

LINFOMA CUTANEO EPITELIOTROPO (ECL) IN UN CANE

S. COLOMBO

*Istituto di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria
Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Milano - Via Celoria, 10 - I-20133 MILANO (ITALY)*

L. MASOTTI, L.C. CHIODI

Clinica Veterinaria "Città di Monza" - Via E. Messa, 7 - I-20052 MONZA (ITALY)

Riassunto

Un cane Samoiedo maschio di 9 anni di età venne esaminato per eritema e progressiva depigmentazione a carico della mucosa orale, delle labbra e delle palpebre. L'esame istopatologico consentì di diagnosticare un Linfoma Cutaneo Epiteliotropo (ECL). Il soggetto venne trattato con un protocollo chemioterapico con Dacarbazina, ma alla fine del trattamento manifestò linfadenopatia con coinvolgimento metastatico dei linfonodi regionali e leucemia. Il cane morì spontaneamente due settimane dopo e l'esame necroscopico non fu autorizzato dal proprietario. Il coinvolgimento esclusivo delle mucose e delle giunzioni mucocutanee non è comune in corso di ECL. In letteratura, la disseminazione metastatica della malattia sembra essere di frequente riscontro, anche se la maggior parte dei pazienti viene sottoposta ad eutanasia prima che sia possibile osservare i segni di interessamento sistemico.

Summary

A nine-year-old intact male Samoyed dog was evaluated for erythema and progressive depigmentation of the oral mucosa, the eyelids and the lip margins. Epitheliotropic Cutaneous Lymphoma (ECL) was diagnosed following histopathologic examination. A chemotherapy protocol with Dacarbazine was instituted. After the treatment, the dog developed peripheral lymphadenopathy due to metastatic involvement of regional lymph nodes and leukemia. The dog died spontaneously two weeks later, and necropsy was not authorized. The exclusive involvement of mucosae and mucocutaneous junctions is not frequently reported. Metastatic disease is described as common, but unfortunately most of the affected dogs undergo euthanasia before signs of systemic involvement become apparent.

INTRODUZIONE

Il Linfoma Cutaneo (CL) è una neoplasia di non frequente riscontro che interessa cani di età avanzata¹⁴. Sulla base della presenza o dell'assenza di linfociti neoplastici a livello di epidermide sono state descritte due diverse forme di CL: il Linfoma Cutaneo Epiteliotropo (ECL) ed il Linfoma Cutaneo Non-Epiteliotropo (NECL)^{5,6,19}.

Gli aspetti clinici del Linfoma Cutaneo Epiteliotropo (ECL) sono estremamente variabili. Secondo Muth Beale e Bolon¹², le lesioni a carico delle mucose sono spesso presenti, associate a lesioni cutanee. Il coinvolgimento esclusivo delle mucose e delle giunzioni muco-cutanee sembra essere meno comune¹⁸, e la prognosi in questi casi è decisamente infausta⁹.

La terapia dell'ECL è generalmente senza successo. Alcuni farmaci possono migliorare l'aspetto clinico delle lesioni cutanee, ma non prolungano in alcun modo il tempo di sopravvi-

venza del paziente^{12,14}. Lemarié ed Eddlestone⁷ hanno recentemente descritto un caso clinico in cui l'utilizzo di un protocollo chemioterapico basato sull'uso della Dacarbazina ha portato a completa guarigione della neoplasia.

CASO CLINICO

Un cane di razza Samoiedo, maschio, di nove anni di età venne presentato alla visita clinica per una progressiva depigmentazione associata ad eritema che interessava la mucosa del cavo orale e le rime palpebrali. Le labbra apparivano depigmentate, fissurate e crostose; era inoltre presente uno scolo oculare bilaterale, ed il soggetto era apparentemente disturbato dalla luce solare diretta.

Il proprietario aveva osservato l'insorgere dei segni clinici da circa due settimane, e riteneva che stessero peggiorando progressivamente.

L'anamnesi remota rivelava che il soggetto era stato visitato un anno prima per parodontopatia e trattato con detartrasi ultrasonica in anestesia generale e con la regolare applicazione di un gel orale contenente Clorexidina. Cinque anni prima, inoltre, il cane aveva trascorso un mese in una zona a rischio per leishmaniosi.



FIGURA 1 - Depigmentazione, erosioni e ulcere a carico della mucosa orale e del labbro inferiore destro.

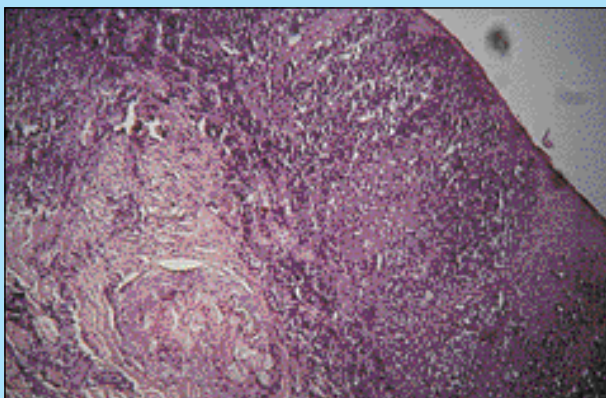


FIGURA 2 - Infiltrato di cellule linfoidi atipiche nell'epitelio superficiale. L'infiltrato si estende verso gli strati più profondi. (H-E, 10X).

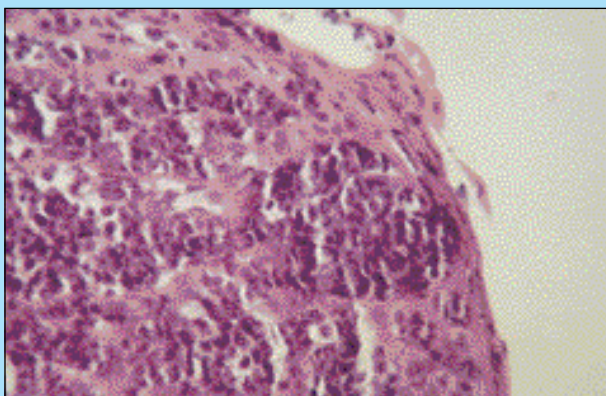


FIGURA 3 - Agregati di cellule linfoidi (microascessi di Pautrier) nell'epidermide. (H-E 40X).

Il soggetto viveva prevalentemente all'esterno, era regolarmente vaccinato e trattato profilatticamente per la Filariosi Cardiopolmonare ed era alimentato con un mangime secco.

Alla visita clinica, le labbra e la mucosa orale apparivano depigmentate, eritematose e focalmente ulcerate, mentre le commissure labiali erano fissurate e ricoperte da croste (Fig. 1). Le mucose congiuntivali erano fortemente eritematose e parzialmente depigmentate. L'esame oftalmologico consentì di diagnosticare una grave congiuntivite, senza segni riferibili ad uveite. Il tartufo era lievemente depigmentato, ed i markers cutanei risultavano conservati. Il prurito era assente, ed il soggetto si presentava in buone condizioni generali.

Dopo il primo esame clinico, la diagnosi differenziale includeva il Linfoma Cutaneo (CL), la Sindrome Uveodermatologica, la Piodermite Mucocutanea, la Leishmaniosi, una Reazione da Farmaco ed alcune malattie autoimmuni tra cui il Pemfigoide Bolloso, il Pemfigo Volgare ed il Lupus Eritematoso Sistemico o Cutaneo.

Il protocollo diagnostico si basò inizialmente sull'esecuzione di un test sierologico per Leishmaniosi (Immunofluorescenza Indiretta), che risultò negativo. Dopo una terapia antibiotica della durata di due settimane con Amoxicillina-Acido Clavulanico (Synulox® Pfizer) al dosaggio di 22,5 mg/kg PO BID, il soggetto venne anestetizzato per consentire il prelievo di campioni biotipici multipli.

L'esame dermatoistopatologico rivelò la presenza in tutte le sezioni esaminate di un denso infiltrato di cellule linfoidi atipiche (linfoblasti), con nuclei chiari e nucleoli di grosse dimensioni. Nell'epitelio era possibile osservare piccoli ammassi di linfociti neoplastici (microascessi di Pautrier) e la giunzione dermo-epidermica era oscurata dall'infiltrato linfocitario. L'infiltrato cellulare coinvolgeva principalmente gli strati più superficiali del tessuto in esame, anche se si estendeva verso la sottomucosa. I microascessi di Pautrier erano presenti anche in zona perivascolare. L'aspetto istopatologico risultava quindi suggestivo di un Linfoma Cutaneo Epiteliotropo (ECL) (Figg. 2-3).

Nonostante la prognosi infausta che si associa a questo tumore, il proprietario decise di sottoporre il cane alla chemioterapia. La somministrazione di antibiotico venne proseguita, allo scopo di evitare l'insorgenza di infezioni secondarie e conseguentemente di prurito. Venne quindi istituito un protocollo chemioterapico, basato sull'uso di Dacarbazina (Deticene® Rhone-Poulenc Rorer). Il farmaco venne somministrato per via endovenosa lenta (in due ore), al dosaggio di 1000 mg/M², diluito in 500 ml di soluzione fisiologica (NaCl 0,9%). Il trattamento venne ripetuto per tre volte, ogni tre settimane. Prima di iniziare la terapia ed una settimana dopo ogni somministrazione venne eseguito un esame emocromocitometrico completo.

Durante il periodo in cui il soggetto fu sottoposto a chemioterapia, la progressione della malattia apparentemente si arrestò, anche se non fu possibile osservare nessun miglioramento delle lesioni. Gli esami emocromocitometrici mostrarono una riduzione progressiva del numero dei linfociti (Tab. 1). Per quanto concerne gli effetti collaterali, il cane manifestò vomito e diarrea una sola volta, due ore dopo il primo trattamento.

Tabella 1
Risultati degli esami emocromocitometrici prima e durante la chemioterapia

Parametri	Valori normali	Pretrattamento	1° trattamento	2° trattamento	3° trattamento
RBC	5,5 - 8 milioni/mmc	7,4	7,1	6,7	6,7
Hct	37 - 55%	50	47	47	43
Hb	10 - 19 g/dL	16	15	16	15
M.C.V.	60 - 76 fL	67	67	69	65
M.C.H.	19 - 24 pg	21	21	24	22
M.C.H.C.	32 - 38%	32	32	34	34
Morfologia RBC		-	-	-	-
WBC	6000 - 16000/mmc	22000	11000	18000	12000
Neutrofili	3000 - 11500/mmc	17600	8360	14400	9480
Linfociti	1000 - 4800/mmc	3520	2200	1080	600
Monociti	150 - 1350/mmc	-	220	720	240
Eosinofili	100 - 1250/mmc	880	220	1800	1680
Basofili	0 - 0/mmc	-	-	-	-
Note:		Neutrofili polilobati	-	-	-
Piastrine	200000 - 600000/mmc	160000	96000	109000	150000
Note:		Aggregati	Aggregati	Aggregati	Aggregati

Un mese dopo la fine della chemioterapia, il soggetto manifestò un imponente aumento di volume dei linfonodi regionali ed anoressia, e contemporaneamente comparvero delle lesioni a placca, bilaterali, a carico delle labbra inferiori (Fig. 4).

Un esame citologico dei linfonodi, eseguito per aspirazione con ago sottile, rivelò un coinvolgimento neoplastico. Era presente una prevalente popolazione polimorfa di cellule linfoidi immature, associata a pochi piccoli linfociti residui. Le cellule linfoidi apparivano caratterizzate da nuclei rotondi o indentati, occasionalmente convoluti, da nucleoli prominenti e da un citoplasma debolmente basofilo in modica quantità. Erano inoltre presenti numerose mitosi atipiche.

Fu inoltre prelevato un campione di sangue per l'esame emocromocitometrico completo, che rivelò la presenza di leucemia, e per il profilo biochimico (Tab. 2).

L'esame microscopico di uno striscio ematico consentì di osservare la presenza di una popolazione pleomorfa di cellule linfoidi, caratterizzate da dimensioni variabili (diametro pari a 2-3 eritrociti), nuclei convoluti e citoplasma debolmente basofilo in modica quantità (Fig. 5).

Il soggetto morì due settimane più tardi, mentre il proprietario, dietro nostro suggerimento, stava decidendo di sottoporlo ad eutanasia. L'esame necroscopico non fu autorizzato.



FIGURA 4 - Lesioni a placca a carico del labbro inferiore destro.

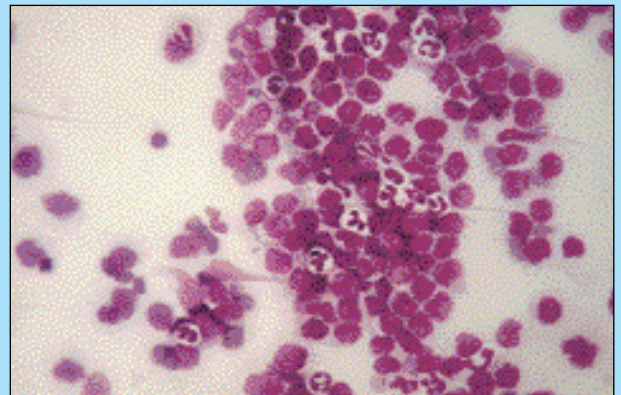


FIGURA 5 - Striscio ematico: presenza di linfoblasti atipici. (Hemacolor®, 40X).

Tabella 2
Risultati degli esami emocromocitometrico ed ematochimico un mese dopo il trattamento chemioterapico

<i>Parametri</i>	<i>Valori Normali</i>	<i>Risultati</i>
RBC	5,5 - 8 milioni/mmc	3,7
Hct	37 - 55%	26
Hb	10 - 19 g/dL	12
M.C.V.	60 - 76 fL	70
M.C.H.	19 - 24 pg	31
M.C.H.C.	32 - 38%	44
Morfologia RBC	Anisocitosi, Policromasia	RBC nucleati
WBC	6000 - 16000/mmc	> 70000
Neutrofili	60 - 75%	8%
Linfociti	12 - 30%	92%
Monociti	3 - 10%	-
Eosinofili	2 - 10%	-
Basofili	0 - 1%	-
Note:	-	Linfoblasti atipici
Piastrine	200000 - 600000/mmc	59000
Note:	-	-
<i>Parametri</i>	<i>Valori normali</i>	<i>Risultati</i>
A.S.T. (G.O.T.)	0 - 40 U/L	189
A.L.T. (G.P.T.)	0 - 40 U/L	53
A.L.P. (S.A.P.)	0 - 160 U/L	503
G.G.T.	0 - 5 U/L	20
Bilirubina totale	0 - 0,2 mg/dL	0,58
Proteine totali	5,7 - 7,7 g/dL	5,4
Albumine	2,5 - 4 g/dL	1,2
Globuline	2,5 - 4,5 g/dL	4,2
Rapporto A:G	0,5 - 1,3	0,3
Colesterolo totale	110 - 300 mg/dL	141
Lipasi	1 - 350 U/L	56,2
Urea	15 - 70 mg/dL	144
Creatinina	0,2 - 1,5 mg/dL	1,7
Glucosio	80 - 110 mg/dL	22
Calcio	8 - 12 mg/dL	9,8
Sodio	141 - 150 mEq/L	150
Potassio	2 - 5 mEq/L	3,7
Rapporto Na:K	> 27	40

DISCUSSIONE

Il Linfoma Cutaneo (CL) è una neoplasia di raro riscontro nel cane. L'eziologia è ignota, sebbene sia stata ipotizzata una infezione virale come agente causale. Nel gatto può essere implicato il virus della Leucemia Felina (FeLV)^{5,6,12,14}.

In base all'aspetto istologico, sono stati descritti due diversi aspetti della malattia.

Il Linfoma Cutaneo Non-Epiteliotropo (NECL) è stato considerato tradizionalmente un tumore dei linfociti B^{5,6,12,14,19}, ma recentemente Day² ha riscontrato la presenza di markers dei linfociti T in 8 casi di NECL su 10. Il NECL è solitamente caratterizzato da lesioni nodulari solitarie, multifocali o generalizzate, raramente associate a coinvolgimento della mucosa del cavo orale. Sono quasi sempre presenti segni di coinvolgimento sistemico e la malattia è caratterizzata istologicamente dall'infiltrazione dei linfociti tumorali nel derma e nel sottocute^{6,14,19}.

Il Linfoma Cutaneo Epiteliotropo (ECL) è una neoplasia dei linfociti T³; Moore et al.¹⁰ hanno recentemente

dimostrato che i linfociti tumorali sono CD3+ e CD8+, suggerendo la possibilità che derivino dalla subpopolazione delle cellule della memoria immunitaria. Nei piccoli animali sono state descritte 4 diverse varianti di ECL: la Micosi Fungoide, che è la forma osservata più comunemente, la Sezary Syndrome, l'Alopecia Mucinoso e la Reticulosis Pagetoide¹⁴.

L'ECL è una neoplasia tipica dei cani anziani (età 9-11 anni) e presenta un decorso clinico lentamente progressivo; l'intervallo tra l'insorgenza delle lesioni e la diagnosi definitiva è pari a $5,1 \pm 4,9$ mesi^{12,18}. Le presentazioni cliniche osservabili, che possono anche essere presenti nello stesso cane durante la progressione della malattia, sono l'eritroderma esfoliativo associato a prurito, la depigmentazione e le ulcere delle giunzioni mucocutanee, le placche o i noduli solitari o multipli e le lesioni ulcerative a carico della mucosa del cavo orale^{8,12,14}.

Nel caso in oggetto, le lesioni coinvolgevano soltanto le mucose e le giunzioni mucocutanee. Questa presentazione clinica può far sospettare una malattia autoimmune (Pemfigo Volgare, Pemfigoide Bolloso); inoltre lesioni a

carico delle mucose possono essere osservate in altre malattie, quale per esempio la Leishmaniosi, che andrebbe sempre inclusa nel diagnostico differenziale^{1,4}. Sfortunatamente, non è stato possibile accertare se la parodontopatia diagnosticata un anno prima non fosse in realtà la prima manifestazione clinica dell'ECL.

I segni clinici riferibili ad interessamento sistemico e l'aumento di volume dei linfonodi regionali si osservano generalmente negli stadi più avanzati della neoplasia, e si associano spesso a diffusione metastatica a carico del sangue e degli organi interni^{9,14}. L'incidenza delle metastasi viscerali e la durata della malattia sono sconosciute, dal momento che la maggior parte dei soggetti vengono sottoposti ad eutanasia¹⁸. Nel presente caso, abbiamo rilevato la presenza di metastasi ai linfonodi regionali e leucemia circa tre settimane prima della morte del soggetto.

Gli aspetti istologici patognomonic dell'ECL sono rappresentati da una banda lichenoidale di linfociti che infiltrano l'epitelio superficiale e follicolare e da ammassi intraepiteliali di linfociti atipici (microascessi di Pautrier)^{5,6,19}. I linfociti neoplastici sono caratterizzati da un nucleo grosso, pallido, di aspetto convoluto⁶.

La prognosi dell'ECL è infausta, benché si tratti di una patologia neoplastica a lenta progressione e la morte sia di solito dovuta ad eutanasia. Il tempo che intercorre tra l'insorgenza dei segni clinici e la morte è compreso tra 5 e 10 mesi^{12,18}. Secondo Magnol *et al.*⁹, il decorso è più rapido nei soggetti con lesioni solamente a carico della mucosa del cavo orale. Nel caso da noi osservato, il tempo di sopravvivenza dopo la diagnosi è stato pari a tre mesi circa.

Un miglioramento delle lesioni cutanee può essere ottenuto con diversi trattamenti, anche se non esiste una differenza significativa nel tempo di sopravvivenza tra soggetti trattati e soggetti non trattati^{12,14}. La mecloretamina ad uso topico (mostarda azotata) o la PEG L-asparaginasi possono essere utili negli stadi precoci della malattia^{11,14}; i retinoidi sintetici (isotretinoina o etretinate) possono migliorare l'aspetto delle lesioni in più del 50% dei casi¹⁷. Nessuno di questi trattamenti è però associato ad una effettiva regressione della neoplasia^{12,14}.

Recentemente, è stato descritto il trattamento con guarigione definitiva in un soggetto con ECL con metastasi linfonodali⁷. Il cane è stato trattato con dacarbazina, un agente chemioterapico utilizzato per le neoplasie linforeticolari, il melanoma maligno e l'osteosarcoma. Secondo Van Vechten *et al.*¹⁶, questo farmaco, associato alla doxorubicina, sarebbe efficace nel trattamento delle recidive di Linfoma nel cane. La dacarbazina ha attività alchilante e di antimetabolita, anche se il suo esatto meccanismo di azione è sconosciuto. I possibili effetti collaterali sono rappresentati da anoressia, nausea, vomito, diarrea, anemia, trombocitopenia e leucopenia; la fuoriuscita del farmaco dal vaso durante la somministrazione endovenosa può risultare in danni ai tessuti^{13,15}.

Il protocollo chemioterapico applicato nel nostro caso è stato quello suggerito da Rosenthal¹³ e da Lemarié ed Eddlestone⁷. Non abbiamo osservato alcun miglioramento dopo tre trattamenti, per cui la chemioterapia è stata sospesa. Secondo i risultati degli esami emocromocitometrici eseguiti durante la chemioterapia, però, la dacarbazina potrebbe avere rallentato la progressione della malattia.

Inoltre, il coinvolgimento dei linfonodi regionali e la leucemia sono stati osservati poco dopo la sospensione della chemioterapia. La dacarbazina sembra essere quindi un farmaco promettente per la terapia dell'ECL, anche se sono necessari studi clinici con una casistica più ampia per determinarne la reale efficacia.

Parole chiave

Linfoma Cutaneo Epiteliotropo, cane.

Key words

Epitheliotropic Cutaneous Lymphoma, dog.

Bibliografia

1. Ciaramella P., Oliva G., De Luna R., Gradoni L., Ambrosio R., Cortese L., Scalone A., Persechino A.: A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania Infantum*. *Vet Rec* 141: 539, 1997.
2. Day M. J.: Immunophenotypic characterization of cutaneous lymphoid neoplasia in the dog and cat. *J Comp Pathol* 112:79, 1995.
3. DeBoer D. J., Turrel J. M., Moore P. F.: Mycosis fungoides in a dog: demonstration of T-cell specificity and response to radiotherapy. *J Am Anim Hosp Ass* 26:566, 1990.
4. Font A., Roura X., Fondevila D., Closa J. M., Mascort J., Ferrer L.: Canine mucosal leishmaniasis. *J Am Anim Hosp Ass* 32:131, 1996.
5. Goldschmidt M. H., Shofer F. S.: *Skin Tumours of the Dog and Cat*. Pergamon Press, Oxford, 1992.
6. Gross T. L., Ihrke P. J., Walder E. J.: *Veterinary Dermatopathology*. Mosby Year Book, St. Louis, 1992.
7. Lemarié S. L., Eddlestone S. M.: Treatment of cutaneous T-cell lymphoma with Dacarbazine in a dog. *Vet Derm* 8:41, 1997.
8. MacDonald J. M.: Nasal Depigmentation. In: Griffin C. E., Rosenkrantz W. S., MacDonald J. M.: *Current Veterinary Dermatology. The Science and Art of Therapy*. Mosby Year Book, St. Louis, 1993.
9. Magnol J. P., Ghernati I., Marchal T., Chabanne L., Delverdier A., Fournel C.: Clinical, morphologic and immunophenotypic data based on 10 cases of canine muco-cutaneous epidermotropic T-lymphoma (analogous to Mycosis Fungoides). Importance of an animal model of spontaneous pathology. *Bull Acad Natl Med* 180:449, 1996.
10. Moore P. F., Olivry T., Naydan D.: Canine cutaneous epitheliotropic lymphoma (Mycosis Fungoides) is a proliferative disorder of CD8+ T cells. *Am J Pathol* 144:421, 1994.
11. Moriello K. A., MacEwen G., Schultz K. T.: PEG-L-asparaginase in the treatment of canine epitheliotropic lymphoma and histiocytic proliferative dermatitis. In: Ihrke P. J., Mason I. S., White S. D.: *Advances in Veterinary Dermatology*. Pergamon Press, Oxford, Vol. 2, 1993.
12. Muth Beale K., Bolon B.: Canine cutaneous lymphosarcoma: epitheliotropic and non-epitheliotropic, a retrospective study. In: Ihrke P. J., Mason I. S., White S. D.: *Advances in Veterinary Dermatology*. Pergamon Press, Oxford, Vol. 2, 1993.
13. Rosenthal R. C.: Chemotherapy. In: Ettinger S. J., Feldman E. C.: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 4th Ed., 1995.
14. Scott D. W., Miller W. H., Griffin C. E.: *Mueller & Kirk's Small Animal Dermatology*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 5th Ed., 1995.
15. Thompson J. P.: Antineoplastic agents in cancer chemotherapy. In: Kirk R. W., Bonagura J. D.: *Current Veterinary Therapy XI - Small Animal Practice*. W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1992.
16. Van Vechten M., Helfand S. C., Jeglum K. A.: Treatment of relapsed canine lymphoma with doxorubicin and dacarbazine. *J Vet Int Med* 4:187, 1990.
17. White S. D., Rosychuk R. A. W., Scott K. W., Trettien A. I., Jonas L., Denerolle P.: Use of isotretinoin and etretinate for the treatment of benign cutaneous neoplasia and cutaneous lymphoma in dogs. *J Am Vet Med Ass* 202:387, 1993.
18. Wilcock B. P., Yager J. A.: The behaviour of epidermotropic lymphoma in twenty-five dogs. *Can Vet J* 30:754, 1989.
19. Yager J. A., Wilcock B. P.: *Color Atlas and Text of Surgical Pathology of the Dog and Cat. Dermatopathology and Skin Tumors*. Wolfe-Mosby Year Book, London, 1994.