oggi, la tendenza è quella di non effettuare di routine il prelievo di sangue midollare nel corso del protocollo diagnostico di un paziente trombocitopenico, soprattutto quando si sospetta una forma di ITP. L'analisi citologica e/o biotica del midollo osseo è indicata quando si sospetta una sottostante malattia midollare, e quindi una ridotta produzione piastrinica: presenza di altre citopenie, scarsa risposta alla terapia, segni di malattie tumorali.¹⁷

Il normale sviluppo, e la successiva maturazione, della linea megacariocitica nel midollo osseo inizia con i megacarioblasti per terminare con i megacariociti maturi, cellule giganti di 50-200 µm di diametro, multilobulate e con nuclei multipli e fusati, un citoplasma abbondante e ricco di granuli color magenta.^{31,32} La valutazione microscopica della numerosità dei megacariociti si effettua a piccolo ingrandimento previo striscio di sangue midollare su un vetrino e colorazione tipo Romanowsky o Diff-Quick.^{31,32} Secondo alcuni autori la cellularità risulta adeguata quando si contano da 3 a 7 megacariociti per spicola midollare,^{31,33,34} mentre secondo altri³⁰ è considerata adeguata la presenza di 5-10 megacariociti. È importante, tuttavia, ricordare che i megacariociti non sono distribuiti omogeneamente all'interno del midollo osseo e per questa ragione non è possibile definire delle linee guida definitive per stimare il numero di megacariociti realmente presenti nel campione.³¹ In base ai due diversi valori di riferimento riportati in precedenza, si possono riscontrare condizioni di ipoplasia e iperplasia megacariocitica. L'ipoplasia della linea megacariocitica può essere concomitante all'ipoplasia delle altre linee cellulari in corso di aplasia o ipoplasia generalizzata del midollo osseo, mielofibrosi e mielonecrosi. Un'ipoplasia selettiva dei megacariociti può essere associata a somministrazione di farmaci, ad agenti infetti, o a una distruzione immunomediata a carico dei precursori piastrinici, definita "trombocitopenia amegacariocitica".^{32,35}

L'iperplasia megacariocitica coinvolge soprattutto cellule mature e in corso di trombocitopenia riflette una risposta rigenerativa.³²

La displasia megacariocitica, invece, consiste nella presenza di anomalie nella maturazione e/o morfologia della linea megacariocitica (Figura 4).²⁹ Displasia megacariocitica può essere osservata in presenza di importante iperplasia, neoplasie, malattie ereditarie come la macrotrombocitopenia del CKCS, o malattie mielodisplastiche primarie e leucemie.^{32,35}

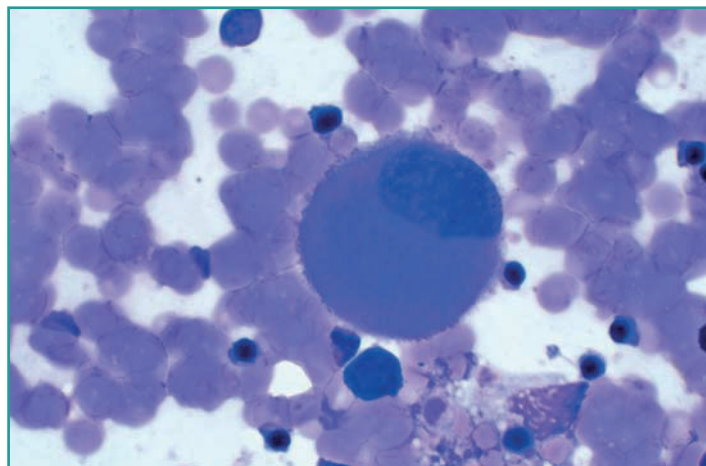


Figura 4 - preparato citologico di sangue midollare di cane; si osserva un megacariocita con segni di displasia (asincronia maturativa, nuclei ipolobulari) (May Grünwald-Wright-Giemsa, 1000X).

- **Anticorpi antiplastre:** nell'ambito delle malattie immunomEDIATE, la ricerca diretta o indiretta degli anticorpi coinvolti rappresenta un potenziale punto fermo. L'utilità della determinazione, tramite metodiche citofluorimetriche, dei cosiddetti anticorpi antiplastre (*platelet surface-associated immunoglobulins*; PSAIg) è tuttavia ad oggi molto dibattuta in medicina veterinaria. Complessivamente questo test presenta una moderata/scarsa specificità.²⁷ La presenza di PSAIg, infatti, è stata rilevata in corso di numerose malattie infiammatorie-infettive, infiammatorie-non infettive, immunomEDIATE o neoplastiche. L'esecuzione di questo test diagnostico deve essere quindi attentamente valutata sulla base del sospetto diagnostico prevalente. Ad oggi una possibile applicazione della determinazione di PSAIg è rivolta alla diagnosi di recidiva di ITP. Una maggiore trattazione di questa metodica e dei suoi limiti segue nella review dedicata alla trombocitopenia immunomediata.

CONCLUSIONE

La trombocitopenia nel cane e nel gatto è associata a condizioni cliniche estremamente eterogenee e riconosce una patogenesi variabile e talvolta multifattoriale. Una corretta valutazione dell'anamnesi e della presentazione clinica del nostro paziente, e per iniziare delle alterazioni clinico-patologiche presenti, è un primo fondamentale passaggio che ci aiuta ad orientarci tra le numerose diagnosi differenziali, e a scegliere gli approfondimenti e l'approccio terapeutico più adeguati al singolo caso.

PUNTI CHIAVE

- A fronte di un sospetto clinico di alterazione emostatica primaria, l'esecuzione di un esame emocromocitometrico e la valutazione dello striscio ematico sono passaggi fondamentali per confermare la trombocitopenia e orientare il protocollo diagnostico successivo.
- Trombocitopenie congenite (greyhound, CKCS, Cairn terrier, e altre razze), possono essere confuse con trombocitopenie acquisite; il loro mancato riconoscimento può condurre a trattamenti non necessari. L'attenta raccolta anamnestica e la valutazione della storia ematologica del paziente possono migliorare la comprensione del dato.
- La valutazione morfologica dello striscio ematico è fondamentale per escludere condizioni di pseudotrombocitopenia (conta piastrinica erroneamente sottostimata a causa della presenza di aggregati piastrinici nel campione ematico prelevato).
- L'esclusione di una trombocitopenia da consumo è un passaggio complesso e i test che possiamo utilizzare per comprendere l'assetto emostatico di un paziente sono limitati. La contestuale valutazione clinica e l'eventuale presenza di malattie associabili a condizioni iper o ipocoagulanti devono sempre essere tenute in considerazione.

Diagnostic approach to canine and feline thrombocytopenia

Summary

Thrombocytopenia is the most common abnormality of platelets in dogs and cats. We can deal with thrombocytopenia, whether mild, moderate, or severe, both in routine clinical activity and in intensive care unit. Due to the variability of its clinical presentation, the necessary steps for the etiological diagnosis of thrombocytopenia are not always clear. A complete anamnestic investigation, including the patient's hematological history, and an in-depth clinical evaluation provide us with numerous starting points. A complete blood count (CBC), always combined with the evaluation of the blood stream, is the first step; however, platelet parameters alone fail to support the clinicians through the differential diagnosis. During bone marrow diseases and reduced platelet production, thrombocytopenia comes often with other cytopenias; however, there are some conditions where we observe an inhibition only in platelet maturation (infectious diseases, drugs, toxic substances). When thrombocytopenia is caused by a consumption, the decrease in platelet count can be variable and other hemostatic alterations can often be observed. Severe thrombocytopenia, without other clinical and clinical-pathological abnormalities indicating specific diseases, and with a normal coagulation panel, suggests the presence of an immune mediated thrombocytopenia; however, this remains a diagnosis of exclusion.

BIBLIOGRAFIA

1. Botsch V, Küchenhoff H, Hartmann K *et al.* Retrospective study of 871 dogs with thrombocytopenia. *Veterinary Record* 164:647-651, 2009.
2. Jordan HL, Grindem CB, Breitschwerdt EB. Thrombocytopenia in cats: a retrospective study of 41 cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 7:261-265, 1993.
3. Norman EJ, Barron RCJ, Nash AS *et al.* Prevalence of low automated platelet counts in cats: comparison with prevalence of thrombocytopenia based on blood smear estimation. *Veterinary Clinical Pathology* 30:137-140, 2001.
4. Brooks MB. Thrombocytopenia, thrombocytosis. In: Ettinger SJ, Feldman EC: *Textbook of veterinary internal medicine*, 7th edition. St Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2017, pp. 757-764.
5. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research* 149:38-44, 2017.
6. LeVine DN, Brooks MB. Immune thrombocytopenia. In: Brooks MB, Harr KE, Seelig DM *et al.*: *Schalm's veterinary hematology*, 7th edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2022, pp. 3214-3365.
7. Davis B, Toivio-Kinnucan M, Schuller S *et al.* Mutation in $\beta 1$ -Tubulin correlates with macrothrombocytopenia in Cavalier King Charles Spaniels. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 22:540-545, 2008.
8. Stokol T. Disorders of haemostasis. In: Villiers E, Ristic J: *BSAVA manual of canine and feline clinical pathology*, 3rd edition. Quedgeley, Gloucester: British Small Animal Association, 2016, pp 94-122.
9. Zaldivar-López S, Marín LM, Iazbik MC *et al.* Clinical pathology of Greyhounds and other sighthounds. *Veterinary Clinical Pathology* 40:414-425, 2011.
10. Wasserkrug-Naor A. Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. In: Brooks MB, Harr KE, Seelig DM *et al.*: *Schalm's veterinary hematology*, 7th edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2022, pp. 3199-3248.
11. O'Brien M. The reciprocal relationship between inflammation and coagulation. *Topics in Companion Animal Medicine* 27:46-52, 2012.
12. Stokol T. Laboratory diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs and cats: the past, the present, and the future. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 42:189-202, 2012.
13. Ralph AG, Brainard BM. Update on disseminated intravascular coagulation: when to consider it, when to expect it, when to treat it. *Topics in Companion Animal Medicine* 27:65-72, 2012.
14. Allen J. Nonimmune-mediated thrombocytopenia. In: Brooks MB, Harr KE, Seelig DM *et al.*: *Schalm's veterinary hematology*, 7th edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2022, pp. 3366-3426.
15. Levi M, van der Poll T. Coagulation and sepsis. *Thrombosis Research*

- 149:38-44, 2017.
16. De Silva E, Kim H. Drug-induced thrombocytopenia: focus on platelet apoptosis. *Chemico-Biological Interactions* 284:1-11, 2018.
 17. LeVine DN, Brooks MB. Immune thrombocytopenia (ITP): pathophysiology update and diagnostic dilemmas. *Veterinary Clinical Pathology* 48:17-28, 2019.
 18. Cooper SA, Huang AA, Raskin RE et al. Clinical data, clinicopathologic findings and outcome in dogs with amegakaryocytic thrombocytopenia and primary immune-mediated thrombocytopenia. *Journal of Small Animal Practice* 57:142-147, 2016.
 19. Stockham SL, Scott MA. Platelets. In: Stockham SL, Scott MA: *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2nd edition. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 378-442.
 20. Harvey JW. Hematology Procedures. In: Harvey JW: *Veterinary hematology*. St Louis, Missouri: Elsevier, 2012, pp. 11-32.
 21. Zabolotzky SM, Walker DB. Peripheral blood smears. In: Valenciano AC, Cowell RL: *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, 5th edition. St Louis, Missouri: Elsevier, 2020, pp. 438-467.
 22. Kelley J, Sharkey LC, Christopherson PW et al. Platelet count and plateletcrit in Cavalier King Charles Spaniels and Greyhounds using the Advia 120 and 2120. *Veterinary Clinical Pathology* 43:43-49, 2014.
 23. Stockham SL, Scott MA. Hemostasis. In: Stockham SL, Scott MA: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*, 2nd edition. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, 2008, pp. 443-554.
 24. Baker DC. Diagnosis of disorders of hemostasis. In: Thrall MA, Weiser G, Allison RW et al.: *Veterinary hematology and clinical chemistry*, 2nd edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell 2012, pp. 185-204.
 25. Jandrey KE, Brainard BM. Thromboelastography. In: Bonagura J, Twedt D: *Kirk's current veterinary therapy*, 15th edition. St Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2014, pp. 262-267.
 26. Morgan ER, Jefferies R, van Otterdijk L et al. Angiostrongylus vasorum infection in dogs: presentation and risk factors. *Veterinary Parasitology* 173:255-261, 2010.
 27. Shropshire S, Dow S, Lappin M. Detection and dynamics of anti platelet antibodies in thrombocytopenic dogs with and without idiopathic immune thrombocytopenia. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 34:700-709, 2020.
 28. Bau LV. Cytology of internal organs. In: Ettinger SJ, Feldman EC: *Textbook of veterinary internal medicine*, 7th edition. St Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2017, pp. 1033-1062.
 29. Turinelli V, Gavazza A, Stock G et al. Canine bone marrow cytological examination, classification and reference values: a retrospective study of 295 cases. *Research in Veterinary Science* 103:224-230, 2015.
 30. Stacy NI, Harvey JW. Bone marrow aspirate evaluation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 47:31-52, 2017.
 31. Harvey JW. Bone marrow evaluation. In: Harvey JW: *Veterinary hematology*. St Louis, Missouri: Elsevier, 2012, pp. 234-269.
 32. Haddad JL, Roode SC, Grindem CB. Bone Marrow. In: Valenciano AC, Cowell RL: *Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat*, 5th edition. St Louis, Missouri: Elsevier, 2020, pp. 468-506.
 33. Grindem CB, Breitschwerdt EB, Corbett WT et al. Thrombocytopenia associated with neoplasia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 8:400-405, 1994.
 34. Brazzell JL, Weiss DJ. A retrospective study of aplastic pancytopenia in the dog: 9 cases (1996-2003). *Veterinary Clinical Pathology* 35:413-417, 2006.
 35. Harvey JW. Disorders of Bone Marrow. In: Harvey JW: *Veterinary hematology*. St Louis, Missouri: Elsevier, 2012, pp. 260-327.

COMPRAVENDITA DI ATTREZZATURE PROFESSIONALI VETERINARIE

VET-EXCHANGE è il servizio telematico, libero e gratuito riservato ai soli medici veterinari. Questo servizio ha l'unico scopo di consentire un più facile contatto tra soggetti interessati alla compravendita di attrezzature professionali veterinarie. **Non è consentito l'accesso alle aziende del settore.**

Il portale registra più di 20.000 visite mensili, con una media di 200 annunci al mese.

Per inserire la propria offerta o richiesta è necessaria la registrazione al servizio tramite un modulo on-line. Al ter-

mine della registrazione il sistema fornirà all'utente un codice che, insieme alla password, consentirà di accedere all'area riservata per modificare/integrare/cancellare la propria scheda prodotti e la scheda dati personale.

Le inserzioni permangono in rete per 90 giorni; alla scadenza di questo periodo vengono rimosse automaticamente.

Registrazione e condizioni d'uso dettagliate al sito:

<http://www.vetexchange.it/>



VET-EXCHANGE
IL MERCATO ITALIANO DELLE ATTREZZATURE
PROFESSIONALI VETERINARIE
Servizio on-line dell'A.N.M.V.I.