

SARCOMA ISTIOCITICO DISSEMINATO CON CELLULE NEOPLASTICHE CIRCOLANTI IN UN CANE

DIFFUSE HISTIOCYTIC SARCOMA WITH CIRCULATING NEOPLASTIC CELLS IN A DOG

LAURA MARCONATO¹, STEFANO COMAZZI², ROBERTO ESPOSITO³, LUIGIA CIARAMELLA¹,
GIAMPAOLO CRISPINO¹, RICCARDO FINOTTELLO¹

¹ Clinica Veterinaria L'Arca, Napoli

² DIPAV, Università degli Studi di Milano

³ Studio Veterinario Giulietta, Procida (NA)

Riassunto

Si descrive un caso di sarcoma istiocitico disseminato in un rottweiler, caratterizzato da interessamento di milza, fegato e midollo osseo, ed in cui si riscontravano anche cellule neoplastiche circolanti (CNC). L'immunofenotipizzazione su sangue midollare e periferico consentiva di escludere altre diagnosi differenziali, tra cui leucemia megacarioblastica, leucemia linfoblastica acuta e linfoma. La presenza di CNC in caso di tumore solido ha significato ancora dubbio, tuttavia deve allertare l'oncologo medico e suggerire la possibilità di fenomeno micrometastatico, magari ancora clinicamente occulto, favorendo così monitoraggio attento ed eventualmente istituzione di protocolli di chemioterapia.

Summary

A case of diffuse histiocytic sarcoma in a rottweiler is reported. Beside the involvement of spleen, liver and bone marrow, circulating neoplastic cells were noticed. Immunophenotyping on marrow and peripheral blood ruled out other differentials, such as megakaryoblastic leukaemia, acute lymphoblastic leukemia and lymphoma. The role of circulating neoplastic cells in solid tumors remains unclear, but should alert the medical oncologist on the chance of micrometastases, thereby leading to careful patient monitoring and early initiation of chemotherapy.

DESCRIZIONE DEL CASO

Un cane rottweiler, femmina sterilizzata di 8 anni, era riferita per la presenza di una massa occupante spazio evidenziata ecograficamente nel quadrante addominale craniale sinistro.

I proprietari riferivano presenza di anoressia, dimagrimento, abbattimento, vomito, insorti due mesi prima.

All'esame obiettivo generale, si evidenziavano le seguenti anomalie: mucose subitteriche ed imponente dilatazione addominale. Alla palpazione addominale si riscontrava organomegalia in sede addominale craniale. All'auscultazione cardiopolmonare si rilevava attenuazione dei toni cardiaci, in assenza di rumori respiratori. L'esame fisico era per il resto normale.

Si prelevava un campione di sangue per eseguire esame emocromocitometrico, ematochimico e profilo coagulativo. Si ripeteva quindi l'ecografia addominale, che evidenziava una massa ipoecogena splenica, di 32 cm di diametro maggiore, e multiple lesioni epatiche a pattern misto ipo-

ed iperecoico.

La citologia ecoguidata di massa splenica mostrava una popolazione omogenea di cellule rotonde, con nucleo tondeggianti e cromatina reticolare, ed ampio citoplasma basofilo talvolta microvacuolizzato. Erano presenti cellule plurinucleate ed occasionali figure mitotiche atipiche, nonché modesti caratteri di eritrofagocitosi. Il quadro era compatibile con sarcoma istiocitico.

Ai fini di stadiazione, si eseguivano due radiografie del torace (decubito latero-laterale destro e sinistro), che non mostravano alcuna alterazione.

All'esame emocromocitometrico si riscontravano: anemia normocitica normocromica (GR 3,7; range, 5,5-7,9 10⁶/μl; PCV 22,2; range 37-55%; Hgb 8,1, range 12-18 g/dl), leucocitosi (GB 35200, range 6000-17000/μl), e piastrinopenia (PLT 18000, range 120000-350000/μl).

Il sangue periferico evidenziava precursori eritroidi (metarubriciti 5500/μl), talvolta con modici segni di displasia (in prevalenza asincronia di maturazione nucleo/citoplasmatica). La conta reticolocitaria evidenziava modica rigenerazione (4,49%; 166000 reticolociti/μl). La valutazione morfologica evidenziava, accanto a moderata neutrofilia e monocitosi, la presenza di cellule atipiche, che nell'insieme costituivano 2% di cellule nucleate (Figura 1). Tali cellule

mostravano elevate dimensioni (circa 35-40%) con citoplasma abbondante, grigiastro, spesso con vacuolizzazioni anche voluminose, nucleo ovalare periferico, con cromatina da finemente a grossolanamente reticolare e nucleoli non visibili.

L'esame ematochimico evidenziava aumento di AST (100, range 0-67 UI/l), ALP (758, range 0-160 UI/l), GGT (20, range 0-8 UI/l), bilirubina (0,8, range 0-0,6 mg/dl), e LDH (672, range 10-293 UI/l), ed ipocolesterolemia (94, range 110-300 mg/dl).

Il profilo coagulativo rilevava lieve aumento di PT (8,3; range, 5,1-7,9 secondi) ed aPTT (13,4; range, 8,6-12,9 secondi).

Per completare la stadiazione, si eseguiva prelievo di midollo osseo (MO). La citologia mostrava buona cellularità con presenza di non rare spicole. La linea eritroide era presente, ben differenziata nel compartimento maturativo e proliferativo, con lieve incremento di quest'ultimo. Analogamente a quanto osservato nel sangue periferico, erano evidenzabili modici segni di asincronia di maturazione tra nucleo e citoplasma, soprattutto negli elementi più maturi. La linea mieloide appariva presente e ben differenziata nei compartimenti proliferativo e maturativo, con maturazione piramidale adeguata e scarsi segni di displasia. La linea megacariocitica appariva presente con imponenti segni di displasia, in prevalenza nuclei multipli osteoclasto-simili ed asincronia di maturazione. Era inoltre presente modica plasmocitosi (circa 4% di tutti gli elementi nucleati). Cellule ovalari di grosse dimensioni, isolate, a citoplasma abbondante vacuolizzato e nucleo ovalare periferico, simili a quelle osservate nel sangue periferico, erano valutabili nell'ordine di 6,5% (Figura 2). Occasionalmente erano identificabili segni di citofagia ed eritrofagocitosi recente.

Per chiarire meglio l'origine delle cellule neoplastiche, veniva eseguita immunofenotipizzazione su sangue periferico e midollare mediante citometria a flusso. Le cellule neoplastiche, che mostravano elevate caratteristiche di granulosità (side scatter) e dimensioni (forward scatter), risultavano negative per i marker caratteristici di linee linfoidi T (CD3, CD4, CD8), B (CD21, CD79a, IgM e IgG) e per l'antigene CD34, caratteristico dei precursori ematopoietici. Analogamente le cellule neoplastiche evidenziavano negatività all'antigene monocitario CD14, mentre erano posi-

tive per CD11a (tutti i leucociti), e per markers mieloidi ed istiocitari CD11b, CD11c e CD49d. Gli antigeni comuni CD45 e CD18 apparivano positivi ad elevata fluorescenza. Si escludevano così leucemia linfoblastica acuta e leucemia mieloide acuta a causa di negatività a markers linfoidi e CD34, e di elevata positività a markers comuni CD18 e CD45, generalmente sottoespressi nelle leucemie acute.¹

Non era tuttavia possibile confermare l'origine istiocitica delle cellule neoplastiche per la mancanza dell'antigene istiocitario CD1, né valutare l'origine emofagocitica mediante CD11d.

Alla luce degli aspetti clinici, citologici ed ematologici, e dell'esclusione delle possibili diagnosi differenziali si emetteva quindi diagnosi di sarcoma istiocitico disseminato, con interessamento di milza, fegato, MO e sangue periferico. La prognosi era considerata infausta, pertanto i proprietari optavano per eutanasia del soggetto.

DISCUSSIONE

Il complesso del sarcoma istiocitico è stato sufficientemente documentato negli ultimi anni. Ne sono state descritte due forme: una localizzata, a prognosi migliore, ed una disseminata, caratterizzata da scarsa risposta a trattamenti convenzionali (chirurgia, radioterapia, chemioterapia) e breve sopravvivenza.² La forma disseminata interessa più organi contemporaneamente (origine multicentrica), mentre la forma localizzata interessa una sola area corporea (in genere il sottocute) ed eventualmente il linfonodo regionale.² La forma localizzata può tuttavia metastatizzare a distanza, ed in questo caso la forma disseminata rappresenta lo stadio terminale di sarcoma istiocitico localizzato che ha metastatizzato oltre il linfonodo regionale.²

Sebbene il complesso del sarcoma istiocitico sia stato più spesso descritto nei bovini del bernese, altre razze canine (tra cui rottweiler e retriever) sembrano essere geneticamente predisposte.^{2,3}

Grazie a studi molecolari, sono state definite due varianti dalla diversa distribuzione di clusters di differenziazione (CD): una di origine dendritica (sarcoma istiocitico non emofagocitico) ed una di origine macrofagica (sarcoma istiocitico emofagocitico).⁴ La distinzione tra le due forme

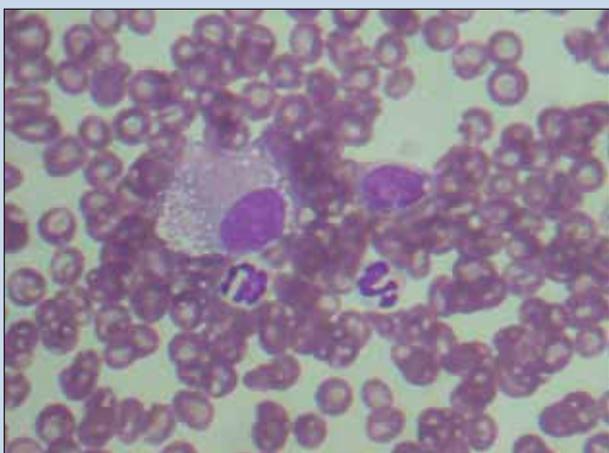


FIGURA 1 - Striscio di sangue periferico. Cellula istiocitica neoplastica circolante.

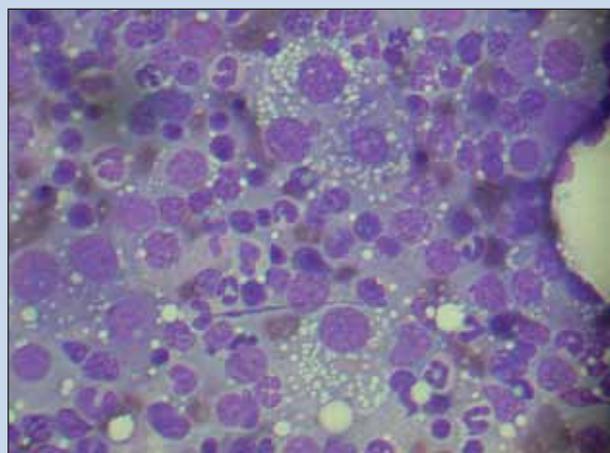


FIGURA 2 - Striscio di sangue midollare. Presenza di numerose cellule istiocitiche.

si basa su studi immunofenotipici, riscontri laboratoristici ed ecografici. Il sarcoma emofagocitico esprime tipicamente CD11d, mentre è generalmente CD1-, si accompagna più spesso a marcata anemia, tipicamente rigenerativa, trombocitopenia, iperbilirubinemia, ipoalbuminemia ed ipocolesterolemia. Ecograficamente è comune splenomegalia massiva.

Sfortunatamente, non disponendo di materiale biotico ma soltanto di campioni citologici, non era possibile accertare l'origine cellulare mediante CD11d. Tra i reperti di laboratorio, la positività a CD11c (generalmente assente nelle forme emofagocitiche), e la presenza di una voluminosa lesione splenica in assenza di organomegalia suggerivano una forma di origine istiocitaria non emofagocitica. Al contrario, la natura rigenerativa dell'anemia, la presenza di segni di eritrofagocitosi, seppur modici, l'ittero e l'ipocolesterolemia facevano supporre un'origine emofagocitica.

In caso di sarcoma istiocitico, il MO può essere interessato da proliferazione maligna, tuttavia il coinvolgimento di sangue periferico sembra essere raro. Recentemente è stato descritto un sarcoma istiocitico disseminato di origine dendritica con cellule neoplastiche circolanti (CNC) in un Golden retriever.⁵ Nel sangue periferico, le cellule neoplastiche rappresentavano circa il 50%, mentre nel MO il 40% di tutte le cellule nucleate. Tali osservazioni, in aggiunta a positività a CD34, facevano supporre una leucemia dendritica, a probabile origine primitiva midollare, anziché disseminazione ematogena secondaria.⁵

Un secondo caso di sarcoma istiocitico disseminato con coinvolgimento ematico è stato invece segnalato in un bernese⁶ nel quale la negatività a CD11d faceva supporre l'origine istiocitaria. Nel caso in oggetto era evidenziabile una grave anemia non rigenerativa e le cellule neoplastiche risultavano CD34 negative, nonostante la mancanza di MO non consentisse di valutare il livello di mielottisi né di trarre considerazioni conclusive sull'origine primaria o metastatica dell'invasione ematomidollare.

Il caso descritto nel presente lavoro presentava massa splenica e lesioni diffuse epatiche, ascrivibili a disseminazione metastatica. Il MO, seppur infiltrato da cellule istiocitiche, non mostrava coinvolgimento mielottico. Le cellule istiocitiche rappresentavano, infatti, il 6,5%; inoltre risultavano negative a CD34. Si ipotizzava quindi una disseminazione ematogena secondaria e non una forma primitiva leucemica. Il quadro ematologico evidenziava anemia moderata con soltanto modici segni di rigenerazione e segni di displasia secondaria a carico di linee eritroidi e megacarioblastica.

La ricerca di CNC fa parte di staging e follow-up di routine di neoplasie emopoietiche; al contrario, il significato biologico di CNC rilasciate da tumori solidi non è ancora stato chiarito. Studi preclinici hanno documentato che ogni giorno circa 1×10^6 cellule neoplastiche/gr di tumore possono essere rilasciate in circolo.⁷ Pur trattandosi di un numero cospicuo, soltanto una minima frazione è in grado di stabilire focolai metastatici a distanza. Il fenomeno metastatico è, infatti, inefficiente, e questo può essere ricondotto a suscettibilità di CNC ad andare incontro ad apoptosi, incapacità di sin-



La sinergia tra farmaco e dieta

Il farmaco starter del piano di dimagrimento: solo 8 settimane per ottenere risultati visibili capaci finalmente di motivare il proprietario a continuare il piano dietetico.

Non sostituisce la dieta, ma l'anticipa e ne diventa il complemento!

MARCHIO REGISTRATO



121-M008



Milano

Via Michelangelo Buonarroti, 23
20093 • Cologno Monzese
Tel. 0225101 • Fax 022510500

JANSSEN
ANIMAL HEALTH

gole cellule metastatiche di impiantarsi, crescere, ed indurre neoangiogenesi.^{8,9} Di conseguenza, la presenza di CNC non può da sola essere ritenuta espressione certa di secondarismi.¹⁰ Ancora, nel follow-up di questi pazienti, l'identificazione di CNC non può essere utilizzata come marker certo ed affidabile di malattia minima residua.¹⁰ Ciononostante, è pur vero che l'osservazione di CNC deve allertare l'oncologo medico e suggerire la possibilità di fenomeno micrometastatico, magari ancora clinicamente occulto, favorendo così monitoraggio attento ed eventualmente istituzione di protocolli di chemioterapia.¹⁰

In assenza di metastasi clinicamente evidenti, l'attenta valutazione morfologica ed eventualmente l'immunofenotizzazione su sangue periferico e midollare, se eseguite di routine nello staging del paziente, potrebbe quindi favorire diagnosi precoce di fenomeno micrometastatico e tempestiva istituzione di protocolli chemioterapici. Secondo l'ipotesi Norton e Simon, il *log kill* di farmaci chemioterapici è maggiore per tumori di piccole dimensioni.¹¹ Di conseguenza, le micrometastasi che hanno elevata frazione di accrescimento sono particolarmente sensibili a farmaci ad attività citotossica.¹¹

In medicina umana, sono stati pubblicati diversi lavori scientifici in cui si descriveva la presenza di CNC derivanti da tumori solidi, tra cui melanoma,¹² carcinoma mammario,¹³ carcinoma prostatico¹⁴ e carcinoma coloretale.¹⁵

Al contrario, in letteratura veterinaria sono stati descritti rari casi isolati di CNC derivanti da tumori solidi, tra cui tumore venereo trasmissibile¹⁶ e mastocitoma.^{17,18} Il caso segnalato descrive la presenza di CNC rilasciate da sarcoma istiocitico. L'attenta ricerca di tali cellule nel sangue periferico (mediante morfologia o citometria a flusso) dovrebbe far parte dello staging routinario di tali pazienti, per identificare disseminazione ematogena e, possibilmente, dettare prognosi e terapia aggressiva in fasi ancora iniziali.

Parole chiave

Sarcoma istiocitico, midollo osseo, cellule neoplastiche circolanti, immunofenotipo, cane.

Key words

Histiocytic sarcoma, bone marrow, neoplastic circulating cells, immunophenotype, dog.

Bibliografia

1. Comazzi S, Gelain ME, Riondato F, Paltrinieri S. Flow cytometric expression of common antigens CD18/CD45 in blood from dogs with lymphoid malignancies: a semi-quantitative study. *Vet Immunol Immunopathol.* 112(3-4):243-252, 2006.
2. Affolter VK, Moore PF. Localized and disseminated histiocytic sarcoma of dendritic cell origin in dogs. *Vet Pathol.* 39(1):74-83, 2002.
3. Dobson J, Villiers E, Roulois A, et al. Histiocytic sarcoma of the spleen in flat-coated retrievers with regenerative anaemia and hypoproteinaemia. *Vet Rec.* 158(24):825-829, 2006.
4. Moore PF, Affolter VK, Vernau W. Canine hemophagocytic histiocytic sarcoma: a proliferative disorder of CD11d+ macrophages. *Vet Pathol.* 43(5):632-645, 2006.
5. Allison RW, Brunker JD, Breshears MA, et al. Dendritic cell leukemia in a Golden Retriever. *Vet Clin Pathol.* 37(2):190-197, 2008.
6. Rossi S, Gelain ME, Comazzi S. Disseminated histiocytic sarcoma with peripheral blood involvement in a bernese mountain dog. *Vet Clin Pathol.* in corso di stampa.
7. Chang YS, di Tomaso E, McDonald DM, Jones R, Jain RK, Munn LL. Mosaic blood vessels in tumors: frequency of cancer cells in contact with flowing blood. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 97(26):14608-14613, 2000.
8. Hunter KW. Host genetics and tumour metastasis. *Br J Cancer.* 90(4):752-5, 2004.
9. Piris A, Mihm MC Jr. Mechanisms of metastasis: seed and soil. *Cancer Treat Res.* 135 (1):119-127, 2007.
10. Bertazza L, Mocellin S, Nitti D. Circulating tumor cells in solid cancer: tumor marker of clinical relevance? *Curr Onc Rep* 10:137-146, 2008.
11. Norton L, Simon R. The Norton-Simon hypothesis revisited. *Cancer Treat Rep.* 70(1):163-169, 1986.
12. Ulmer A, Schmidt-Kittler O, Fischer J, et al. Immunomagnetic enrichment, genomic characterization, and prognostic impact of circulating melanoma cells. *Clin Cancer Res.* 10(2):531-537, 2004.
13. Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 351(8):781-791, 2004.
14. Morgan TM, Lange PH, Vessella RL. Detection and characterization of circulating and disseminated prostate cancer cells. *Front Biosci.* 12:3000-3009, 2007.
15. Bessa X, Piñol V, Castellví-Bel S, Piazuelo E, et al. Prognostic value of postoperative detection of blood circulating tumor cells in patients with colorectal cancer operated on for cure. *Ann Surg.* 237(3):368-75, 2003.
16. Albanese F, Salerni FL, Giordano S, Marconato L. Extragenital transmissible venereal tumour associated with circulating neoplastic cells in an immunologically compromised dog. *Vet Comp Onc* 4(1): 57-62, 2006.
17. O'Keefe DA, Couto CG, Burke-Schwartz C, Jacobs RM. Systemic mastocytosis in 16 dogs. *JVIM* 1(2):75-80, 1987.
18. Marconato L, Bettini G, Giacoboni C, et al. Clinicopathological features and outcome for dogs with mast cell tumors and bone marrow involvement. *JVIM* 22(5): 1001-1007, 2008.