

APPROCCIO DIAGNOSTICO E CHEMIOTERAPICO IN UN CASO DI LEUCEMIA MONOCITICA ACUTA (M5) FELINA

MASSIMO MINELLI*, BARBARA MINISCALCO**, ROBERTA GUGLIELMINO**

*Libero professionista – Via Monte Grappa, 6 – 13030 Pertengo (VC)

**Dipartimento di Patologia Animale – Via Nizza, 52 - 10126 Torino

Riassunto

Viene descritto un caso di leucemia monocitica acuta in un gatto europeo femmina di 6 anni, che presentava anoressia, dimagrimento, emesi e polidipsia. L'esame ematologico evidenziava anemia, piastrinopenia e leucocitosi (264.000/mm³), caratterizzata da cellule dall'aspetto monocitoide. La terapia messa in atto (citosina arabinoside, 6-mercaptopurina, prednisone) induceva una netta riduzione del numero dei leucociti e la remissione della sintomatologia con tempo di sopravvivenza di 60 giorni. Gli autori ritengono opportuno segnalare tale caso data la rarità della patologia, le metodiche diagnostiche utilizzate (colorazioni citochimiche ed immunofenotipizzazione) e la risposta dell'animale al trattamento chemioterapico.

Summary

A case of acute monocytic leukaemia in a 6-year-old short-hair female cat with anorexia, weight loss, vomiting and polydipsia is described. Haematological findings included anaemia, thrombocytopenia and leucocytosis (264.000/mm³), characterised by the prevalence of monocytoid cells. Chemotherapy (cytosine arabinoside, 6-mercaptopurine, prednisone) induced clear reduction of leukocyte count and remission of clinical signs with a 60 days survival time. This case is considered interesting because of rarity of disease, diagnostic techniques (cytochemical stainings and immunophenotyping) and response to treatment.

INTRODUZIONE

Le neoplasie ematopoietiche nella specie felina colpiscono circa 200 soggetti su 100.000, di età compresa fra i 3 ed i 6 anni; di queste il 39% sono leucemie, mentre il rimanente 61% è rappresentato da linfomi¹.

L'80% dei gatti affetti da disordini mielo e linfoproliferativi risulta positivo al FeLV¹.

Fra le patologie mieloproliferative feline la leucemia monocitica acuta è riscontrata raramente^{2,3,4}.

Gli Autori ritengono opportuno segnalare il presente caso clinico anche se, a causa del mancato consenso del proprietario, non è stato possibile effettuare l'esame sierologico per FIV e FeLV e l'esame citologico del midollo osseo. La rarità della leucemia monocitica acuta e la particolare risposta del paziente alla chemioterapia antineoplastica sono le motivazioni che hanno indotto gli Autori alla presente segnalazione.

CASO CLINICO

Una gatta europea di 6 anni, non sterilizzata, di nome Micia, veniva condotta alla visita clinica. Micia viveva confinata in appartamento dall'età di 3 mesi in compagnia di un'altra gatta, di 5 anni, entrambi gli animali non avevano ricevuto alcun tipo di vaccinazione.

L'anamnesi recente segnalava da 3-4 giorni un netto dimagrimento, disoressia ed anoressia da circa 24 ore con emesi e polidipsia senza apparente poliuria.

L'esame obiettivo generale evidenziava: stato di nutrizione scadente, pallore delle mucose apparenti, ittero e depressione del sensorio. I linfonodi esplorabili risultavano nella norma, così come la temperatura rettale, la frequenza respiratoria e cardiaca.

All'esame obiettivo particolare dell'addome si rilevava epatomegalia ed una massa palpabile in regione epigastriaca di consistenza duro-elastica, indolente.

L'esame emocromocitometrico (Tab. 1) evidenziava un'anemia normocitica normocromica ed estrema leucocitosi caratterizzata da neutrofilia e dalla presenza di cellule che, nello striscio di sangue colorato con May-Grünwald-Giemsa (MGG), apparivano di dimensioni variabili, con nucleo a margini irregolari e clivature, cromatina addensata in masserelle, rari nucleoli e citoplasma basofilo generalmente abbondante, talvolta più scarso, contenente in alcuni casi vacuoli (Fig. 1A). Si osservava inoltre anisocitosi, senza evidenza di segni di rigenerazione, e la presenza di rarissime piastrine di piccole dimensioni, indici di forte coinvolgimento midollare. La ricerca di *Haemobartonella felis* dava esito negativo.

I valori degli esami ematochimici erano nella norma, ad eccezione dell'azoto ureico (37,1 mg/dl) e della bilirubina totale (2,9 mg/dl), che risultavano aumentati.

La morfologia dei leucociti del sangue periferico indirizzava verso una diagnosi di leucemia mieloide con componente monocitica.

Tuttavia la presenza di cellule poco differenziate, con alto rapporto nucleo/citoplasma (Fig. 1B), rendeva necessaria la diagnosi differenziale con la leucemia linfoide, malattia nella quale le cellule possono talvolta presentare nuclei clivati⁵.

Pertanto, al fine di impostare un protocollo chemioterapico specifico, si è proceduto con ulteriori indagini, quali la determinazione del fenotipo immunologico e le colorazioni citochimiche.

L'immunofenotipo è stato determinato mediante esame citofluorimetrico (con citofluorimetro FACScan Becton Dickinson) su sangue periferico utilizzando anticorpi monoclonali anti-CD5 (CF255A), CD4 (EVA3008/VPG39), CD8 (EVA3008/VPG9), CD21 (CA2.1D3) e MHCII. Tale analisi evidenziava la presenza di una popolazione cellulare omogenea che risultava positiva esclusivamente all'MHCII, marker di superficie di linfociti B, T e dei monociti⁶.

Si è resa necessaria perciò l'esecuzione delle seguenti colorazioni citochimiche: perossidasi (Px), fosfatasi alcalina (ALP), Sudan Nero B (SBB), α -naftil acetato esterasi (NAE) con e senza inibizione con fluoruro, cloro acetato esterasi (CAE), acido periodico di Schiff (PAS) e fosfatasi acida (ACP).

Si è ottenuta positività al SBB con fini granulazioni, alla NAE (Fig. 2) con attività inibita dal fluoruro e debole positività granulare all'ACP. La positività al SBB indica

cellule sia granulocitiche che monocitiche, mentre la presenza dell'enzima NAE inibito dal fluoruro è specifica della linea monocitaria³. L'ACP, infine, presente normalmente nei linfociti, è anche descritta, in medicina umana, nelle cellule della leucemia monocitica acuta⁷.

In base ai risultati ottenuti, si è perciò classificata tale leucemia come monocitica o M5 secondo la classificazione FAB, adattata al cane e al gatto⁸.

Veniva perciò applicato il protocollo chemioterapico riportato nella Tabella 2 e consistente di due farmaci antimetaboliti, l'analogo pirimidinico citosina arabinoside e l'analogo purinico 6-mercaptopurina, e di prednisone. I farmaci suddetti sono stati impiegati, con posologie diverse, sia nella fase di induzione della remissione, sia nella fase di mantenimento.

A 10 giorni dall'inizio della terapia si assisteva ad un miglioramento dello stato del sensorio, dell'assunzione del cibo, con normalizzazione delle funzioni organiche e normodipsia. Persisteva lo stato di grave dimagrimento, il pallore e la pigmentazione itterica delle mucose.

A 18 giorni, 15.000 leucociti/mm³ (di cui 2.100/mm³ monociti) ed un ematocrito di 20% testimoniavano l'avvenuta induzione della remissione (Fig. 3). Clinicamente si osservava la riduzione della pigmentazione itterica delle

Tabella 1
Esami ematologici alla diagnosi

Ematocrito (%)	15,3
Eritrociti ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	2,96
Emoglobina (g/dl)	5
MCV (μ^3)	52
MCHC (g/dl)	32,7
Leucociti ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	264
Neutrofilii ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	44,88
Linfociti ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	2,64
Blasti ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	216,48

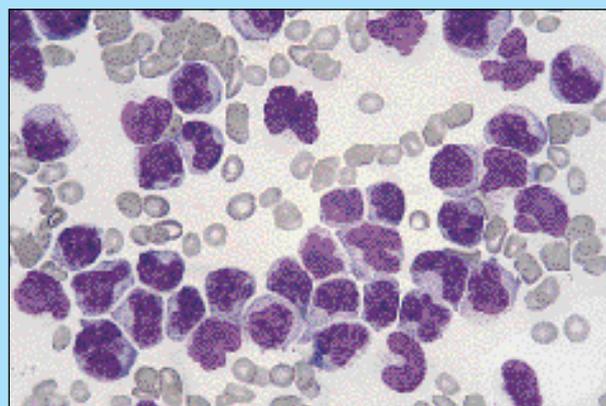


Figura 1A

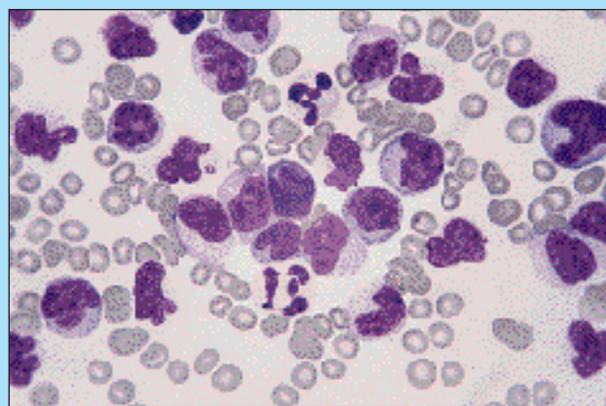


Figura 1B

FIGURA 1 (A e B) - Striscio di sangue periferico del gatto con leucemia monocitica acuta. Le cellule presentano un'estrema variabilità di dimensioni e morfologia: i nuclei sono rotondi o reniformi o a margini irregolari e con profonde incisive, con cromatina addensata in masserelle e rari nucleoli; il citoplasma è variabile in quantità (da scarsa ad abbondante), basofilo e talvolta contenente piccoli vacuoli (MGG, 1000X).

mucose, mentre la massa palpabile endoaddominale presentava un incremento del suo diametro a circa 4 cm; le dimensioni del fegato tornavano nella norma.

A 36 giorni si assisteva ad un netto miglioramento dello stato di nutrizione, a scomparsa dell'ittero e ad un aumento dell'ematocrito fino al 26%. La massa addominale risultava diminuita per i 2/3 del suo volume. A 52 giorni insorgeva un'enterite con diarrea acquosa, lieve disidratazione; la paziente si manteneva afebrile con accettabile stato del sensorio e normodipsia.

La palpazione dell'addome evidenziava una massa paravertebrale di consistenza dura-elastica, indolente. L'enterite venne trattata con cefazolina 20 mg/kg, SC, SID, ottenendo la remissione in 3 giorni.

A 60 giorni dalla diagnosi recidivava, nonostante la profilassi antibiotica, una grave enterite con diarrea profusa e parossismi di vomito. La paziente moriva poche ore dopo l'insorgenza dei sintomi ed il proprietario non dava il proprio consenso all'esame autoptico.

CONSIDERAZIONI

Dal punto di vista sintomatologico la paziente presentava segni clinici specifici, seppure gravi.

Tra gli esami di laboratorio l'esame emocromocitometrico consentiva di emettere diagnosi di leucemia sulla base dell'estrema leucocitosi.

La sola osservazione della morfologia delle cellule presenti nello striscio di sangue periferico colorato con MGG non forniva indicazioni diagnostiche precise, in quanto nelle leucemie acute la scarsa differenziazione cellulare può talvolta ostacolarne la classificazione², utile per l'attuazione di protocolli chemioterapici mirati. È stato necessario perciò intervenire con metodiche diagnostiche più specifiche: nel caso in esame le colorazioni citochimiche si sono rivelate particolarmente utili. La determinazione dell'immunofenotipo mediante esame citofluorimetrico, per la quale in medicina veterinaria si dispone

attualmente di anticorpi monoclonali diretti contro le cellule linfoidi mature, ci ha permesso in questo caso solo una diagnosi di esclusione.

Il protocollo chemioterapico ha indotto una rapida induzione della remissione dimostrandosi altresì valido nella fase di mantenimento.

Nei 60 giorni di chemioterapia non si sono verificati effetti collaterali od indesiderati ascrivibili ai farmaci anti-neoplastici impiegati e, durante tale periodo, le condizioni cliniche della paziente risultavano decisamente migliorate nel contesto di una buona qualità della vita.

La gestione di questa chemioterapia presuppone una considerazione di base: la citosina arabinoside, nonostante la breve emivita, induce una riduzione del numero dei leucociti che si protrae fino a 7 giorni dall'ultima somministrazione⁹, pertanto una corretta valutazione dell'effetto citostatico del farmaco va eseguita dopo tale periodo.

Durante la fase di mantenimento, al 44° giorno dalla diagnosi (6.700 leucociti/mm³), risultava necessario posti-

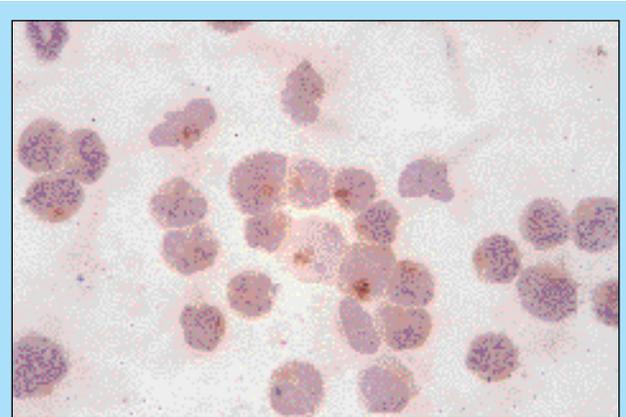


FIGURA 2 - Striscio di sangue periferico del gatto con leucemia monocitica acuta. Doppia colorazione Naftil Acetato Esterasi e Cloro Acetato Esterasi (NAE-CAE). Le cellule risultano negative alla CAE (colorazione specifica delle cellule della serie granulocitica) e positive alla NAE (granuli rosso mattone intracitoplasmatici), enzima presente nelle cellule monocitarie (1000X).

Tabella 2
Protocollo chemioterapico

<i>Protocollo chemioterapico di induzione della remissione</i>	
Citosina arabinoside	100 mg/m ² SC, SID per 4 giorni consecutivi
6-mercaptapurina	50 mg/m ² OS a giorni alterni
Prednisone	45 mg/m ² SC, SID
<i>Protocollo chemioterapico di mantenimento della remissione</i>	
Citosina arabinoside	100 mg/m ² SC, somministrazione settimanale
6-mercaptapurina	50 mg/m ² OS due volte alla settimana
Prednisone	45 mg/m ² SC, SID; dal 35° giorno 20 mg/m ² SC, SID
	Sospeso a 52 giorni dalla diagnosi
<i>Terapie accessorie</i>	
Nandrolone decanoato	3 mg/kg IM, somministrazione settimanale
Doxiciclina	5 mg OS, SID
Complesso polivitaminico	Gocce orali

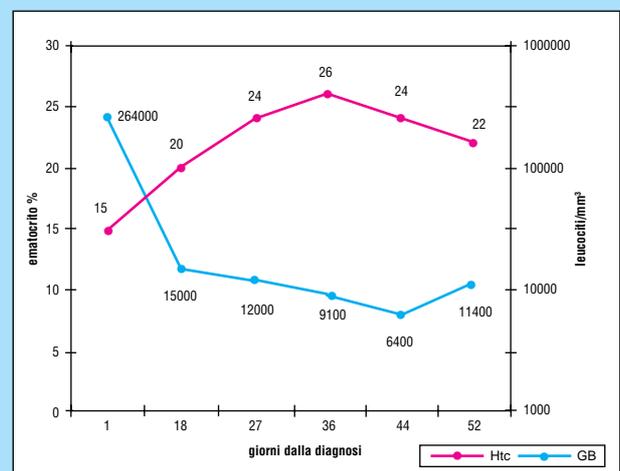


FIGURA 3 - Modificazioni dell'ematocrito (Hct) e dei leucociti (GB) in corso di terapia.

cipare la somministrazione della citosina arabinoside al fine di evitare l'insorgere di una leucopenia: la citosina arabinoside infatti aveva indotto una riduzione di circa 3.000 leucociti/mm³ ad ogni singola somministrazione settimanale (Fig. 3).

L'impiego della doxiciclina trovava fondamentalmente due indicazioni importanti, da una parte un ampio spettro batteriostatico, dall'altra la prevenzione di eventuali infezioni da *Haemobartonella felis*.

L'utilizzo del nandrolone^{9,10} si è dimostrato particolarmente vantaggioso nella prima metà della chemioterapia, nella seconda invece gli effetti sull'emopoiesi apparivano ridotti o assenti a fronte di una progressiva riduzione del valore ematocrito (Fig. 3).

L'aumento dell'ematocrito nelle fasi iniziali della terapia può essere riconducibile ad una incompleta invasione del midollo da parte di cellule leucemiche e allo stimolo eritropoietico fornito dall'androgeno di sintesi, nonostante il trattamento citostatico in corso.

Il motivo per cui il prednisone è stato prima gradualmente ridotto ed infine sospeso risiede nel tentativo di ridurre, per quanto possibile, il grado di immunodepressione. Inoltre il prednisone sembra non risultare essenziale in fase di mantenimento della remissione⁹.

È tuttavia da rilevare come le condizioni della paziente siano via via peggiorate dopo l'eliminazione del corticosteroide dal protocollo di mantenimento e la contemporanea posticipazione del trattamento settimanale con citosina arabinoside al 44° giorno dalla diagnosi, pur giustificate entrambe da una normalizzazione dei dati ematologici.

Da quanto rilevato in letteratura, gli animali con leucemia mieloide presentano tempi di sopravvivenza limitati, raramente superiori ai tre mesi; in circa la metà dei casi la morte sopravviene durante la terapia, in fase di induzione della remissione, a causa delle infezioni e delle emorragie secondarie all'immunodepressione^{1,11}. Nel caso in esame una grave enterite, di probabile origine batterica, ha determinato dopo circa due mesi la morte della paziente, nonostante la profilassi antibiotica.

Ringraziamenti

Si ringraziano il Dr. P.F. Moore e il Dr. B.J. Willet per aver fornito gli anticorpi monoclonali.

Parole chiave

Gatto, leucemia monocitica, tecniche diagnostiche, chemioterapia.

Key words

Cat, monocytic leukaemia, diagnostic techniques, chemotherapy.

Bibliografia

1. Withrow S.J. and MacEwen E.G. Small animal clinical oncology. W.B. Saunders, Philadelphia, 1996.
2. Jain N.C. Classification of myeloproliferative disorders in cats using criteria proposed by the animal leukaemia study group: a retrospective study of 181 cases (1969-1992). *Comp. Haematol. Int.* 3:125, 1993.
3. Facklam N.R. and Kociba G.J. Cytochemical characterization of feline leukemic cells. *Veth. Pathol.* 23:155, 1986.
4. Grindem C.B., Perman V., Stevens J.B. Morphological classification and clinical and pathological characteristics of spontaneous leukemia in 10 cats. *JAAHA* 21:227, 1985.
5. Keller P., Freudiger U. Atlante sull'ematologia del cane e del gatto, Paul Parey, Berlin, Germany, 1983.
6. Rideout B.A., Moore P.F., Pedersen N.C. Distribution of MHC class II antigens in feline tissues and peripheral blood. *Tissue Antigens* 36:221, 1990.
7. D'Onofrio G e Zini G. *Morfologia del sangue*. Verduci ed., Roma, 1997.
8. Jain N.C., Blue J.T. e coll. Proposed criteria for classification of acute myeloid leukemia in dogs and cats. *Vet. Clin. Pathol.* 20(3):63, 1991.
9. Dobson J.M., Gorman N.T. *Cancer chemotherapy in small animal practice*, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1993.
10. McDonald L.E. Ormoni che agiscono sulla funzione riproduttiva. In: Booth N.H. and McDonald L.E. (ed.): *Farmacologia e terapeutica veterinaria*. 1a Ed. Italiana E.M.S.I., Roma, 1991.
11. Couto C.G. Oncology. In: Nelson R.W., Couto C.G. (ed.): *Essentials of small animal internal medicine*. Mosby Year Book, St. Louis, 1992.