

LA TROMBOCITEMIA ESSENZIALE NEL CANE E NEL GATTO

Parte II*

ALEXANDRA CHISHOLM-CHAIT, VMD
Auburn University

Riassunto

La trombocitemia essenziale viene tipicamente diagnosticata negli animali di media età o anziani. I più comuni segni clinici al momento della visita sono rappresentati da letargia, inappetenza e perdita di peso. In questo lavoro vengono illustrate le caratteristiche ematologiche e citologiche che indicano la trombocitemia essenziale, nonché le attuali raccomandazioni terapeutiche in medicina veterinaria. Sono anche descritti i recenti progressi nei metodi diagnostici studiati nell'uomo.

Summary

Essential thrombocythemia is typically diagnosed in middle-aged and geriatric animals. The most common presenting signs are lethargy, inappetence, and weight loss. This article discusses the hematologic and cytologic indications of essential thrombocythemia as well as current therapeutic recommendations for veterinary patients. Recent advances in diagnostic methods investigated in humans are also reviewed.

La trombocitemia essenziale (ET) deve essere differenziata da altre patologie mieloproliferative e dalle comuni cause di iperpiastrinemia. Nella prima parte del presente lavoro sono state riassunte brevemente la classificazione e la terminologia utilizzate per descrivere le malattie mieloproliferative e altre cause di trombocitosi ed è stata discussa la diagnosi di trombocitemia essenziale. Nella seconda verranno presi in considerazione l'anamnesi, i reperti clinicopatologici ed il trattamento, basato sugli stessi protocolli chemioterapici o di terapia con radioisotopi utilizzati per altre forme mieloproliferative. Inoltre, verranno presentati i recenti progressi compiuti in ambito diagnostico umano.

SEGNALAMENTO

Analogamente all'uomo, la quasi totalità degli animali con diagnosi di trombocitemia essenziale è composta da soggetti in età geriatrica o di età media piuttosto avanzata¹⁻⁴

(Tab. 1), dato che appare in contrasto con la vasta gamma di età dei soggetti colpiti da patologie mieloproliferative di altro tipo. Nel numero relativamente esiguo di casi descritti in ambito veterinario non sembra esistere alcuna predisposizione di sesso o di razza; tuttavia, con l'aumentare delle segnalazioni potrà scaturire un maggiore coinvolgimento di alcune razze rispetto ad altre. Nella Tabella 1 vengono riassunti i reperti salienti raccolti in tre casi clinici e che serviranno come base all'esposizione delle strategie consigliate per la diagnosi e il trattamento della trombocitemia essenziale negli animali.

ANAMNESI ED ESAME CLINICO

In tutti i casi segnalati, i segni clinici più comuni al momento della visita erano rappresentati da letargia, apatia, inappetenza e perdita di peso. Quando vengono portati alla visita soggetti anziani con questo tipo di manifestazioni aspecifiche, soprattutto se prive di alcuna cronicità (decorso di settimane o mesi), occorre sempre escludere in primo luogo una patologia neoplastica. Bisogna informarsi accuratamente riguardo al piano vaccinale dell'animale, eventuali sverminazioni effettuate e somministrazione di

*Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Vol. 21, N. 3, marzo 1999, 218. Con l'autorizzazione dell'Editore.

Tabella 1
Segnalamento, anamnesi, reperti degli esami clinici e di laboratorio, trattamento ed esito in tre segnalazioni di trombocitemia essenziale

	<i>Simpson e al¹</i>	<i>Hopper e al²</i>	<i>Hammer e al³</i>
Specie	Cane	cane	gatto
Età (anni)	8	11	8
Razza	Setter irlandese	Airdale terrier	Domestico a pelo lungo
Sesso/stato riproduttivo	Femmina / ?	Femmina / sterilizzata	Maschio / castrato
Segni soggettivi	Letargia progressiva, anoressia, perdita di peso	Indifferenza, intolleranza all'esercizio fisico, perdita di peso	Letargia, perdita di peso, polifagia, vomito discontinuo
Segni oggettivi	Splenomegalia assente, ^a anemia rigenerativa	Splenomegalia ^b (marcata emopoiesi extramidollare), sanguinamento GI, anemia cronica non rigenerativa, marcata basofilia	Tachicardia, iposplenismo, ^a FIV/FelV negativo, sanguinamento GI (dopo l'inizio della terapia)
Conteggio piastrinico (μl)	957.000 ^b	4.190.000 - 4.950.000 ^b	1.965.000 ^b
Volume piastrinico medio	–	Diminuito	–
Anomalie morfologiche di piastrine o MK?	Si ^b	Si ^b	No ^a eccetto un leggero aumento del citoplasma MK nel MO e occasionali micropiastrine periferiche
Funzionalità piastrinica anomala (mediante tempo di sanguinamento della mucosa o test di aggregazione)?	–	Si ^b	No ^a
Iperplasia MK?	Si ^b	Si ^b (dismegacariocitopoiesi)	Si ^a
Citologia del MO	Tutte le altre linee apparivano normali	Iperplasia MK, ^b ipoplasia eritroide, iperplasia basofila, iperplasia granulocitaria	Iperplasia granulocitaria, morfologia normale delle serie eritroide e mieloide, scorte di ferro adeguate
Fibrosi del MO?	No ^b	No ^b	No ^b
Blasti circolanti?	Si	No	No
Ematocrito (%)	8 - 23 ^a	15 ^a	30
Leucociti / μl	11.200-30.000	18.600	≥ 14.000 (fino a 28.400)
Sideremia	– ^a	aumentata ^b	normale
TBIC	– ^a	Leggermente aumentata ^b	normale
Possibili cause di trombocitemia reattiva?	– ^a	No ^b	No ^b
Segni indicanti altre trombocitosi mieloproliferative?	No ^b	No ^b	No ^b
Trattamento	Chemioterapia (COP + cyto-arab)	Radiofosforo (³² P)	Melphalan
Esito	Remissione completa (sopravvivenza ≥ 9 mesi), soppresso per via eutanassica a causa di cistite emorragica	Risposta parziale, morte per pancreatite / DKA	Morte per setticemia 9 giorni dopo la terapia

^a Reperti non compatibili con i criteri diagnostici della trombocitemia essenziale elencati dal Polycythemia Vera Study Group.⁴

^b Reperti compatibili con i criteri diagnostici della trombocitemia essenziale elencati dal Polycythemia Vera Study Group⁴ e altri criteri di sostegno.

MO = midollo osseo; COP = ciclofosfamida, vincristina, prednisone; cyto-arab = citosina arabinoside; DKA = chetoacidosi diabetica; FeLV = virus della leucemia felina; FIV = virus dell'immunodeficienza felina; GI = gastrointestinale; MK = megacariocita; MP = mieloproliferativo; TBIC = capacità totale di legare il ferro; – = non segnalato.

altri farmaci, in particolare prodotti per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare, antibiotici, steroidi e farmaci antiinfiammatori non steroidei; infatti queste informazioni sono fondamentali per la corretta interpretazione delle anomalie di un emogramma. Inoltre, il proprietario deve essere invitato a descrivere qualsiasi variazione di colore osservata a carico di feci o urine poiché questo potrebbe rivelare episodi di emorragia gastrointestinale o urogenitale.

L'esame clinico deve comprendere la valutazione attenta delle mucose (fra cui la mucosa vaginale se quella orale è eccessivamente pigmentata) per controllare lo stato di idratazione, la presenza di pallore o di qualsiasi manifestazione petecchiale. L'esame rettale consente di evidenziare un'emorragia gastrointestinale. Il riscontro di petecchie, ecchimosi, emorragie evidenti o il prolungamento del tempo di sanguinamento della mucosa boccale (Fig. 1) in presenza di trombocitosi sono chiari indici di deficit della

funzione piastrinica. L'insieme di questi caratteri deve indurre a sospettare che all'origine del disturbo sia presente una patologia mieloproliferativa. Se disponibile, il test di aggregazione piastrinica si rivela utile per confermare la disfunzione di questi elementi.

Molti animali affetti da malattie mieloproliferative vengono portati alla visita con splenomegalia talvolta associata a epatomegalia. Quando la palpazione addominale rivela uno stato di organomegalia multifocale, è necessario sospettare l'esistenza di una forma neoplastica, in particolare un linfosarcoma o un emangiosarcoma. Ogni animale con perdita di peso cronica o segni di cachessia deve essere sottoposto a un attento esame dell'occhio. Benché il riscontro di iperpiressia induca a ricercare l'esistenza di una causa infettiva all'origine dell'apatia e della cachessia (ad es. patologie sostenute da miceti, protozoi o rickettsie), molte forme neoplastiche provocano la comparsa di febbre attraverso il rilascio diretto o indiretto di citochine.

ASPETTI EMATOLOGICI E CITOLOGICI

Nella formulazione di una diagnosi di trombocitemia essenziale, il segno più rilevante è lo stato persistente di iperpiastrinemia (Fig. 2) associato a reperti midollari coerenti (Fig. 3) fra cui presenza di iperplasia megacariocitaria (Fig. 3) e adeguate riserve di ferro. Nella maggior parte dei soggetti affetti dalla condizione, il numero di piastrine subisce un innalzamento drammatico rispetto agli incrementi moderati tipici delle trombocitosi reattive. Ciononostante, ogni qualvolta venga rilevato un numero di piastrine superiore a 700.000/ μl , occorre ripetere l'esame emocromocitometrico, sia che il campione provenga da un soggetto sintomatico o da un animale asintomatico portato alla visita per un controllo geriatrico di routine o per uno screening preanestesiologico. Il secondo campione deve essere prelevato adottando la tecnica di puntura venosa più immediata e meno traumatica e poi trasferito immediatamente in una provetta contenente un anticoagulante quale EDTA o citrato, preferibilmente dopo aver rimosso l'ago della siringa e il tappo della provetta. L'ideale sarebbe analizzare il campione entro 20 minuti.

È necessario allestire immediatamente alcuni strisci di sangue destinati alle colorazioni speciali e differenziali. L'esame dello striscio è utile per diverse ragioni; infatti, la presenza di piastrine anomale o leucociti displasici è indice di disordine neoplastico; la valutazione manuale del numero di piastrine serve a verificare la conta effettuata dal citometro (un elemento piastrinico per campo microscopico ad immersione in olio rappresenta circa 15.000 piastrine/ μl di sangue intero), inoltre l'aggregazione piastrinica interferisce con i metodi di conteggio meccanici, che forniranno valori inferiori alla realtà, riducendo il significato di un quadro che in realtà potrebbe essere caratterizzato da una trombocitosi estremamente grave.

Il reperto di iperpiastrinemia deve sempre essere considerato alla luce dei risultati del conteggio degli eritrociti e dei leucociti, poiché soltanto una valutazione di insieme consente di apprezzare indizi importanti implicanti cause reattive di trombocitosi (Tab. 2). Un numero elevato di piastrine accompagnato da una diminuzione significativa del valore ematocrito e da una conta leucocitaria normale



FIGURA 1 - Test di sanguinamento della mucosa boccale eseguito in un cane utilizzando un Simplate (Organon Teknika Corporation, Durham, NC) e una garza annodata lassamente per mantenere esposto il labbro.

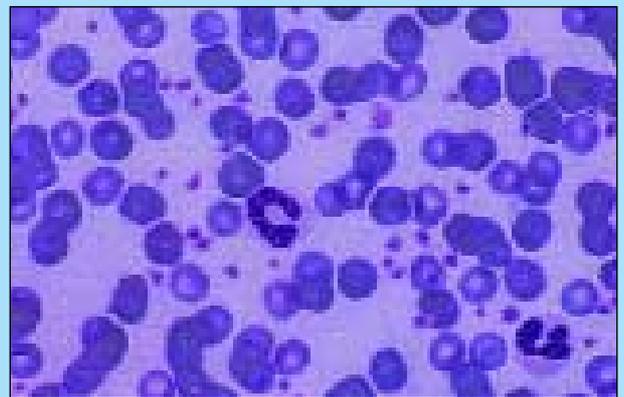


FIGURA 2 - Striscio di sangue (campo microscopico ad immersione in olio) in cui si rileva la presenza di trombocitosi con un numero di piastrine superiore a 40 per campo.

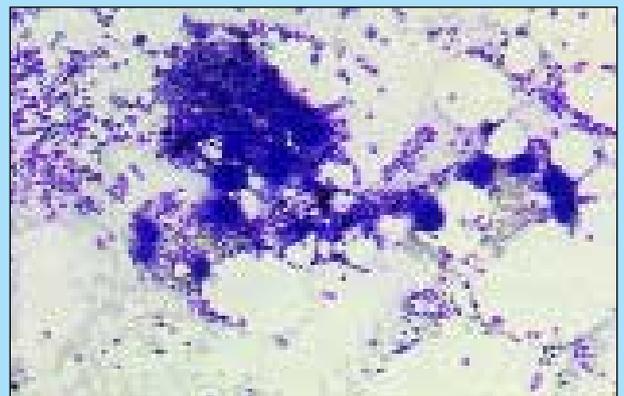


FIGURA 3 - Preparato citologico di midollo osseo in cui si rileva la presenza di iperplasia megacariocitaria. Le particelle di midollo osseo (un raggruppamento di cellule emopoietiche come indicato) normalmente contengono da tre a quattro megacariociti; quella in figura ne contiene almeno 12.

o aumentata è fortemente indicativo di trombocitosi reattiva secondaria a condizioni quali anemia emolitica immunomediata, recente emorragia grave, emorragia cronica o nefropatia e/o qualsiasi altra causa di carenza di ferro. Benché si debbano prendere in considerazione altre possibili diagnosi differenziali, può essere indicata l'esecuzione

Tabella 2
Diagnosi differenziale basata su ematocrito e conteggio leucocitario nella trombocitosi reattiva e in quella mieloproliferativa

	<i>Trombocitosi reattiva</i>	<i>Trombocitosi mieloproliferativa</i>
Ematocrito normale	Infiammazione cronica; infezione; contrazione splenica; carcinoma o linfosarcoma diffuso	Rari casi di policitemia vera con carenza di ferro; ET; leucemia mieloide; mielofibrosi in stadio precoce; patologie mieloproliferative associate a virus nel gatto
Ematocrito diminuito	Trombocitosi di ritorno in seguito a emorragia o consumo di eritrociti (immuno-mediato); nefropatia; parassiti eritrocitari (<i>Babesia</i>); infiammazione cronica; emorragia recente; carenza di ferro (parassitosi cronica grave); carcinoma o linfosarcoma diffuso	Rari casi di policitemia vera con carenza di ferro; ET con emorragie secondarie a disfunzioni piastriniche; leucemia mieloide; mielofibrosi; patologie mieloproliferative associate a virus nel gatto
Ematocrito aumentato	Policitemia secondaria (disordini cardiaci o polmonari, altitudine elevata); emoconcentrazione e contrazione splenica	Policitemia vera; ET
Conteggio leucocitario aumentato	Infiammazione cronica; infezione; fenomeni di ritorno dopo consumo di piastrine o eritrociti per cause immunomediate; carcinoma o linfosarcoma; conseguenza di terapie con G-CSF; morbo di Cushing	ET; leucemia mieloide; mielofibrosi precoce; patologia mieloproliferativa associata a virus nel gatto
Conteggio leucocitario diminuito	Sepsi; mielottosi con emopoiesi extramidollare significativa; terapia precoce con G-CSF	ET; leucemia mieloide; stadi avanzati di mielofibrosi; patologia mieloproliferativa associata a virus nel gatto

ET = trombocitemia essenziale; G-CSF = fattore stimolante la crescita di colonie granulocitarie.

di ulteriori test quali analisi delle urine, profilo biochimico, conta dei reticolociti, esame coprologico, test di Coombs, esame dello striscio per la ricerca di parassiti ematici, tempo di coagulazione attivato o coagulogramma e ricerca attenta di ectoparassiti o di segni indicanti un trauma recente. Il reperto di iperpiastrinemia in un contesto di anemia lieve o moderata è maggiormente rappresentativo del tipico emogramma dei pazienti con trombocitemia essenziale; tuttavia, è necessario escludere una trombocitosi reattiva secondaria a infiammazione cronica o a nefropatia. Se il dato più rilevante dell'esame emocromocitometrico è un'iperleucocitosi marcata o uno spostamento a sinistra significativo della formula leucocitaria (associato a iperpiastrinemia) bisogna sospettare l'esistenza di un processo infettivo e/o di una malattia immunomediata. In questi casi, la valutazione del soggetto comprenderà la ricerca degli anticorpi antinucleari, la misurazione dei titoli di IgM e IgG anti-toxoplasma, la ricerca di *Hepatozoon* nel *buffy coat*, le emocolture e l'esame radiografico del torace per rilevare eventuali malattie micotiche. Infine, reperti quali obesità del tronco, alopecia, epatomegalia e poliuria suggeriscono la presenza del morbo di Cushing quale causa primaria di trombocitosi.

L'assenza di cause chiare all'origine della trombocitosi reattiva in un soggetto con iperpiastrinemia persistente e di notevole entità richiede l'esame citologico del midollo osseo. Spesso è difficile prevedere un'infiltrazione midollare precoce da parte di cellule metastatiche sulla base del solo esame emocromocitometrico; infatti è possibile che l'attività emopoietica extramidollare mascheri il deterioramento funzionale del midollo. Il conteggio piastrinico può variare in misura significativa a causa dei fenomeni di sequestro e rilascio negli organi emopoietici secondari aumentati di volume, quali milza e fegato. Analogamente, spesso è impossibile rilevare i processi di mielofibrosi in

stadio precoce, antecedente la pancitopenia, senza ricorrere all'esame del midollo osseo. Il sospetto di malattia mieloproliferativa deve insorgere quando si rilevino aumenti o diminuzioni significative degli elementi appartenenti a diverse linee cellulari oppure quando all'esame dello striscio si evidenzino cellule emopoietiche immature, blastiche o comunque alterate morfologicamente. Nei soggetti con aumenti notevoli del numero di eritrociti bisogna escludere l'esistenza di cause secondarie di policitemia (ad es. ipossia cronica o cardiopatie) prima di sospettare un disordine clonale a carico dei precursori eritrocitari.

La diagnosi di trombocitemia essenziale viene formulata quando sia stato escluso uno stato di trombocitemia reattiva e l'esame citologico del midollo osseo o del sangue periferico riveli la presenza di piastrine o megacariociti (MK) anomali (benché sia stato segnalato un caso di sospetta trombocitemia essenziale in un gatto senza che quest'ultimo criterio fosse soddisfatto).³ Inoltre, l'esame dello striscio e le valutazioni citologica e bioptica del midollo osseo non devono rivelare segni indicanti patologie mieloproliferative a carico di altre linee cellulari, come la leucemia mieloide, la mielofibrosi o la policitemia vera (nel qual caso, l'iperpiastrinemia si definisce più propriamente "trombocitosi mieloproliferativa"). È particolarmente difficile escludere la policitemia vera basandosi unicamente sul conteggio degli elementi figurati del sangue e il midollo deve essere esaminato attentamente per assicurarsi che le scorte di ferro siano adeguate. Nei soggetti con esaurimento dei depositi midollari di ferro, la mancata normalizzazione numerica delle piastrine dopo la somministrazione dell'elemento (integrazione per 1 mese) esclude categoricamente uno stato di deficit sideremico o una trombocitosi associata a policitemia vera. La diagnosi definitiva di trombocitemia essenziale viene formulata applicando i criteri consigliati dal Polycythemia Vera Study

Group^a (vedi Criteri Diagnostici per la Trombocitemia Essenziale nell'Uomo), modificati in modo da adattarli al campo veterinario, unitamente agli ulteriori parametri di iperplasia megacariocitaria^{5,6} e di alterazione morfologica di piastrine e/o megacariociti (Fig. 4).^{2,7,8} Altri reperti convalidanti la diagnosi^{4,6,9,10} (che negli animali non dovrebbero essere considerati fondamentali ai fini diagnostici date le differenze cliniche e conformazionali rispetto agli esseri umani) sono rappresentati da splenomegalia e disfunzioni piastriniche. I test di ploidia megacariocitaria, misurazione dei livelli sierici di interleukina (IL) -6 e di crescita spontanea delle colonie progenitrici non sono comunemente disponibili nella pratica veterinaria (vedi Recenti Progressi Diagnostici). Questi test, tuttavia, se e quando risulteranno più accessibili costituiranno un ulteriore sostegno diagnostico.

TRATTAMENTO E PROGNOSI

Le scelte terapeutiche disponibili nella trombocitemia essenziale sono simili a quelle utilizzate nella policitemia vera e in altre patologie mieloproliferative. I farmaci ad azione mielosoppressiva citoriduttrice rappresentano tuttora il fulcro della terapia e quelli maggiormente utilizzati comprendono fosforo radioattivo (³²P), agenti alchilanti, antimetaboliti e, più recentemente, idrossiurea.

L'idrossiurea viene considerata quale trattamento di prima scelta nei soggetti sintomatici affetti da patologie mieloproliferative. Agisce inattivando l'enzima ribonucleotide-riduttasi, inibendo per tale via la sintesi di DNA a partire dai ribonucleotidi. Nel cane e nel gatto, i dosaggi efficaci del farmaco sono ampi, variando da 25 a 50 mg/kg al giorno, per via orale, per 10 giorni oppure fino alla normalizzazione dei conteggi cellulari, momento in cui la posologia si riduce a 15 mg/kg/giorno.^{11,12} Nel gatto, le capsule da 500 mg possono essere suddivise dal farmacista in quattro parti e somministrate per via orale come dosi singole da 125 mg ogni 24 o 48 ore.¹¹

In medicina umana, uno dei principali problemi è lo sviluppo di forme leucemiche acute associate alla terapia stessa. Nella maggior parte degli animali, l'idrossiurea non è considerata un tipico agente mutageno¹⁴, a differenza di antimetaboliti, agenti alchilanti e isotopi radioattivi.¹³ Tuttavia, nell'uomo è stato segnalato lo sviluppo tardivo di mielodisplasia e leucemia acuta in seguito all'uso di questo farmaco.^{15,16} Questo aspetto non è particolarmente rilevante negli animali, in cui la durata residua di vita è relativamente breve data l'età solitamente avanzata al momento della formulazione della diagnosi del disturbo e della patologia mieloproliferativa che ne è alla base.

Gli agenti alchilanti (farmaci aspecifici del ciclo cellulare che provocano il *cross-link* del DNA), quali ciclofosfamide, clorambucil e melphalan, somministrati singolarmente oppure associati ad altri agenti, sono stati impiegati con successo variabile.¹³ Gli antimetaboliti (ad es. citosina arabinoside) inibiscono la sintesi degli acidi nucleici e sono stati utilizzati nell'ambito di protocolli combinati.^{1,11} Altri agenti, come il ³²P, sono stati utilizzati con successo sia in ambito umano che veterinario per ottenere remissioni a lungo termine di patologie mieloproliferative; tuttavia, la disponibilità di questa terapia è limitata agli istituti do-

CRITERI PER LA DIAGNOSI DELLA TROMBOCITEMIA ESSENZIALE NELL'UOMO^a

- Conteggio piastrinico superiore a $600 \times 10^9/l^b$ ($> 700 \times 10^9 / L$ negli animali)
- Rapporto normale fra massa eritrocitaria ed ematocrito
- Ferro colorabile nel midollo osseo o insuccesso delle prove di integrazione (l'integrazione di ferro per 1 mese non comporta un aumento significativo dell'emoglobina)
- Assenza di ricombinazioni del cromosoma Philadelphia o del gene *bcr/abl*^b
- Assenza di fibrosi del collagene del midollo osseo; oppure fibrosi a carico di meno di un terzo dell'area bioptica di midollo e assenza di segni di splenomegalia e di reazione leucoeritroblastica
- Assenza di segni citogenetici o morfologici riferibili a sindrome mielodisplastica
- Assenza di cause note di trombocitosi reattiva (assenza di segni di infiammazione, ecc)

^a Consigli dal Polycythemia Vera Study Group, 1986,³⁴ aggiornati al 1997.³⁵

^b Questi criteri non sono adatti negli animali.

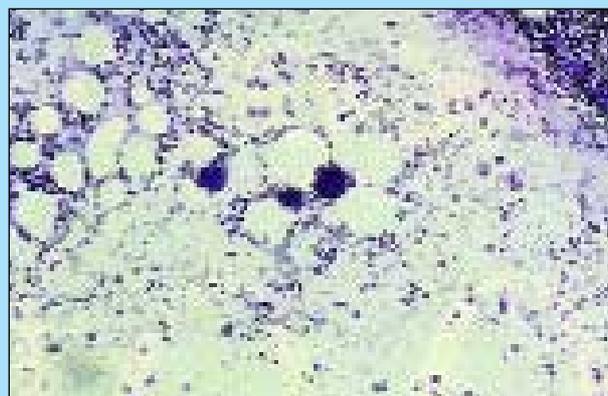


Figura 4A

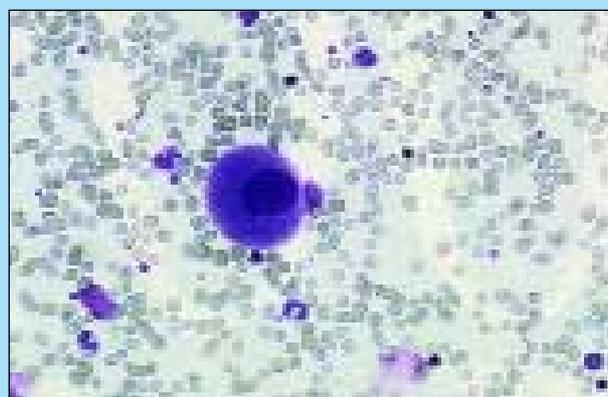


Figura 4B

FIGURA 4 - (A e B) Immagine citologica di midollo osseo in cui si evidenzia la presenza di displasia megacariocitaria. Rispetto a un megacariocita normale, quelli in figura sono morfologicamente anomali con rapporto nucleo:citoplasma ridotto e ploidia nucleare anomala.

tati di strutture adatte a manipolare gli isotopi radioattivi e a trattare le conseguenze legate al loro uso.¹⁷ Diverse pubblicazioni forniscono informazioni relative a protocolli, posologie, effetti collaterali e strategie consigliate per l'uso di questi agenti chemioterapici nel trattamento delle patologie mieloproliferative.^{11,18}

Gli agenti modificatori della risposta biologica sono stati recentemente oggetto di grande attenzione in ambito oncologico sia umano che veterinario.¹⁹ L'interferon- α è stato utilizzato con notevole successo quale terapia complementare in pazienti umani affetti da trombocitemia essenziale²⁰ e da altre patologie mieloproliferative e sembra eserciti i propri effetti inibitori sulla megacariocitopoiesi.^{21,22} L'interferon- α ricombinante umano è stato somministrato in gatti infettati a scopo sperimentale con il virus della leucemia felina ed è stato osservato che i soggetti trattati erano predisposti in misura significativamente minore allo sviluppo di complicazioni fatali.²³ L'aspetto più importante è che studi di questo tipo possono aprire la strada all'uso di routine dell'interferon- α ricombinante umano e di altre citochine ricombinanti umane nel trattamento delle malattie mieloproliferative degli animali.

L'anagrelide è un nuovo inibitore della fosfodiesterasi in grado di indurre una riduzione dose-dipendente del numero delle piastrine circolanti nei pazienti umani affetti da trombocitosi essenziale e da altre trombocitosi mieloproliferative, senza provocare tossicità midollare a carico di altre linee cellulari.^{24,25} Il meccanismo dell'azione trombocitopenica del farmaco non è stato completamente chiarito, benché sembri che sia metabolizzato in una sostanza ritardante la maturazione dei megacariociti.²⁶ Tuttavia, ricerche preliminari suggeriscono che la via metabolica deputata a potenziare l'effetto terapeutico della sostanza sia una prerogativa esclusiva della specie umana.²⁶ Ricerche preliminari condotte presso la Auburn University dimostrano l'assenza di effetti nei cani normali; pertanto, è consigliabile continuare ad utilizzare altri agenti fintanto che non sia disponibile un maggior numero di dati sull'anagrelide.

Altre strategie terapeutiche, quali l'emaferesi piastrinica, garantiscono la diminuzione rapida delle piastrine circolanti e vengono impiegate in medicina umana nei soggetti affetti da trombocitemia essenziale che richiedono un intervento chirurgico o che sono comunque predisposti allo sviluppo di lesioni trombotiche microvascolari.^{27,28} Tuttavia, la procedura non garantisce un controllo a lungo termine e non è facilmente disponibile in ambito veterinario. Infine, i farmaci che riducono l'aggregazione piastrinica, quali l'acido acetilsalicilico, nei pazienti umani comportano minore incidenza di complicazioni sia di natura trombotica che emorragica,^{27,29} mentre negli animali con trombocitemia emorragica non sono stati ancora dimostrati gli stessi vantaggi definitivi. L'intervento di splenectomia comporta unicamente un aggravamento della patologia ed è controindicato.^{30,32}

La possibilità di fornire una prognosi ai proprietari degli animali affetti da trombocitemia essenziale o da qualsiasi altra patologia mieloproliferativa in definitiva dipende dalla capacità di distinguere in modo accurato e affidabile i diversi disordini del sistema emopoietico. Nei pazienti umani con trombocitemia essenziale diagnosticata adeguatamente, la prognosi è significativamente più favorevole che nella maggior parte delle leucemie non linfoidi,

in particolare le forme acute. Le segnalazioni preliminari in ambito veterinario suggeriscono che questa osservazione è applicabile anche agli animali; in seguito a trattamento, molti soggetti mostrano remissioni parziali o complete della durata di parecchi mesi o eventualmente anni.^{1,17,30}

RECENTI PROGRESSI IN CAMPO DIAGNOSTICO

Nel trattamento della trombocitemia essenziale umana, non sono state segnalate ulteriori novità terapeutiche oltre all'uso dell'anagrelide. Molti ricercatori continuano a impegnarsi in ricerche attive con l'obiettivo principale di migliorare efficienza e accuratezza diagnostiche. I recenti impegni nello sviluppo di criteri positivi per la diagnosi hanno indotto a ricercare segni distintivi specifici per l'affezione o quanto meno dati più affidabili che consentano di escluderla. La IL-6 è una citochina prodotta dai linfociti B e T e da varie linee di cellule tumorali e rappresenta una sostanza reattiva di fase acuta che riveste un ruolo importante nelle risposte immunitarie. Inoltre, stimola la risposta epatica in fase acuta e riveste un ruolo nella megacariocitopoiesi.^{33,34} Diversi ricercatori hanno misurato i livelli di IL-6 in pazienti con forme di trombocitosi di varia origine e i valori registrati erano significativamente più elevati nei soggetti con trombocitosi reattiva che in quelli con trombocitosi essenziale o nei controlli.^{34,35} Quando i test sierologici per la misurazione di IL-6 verranno resi maggiormente disponibili in ambito veterinario, probabilmente si riveleranno utili per distinguere fra le due forme di trombocitosi.

Il fibrinogeno è un'altra sostanza di reazione della fase acuta i cui livelli aumentano significativamente nei soggetti con trombocitosi reattiva rispetto a quelli in cui la condizione è associata a patologie mieloproliferative.³⁶ Tuttavia, gli intervalli dei livelli "normali" di fibrinogeno negli animali variano a seconda della specie, limitando l'applicazione di questo parametro nella differenziazione fra trombocitosi reattiva e trombocitosi essenziale. Inoltre, poiché quest'ultima può essere accompagnata da emorragie e fatti trombotici, il fibrinogeno e altri agenti reattivi di fase acuta possono essere elaborati in seguito a fenomeni di necrosi ischemica o ad altre conseguenze di eventi vascolari di questo tipo.

Altri parametri di laboratorio studiati nel tentativo di distinguere fra trombocitosi essenziale e trombocitosi reattiva comprendono risposte di aggregazione piastrinica al collagene, all'adrenalina ed all'ADP e la misurazione dell'antigene del fattore di von Willebrand.^{36,37} In generale, i livelli di quest'ultimo e di altre proteine di fase acuta risultavano elevati nei pazienti umani con trombocitosi reattiva e non in quelli con trombocitosi essenziale, mentre le risposte anomale agli agonisti piastrinici venivano osservate nei pazienti colpiti dalla forma essenziale della malattia e non da quella reattiva.^{36,37} Negli animali da compagnia è improbabile che questi test siano utili nella pratica di routine per distinguere fra le due forme di trombocitosi considerando costi, assenza di dati sperimentali negli animali e scarsità di laboratori veterinari in cui si eseguano test di funzionalità piastrinica. Ciononostante, il test aggregometrico delle piastrine, se disponibile, si rivela estremamente utile per sostenere una diagnosi e orientare la terapia.

Altri ricercatori hanno confrontato la frequenza dell'em-

peripolesi megacariocitaria in pazienti affetti da trombocitosi di diversa origine.³⁸ L'emperipolesi è il processo di fagocitosi di una cellula da parte di un'altra, senza la conseguente fusione dei vacuoli lisosomiali. A differenza della fagocitosi tradizionale, che termina tipicamente con la digestione e l'eliminazione definitiva della cellula ingerita e spesso con un danno anche a carico della cellula fagocitante, l'emperipolesi raramente comporta danni a carico di qualsiasi cellula ed è responsabile dello sviluppo degli elementi giganti che spesso si notano all'esame istopatologico di biopsie tumorali. In uno studio piuttosto recente,³⁸ il processo di emperipolesi in ambito megacariocitario è stato evidenziato nel 77% dei soggetti con trombocitosi essenziale, nel 100% di quelli con policitemia vera, nel 17% di quelli con leucemia granulocitaria cronica, nel 66% dei casi di malattia mieloproliferativa non classificata e nel 75% delle forme di trombocitemia reattiva. Ad eccezione della leucemia granulocitaria cronica, non esistevano differenze statistiche significative nell'incidenza dell'emperipolesi fra le diverse categorie di patologia mieloproliferativa né fra trombocitosi mieloproliferativa e trombocitosi reattiva.

Un test piuttosto utile per valutare le diagnosi differenziali in caso di iperpiastrinemia prevede l'analisi e il confronto dei quadri di ploidia megacariocitaria, benché le osservazioni condotte da diversi ricercatori non coincidano sempre.³⁹⁻⁴¹ I megacariociti provenienti da aspirati di midollo osseo non frazionati vengono identificati facilmente mediante anticorpi monoclonali marcati con fluoresceina e quindi analizzati efficacemente ricercando il DNA marcato mediante flussocitometria a due colori. In uno studio molto recente, la ploidia megacariocitaria è stata misurata in 29 soggetti con malattie mieloproliferative croniche e coesistente trombocitosi (8 con policitemia vera, 17 con trombocitosi essenziale e 4 con leucemia mieloide cronica), 9 soggetti con trombocitemia essenziale e 12 individui sani di controllo.³⁹ Il valore medio di ploidia megacariocitaria nei soggetti di controllo e in quelli con trombocitemia reattiva era pari a 16N, mentre negli individui con trombocitosi essenziale o policitemia vera era pari a 32N. Nei soggetti con leucemia mieloide cronica, tale parametro era significativamente più basso di quello osservato nelle altre due forme mieloproliferative e anche rispetto a quello rilevato nei controlli o nei casi di trombocitemia reattiva.³⁹ Nell'uomo, la presenza del cromosoma Philadelphia è un indice utile di leucemia mielogenica cronica, mentre in ambito veterinario occorre affidarsi a dati ausiliari, come la ploidia megacariocitaria, quando altri dati risultano equivoci.

La recente scoperta di disparati quadri di crescita dei precursori megacariocitari in coltura fra individui affetti da trombocitemia essenziale e trombocitemia reattiva e

oggetti di controllo promette di ampliare la breve lista dei criteri positivi "in buona fede" su cui basare la diagnosi di trombocitemia essenziale. Molteplici studi hanno oggi dimostrato chiaramente che il midollo osseo in coltura e le cellule progenitrici emopoietiche circolanti provenienti da soggetti con trombocitemia essenziale generano colonie megacariocitarie ed eritroidi spontanee o "non stimulate" (rispettivamente precursore megacariocitico formante colonie e precursore eritrocitario formante colonie a scoppio).^{42,44} Benché i dati ottenuti da colture prive di siero⁴⁵ oppure da colture incubate in fattori di crescita (quali eritropoietina e fattori rilasciati da leucociti stimolati dalle fitoagglutinine)⁴³ siano alquanto più equivoci, indubbiamente lo sviluppo *non stimolato* di precursori megacariocitici formanti colonie e/o precursori eritrocitari formanti colonie a scoppio in coltura esclude la trombocitosi reattiva quale diagnosi differenziale e coincide nettamente con la trombocitosi mieloproliferativa (Tabb. 3 e 4).⁴²⁻⁴⁴ Inoltre, uno studio ha dimostrato

Tabella 3
Percentuale di pazienti umani in cui i precursori emopoietici nel sangue periferico o nel midollo osseo inducono crescita spontanea (non stimolata) di colonie in coltura^{42,44}

	<i>Trombocitemia essenziale</i>	<i>Trombocitemia reattiva</i>	<i>Controlli</i>
CFU - Meg ⁴²	63 (n = 60)	0 (n = 0)	0 (n = 21)
BFU - E ⁴²	70	0	0
CFU - Meg e BFU - E ⁴²	40	0	0
CFU - Meg e/o BFU - E ⁴²	91	0	0
Nessuna colonia formata ⁴²	9	0	0
CFU - Meg ⁴⁴	69 (n = 61)	0 (n = 22)	0 (n = 44)
BFU - E ⁴⁴	59	0	0
CFU - Meg e BFU-E ⁴⁴	51	0	0
CFU- Meg soltanto ⁴⁴	18	0	0
BFU - E soltanto ⁴⁴	77	0	0
CFU - Meg/BFU-E ⁴⁴	77	0	0
Nessuna colonia formata ⁴⁴	23	0	0

BFU - E = precursore eritrocitario formante colonie "a scoppio";
CFU-Meg = precursore megacariocitario formante colonie.

Tabella 4
Percentuale di pazienti umani in cui i precursori megacariocitari del midollo osseo inducono la crescita spontanea di colonie in coltura⁴³

	<i>Trombocitemia essenziale</i>	<i>Policitemia vera</i>	<i>Leucemia mieloide cronica</i>	<i>Trombocitosi reattiva</i>	<i>Controlli</i>
CFU - Meg	100 (n = 24)	55 (n = 20)	44 (n = 16)	0 (n = 20)	0 (n = 18)
BFU - F	88	100	6	0	0

BFU-E = precursori eritrocitari formanti colonie "a scoppio"; *CFU - Meg* = precursori megacariocitari formanti colonie.

che la formazione spontanea di colonie è anche correlata positivamente ad un maggiore rischio di complicazioni tromboemboliche o emorragiche.⁴⁴

Sicuramente alcuni fra i test di più recente sviluppo (ploidia megacariocitica, livelli sierici di IL-6 e crescita spontanea di colonie progenitrici) miglioreranno l'accuratezza diagnostica in misura tale da essere inclusi fra i criteri maggiormente utilizzati per la diagnosi di trombocitemia essenziale. Benché al momento attuale la maggior parte di questi test sia disponibile unicamente presso istituti di ricerca o cliniche universitarie, il numero crescente di professionisti e di proprietari che desidera intraprendere il trattamento delle malattie mieloproliferative negli animali potrebbe avviare un mercato che incoraggi la ricerca nell'ambito di questo settore dell'oncologia veterinaria.

Note sull'Autore

Il Dr. Chisholm-Chait è affiliato al Small Animal Surgery and Medicine Department, College of Veterinary Medicine, Auburn University, Alabama.

Bibliografia

- Simpson JW, Else RW, Honeyman P: Successful treatment of suspected essential thrombocythaemia in the dog. *J Small Anim Pract* 31(7):345-348, 1990.
- Hopper PE, Mandell CP, Turrel JM, et al: Probable essential thrombocythemia in a dog. *J Vet Intern Med* 3(2):79-85, 1989.
- Hammer AS, Couto CG, Getzy D, Bailey MQ: Essential thrombocythemia in a cat. *J Vet Intern Med* 4(2):87-91, 1990.
- Hehlmann R, Jahn M, Bawmann B, et al: Essential thrombocythemia. Clinical characteristics and course of 61 cases. *Cancer* 61:2487-2496, 1988.
- Kutti J, Wadenvik H: Diagnostic and differential criteria of essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Leuk Lymphoma* 22(Suppl 1):41-45, 1996.
- Michiels JJ: Criteria for the clinicopathological diagnosis of primary thrombocythaemia. First Meeting of the European Haematology Association. European Working Group on the Myeloproliferative Syndromes, 1994.
- Tablin F, Jain NC, Mandell CP, et al: Ultrastructural analysis of platelets and megakaryocytes from a dog with probable essential thrombocythemia. *Vet Pathol* 26(4):289-293, 1989.
- Thiele J, Schneider G, Hoepfner B, et al: Histomorphometry of bone marrow biopsies in chronic myeloproliferative disorders with associated thrombocytosis—Features of significance for the diagnosis of (essential) thrombocythaemia. *Virchows Arch [A]* 413:407-417, 1988.
- Zahavi J, Zahavi M, Firsteter E, et al: An abnormal pattern of multiple platelet function abnormalities and increased thromboxane generation in patients with primary thrombocytosis and thrombotic complications. *Eur J Haematol* 13: 9-15, 1991.
- Dudley JM, Messinezy M, Eridani S, et al: Primary thrombocythaemia: Diagnostic criteria and a simple scoring system for positive diagnosis. *Br J Haematol* 71:331-335, 1989.
- Young KM, MacEwen EG: Canine myeloproliferative disorders, in Withrow SJ, MacEwen EG (eds): *Small Animal Clinical Oncology*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1996, pp 495-505.
- Peterson ME, Randolph JK: Diagnosis of canine primary polycythemia and management with hydroxyurea. *JAVMA* 180:415-418, 1982.
- Carneskog J, Wadenvik H, Fjalling M, Kutti J: Assessment of spleen size using gamma camera scintigraphy in newly diagnosed patients with essential thrombocythaemia and polycythaemia vera. *Eur J Haematol* 56(3):158-162, 1996.
- Donehower RC: Hydroxyurea, in Chaner B (ed): *Pharmacological Principles of Cancer Treatment*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1982, p 269.
- Anker-Lugtenberg PJ: Myelodysplastic syndrome and secondary acute leukemia after treatment of essential thrombocythemia with hydroxyurea. *Am J Hematol* 33:152, 1990.
- Weinfeld A, Swolin B, Westin J: Acute leukemia after hydroxyurea therapy in polycythemia vera and allied disorders: Prospective studies of efficacy and leukaemogenicity with therapeutic implications. *Eur J Haematol* 52:134-139, 1994.
- Smith M, Turrel JM: Radiophosphorus (³²P) treatment of bone marrow disorders in dogs: 11 cases (1970-1987). *JAVMA* 194(1):98-102, 1989.
- Frazier DL, Hahn KA: Commonly used drugs, in Hahn KA, Richardson RC (eds): *Cancer Chemotherapy, A Veterinary Handbook* Baltimore, Williams & Wilkins, pp 106-107, 1995.
- MacEwen EG: Biological response modifiers: The future of cancer therapy? *Vet Clin North Am* 20(4):1055-1073, 1990.
- Lengfelder E, Griesshammer M, Hehlmann R: Interferon-alpha in the treatment of essential thrombocythemia. *Leuk Lymphoma* (22 Suppl 1):135-142, 1996.
- Wadenvik H, Kutti J, Ridell B, et al: The effect of alpha-interferon on bone marrow megakaryocytes and platelet production rate in essential thrombocythemia. *Blood* 77:2103-2108, 1991.
- Ganser A, Carlo-Stella C, Greher J, et al: Effect of recombinant interferons alpha and gamma on human bone marrow derived megakaryocyte progenitor cells. *Blood* 70:1173-1179, 1987.
- Cummins JM, Tompkins MF, Olsen RG, et al: Oral use of human interferon alpha in cats. *J Biol Res Mod* 7:513, 1988.
- Silverstein MN, Pettitt RM, Solberg LA Jr, et al: Anagrelide: A new drug for treating thrombocytosis. *N Engl J Med* 318 (20):1292-1294, 1988.
- Balduni CL, Bertolino G, Noris P, Ascari E: Effect of anagrelide on platelet count and function in patients with thrombocytosis and myeloproliferative disorders. *Haematologica* 77(1):40-43, 1992.
- Pettitt RM, Silverstein MN, Petrone ME: Anagrelide for control of thrombocythemia in polycythemia and other myeloproliferative disorders. *Semin Hematol* 34(1):51-54, 1997.
- Frenkel EP: The clinical spectrum of thrombocytosis and thrombocythemia. *Am J Med Sci* 301(1):69-80, 1991.
- Schafer A: Bleeding and thromboses in the myeloproliferative disorders. *Blood* 64:1-12, 1984.
- Mitus AJ, Barbui T, Shulmar LN, et al: Hemostatic complications in young patients with essential thrombocythemia. *Am J Med* 88:371-375, 1990.
- Degen MA, Feldman BF, Turrel JM, et al: Thrombocytosis associated with a myeloproliferative disorder in a dog. *JAVMA* 194(10):1457-1459, 1989.
- Feldman BF, Thomason KJ, Jain NC: Quantitative platelet disorders. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 18(1):35-49, 1988.
- Benzinger TA, Logue GL, Rundles RW: Hemorrhagic thrombocythemia; control of postsplenectomy thrombocytosis with melphalan. *Blood* 36:61-69, 1970.
- Warren MK, Conrot LB, Rose JS: The role of C6 and interleukin 1 in megakaryocyte development. *Exp Hematol* 17:1095-1099, 1989.
- Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, Burstein SA: Serum interleukin-6 levels in patients with thrombocytosis. *Leuk Lymphoma* 8(3):235-241, 1992.
- Tefferi A, Ho TC, Ahmann GJ, et al: Plasma interleukin-6 and C-reactive protein levels in reactive versus clonal thrombocytosis. *Am J Med* 97(4):374-378, 1994.
- Majer RV, Dawe A, Weir P, et al: Which tests are most useful in distinguishing between reactive thrombocytosis and the thrombocytosis of myeloproliferative disease? *Clin Lab Haematol* 13:9-15, 1991.
- Messinezy M, Westwood N, Sawyer B, et al: Primary thrombocythaemia: A composite approach to diagnosis. *Clin Lab Haematol* 16(2):139-148, 1994.
- Cashell AW, Buss DH: The frequency and significance of megakaryocytic emperipolesis in myeloproliferative and reactive states. *Ann Hematol* 64(6):273-276, 1992.
- Jacobsson S, Carneskog J, Ridell B, et al: Flow cytometric analysis of megakaryocyte ploidy in chronic myeloproliferative disorders and reactive thrombocytosis. *Eur J Haematol* 56(5):287-292, 1996.
- Kanz L, Hollen C, Friese P, et al: Analysis of megakaryocyte ploidy in patients with thrombocytosis. *Int J Cell Cloning* 8:299-306, 1990.
- Conklin RJ, Tomer A, Friese P, et al: Flow cytometric analysis of megakaryocytes (MKs) from patients with platelet disorders. *Prog Clin Biol Res* 356:303-317, 1990.
- Florensa L, Besses C, Woessner F, et al: Endogenous megakaryocyte and erythroid colony formation from blood in essential thrombocythemia. *Leukemia* 9:271-273, 1995.
- Rolovic Z, Basara N, Gotic M, et al: The determination of spontaneous megakaryocyte colony formation is an unequivocal test for discrimination between essential thrombocythaemia and reactive thrombocytosis. *Br J Haematol* 90(2):326-331, 1995.
- Juvonen E, Ikkala E, Oksanen K, Ruutu T: Megakaryocyte and erythroid colony formation in essential thrombocythaemia and reactive thrombocytosis: Diagnostic value and correlation to complications. *Br J Haematol* 83(2):192-197, 1993.
- Sawyer BM, Westwood NB, Pearson TC: Circulating megakaryocytic progenitor cells in patients with primary thrombocythaemia and reactive thrombocytosis: Results using a serum-deprived culture assay and a positive detection technique. *Eur J Haematol* 53(2):108-113, 1994.