

## EPATOBLASTOMA IN UN PULEDRO

Cantile C<sup>1</sup>, Arispici M<sup>1</sup>, Abramo F<sup>1</sup>, Incastrone G<sup>2</sup>, Pellegrini D<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Dipartimento di Patologia Animale Profilassi e Igiene degli Alimenti - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Pisa. <sup>2</sup>Libero Professionista.

### Introduzione

L'epatoblastoma è il tumore epatico più frequente nel bambino costituendo quasi il 50% dei tumori epatici infantili e circa il 27% di tutte le neoplasie dell'età pediatrica.<sup>12</sup> Nei bambini l'epatoblastoma è spesso associato ad alcune malformazioni, quali l'emipertrofia, la macroglossia, diverse anomalie cardiache e renali, il tumore di Wilms e a dismetabolismi primitivi genotipici.<sup>8</sup> In alcuni casi possono insorgere sindromi ipoglicemiche, policitemia o virilizzazione per sintesi da parte del tessuto neoplastico di insulina, eritropoietina o gonadotropine.<sup>8</sup>

Generalmente la neoplasia si presenta come massa singola nell'80% dei casi, con dimensioni fino a 15 cm e oltre e peso superiore al chilogrammo.<sup>12</sup> Istologicamente, l'epatoblastoma viene classificato in tipo epiteliale e tipo misto epiteliale e mesenchimale. Il tipo epiteliale viene a sua volta distinto in *a*) fetale, *b*) fetale ed embrionale, *c*) macrotrabecolare e *d*) a piccole cellule indifferenziate. Il tipo misto può presentare o meno aspetti di tipo teratoide.<sup>12</sup> Spesso sono presenti focolai di ematopoiesi extramidollare.

In oncologia veterinaria sono stati segnalati solo sporadici casi di epatoblastoma negli agnelli (2 casi),<sup>5</sup> nei suini (2 casi)<sup>3</sup> e nel cavallo (2 casi).<sup>9, 7</sup> Casi singoli sono stati descritti nel bovino<sup>10</sup> e nel cane.<sup>13</sup>

La presente segnalazione riporta i dati clinici ed anatomopatologici di un caso di epatoblastoma di tipo misto con evidente attività emopoietica in un puledro.

### Descrizione del caso

#### *Storia clinica*

Un puledro purosangue inglese di 10 mesi d'età ha presentato anoressia ed episodi di diarrea alternata a stipsi che non rispondevano a ripetuti trattamenti antiparassitari e antibiotici. Alla visita clinica l'animale presentava lieve tachicardia,

dispnea, turgore del circolo venoso e temperatura di 39,5 °C. Ripetuti esami ematologici hanno mostrato policitemia, aumento del contenuto emoglobinico e dell'ematocrito. I valori alla 2<sup>a</sup> e 16<sup>a</sup> giornata erano rispettivamente di  $17,71 \times 10^6/\mu\text{L}$  e  $19,48 \times 10^6/\mu\text{L}$  (normale intervallo di riferimento:  $6,5-13 \times 10^6/\mu\text{L}$ ), 18,7g/dL e 22,7g/dL (intervallo normale: 12-19g/dL) e 60,8% e 73,4% (intervallo normale: 32-53%). I leucociti hanno superato il limite massimo di riferimento ( $12 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) in 6<sup>a</sup> giornata raggiungendo il valore di  $18,5 \times 10^3/\mu\text{L}$  in 14<sup>a</sup> giornata. La stima delle piastrine non ha mostrato valori esterni all'intervallo di riferimento. Ripetuti strisci ematici hanno mostrato numerosi dei neutrofilii segmentati e assenza di elementi immaturi. I valori dell'emogramma non si sono sostanzialmente modificati nonostante una protratta e continua terapia reidratante endovenosa (Ringer lattato, 20-25L/die). Anche i valori di alcuni parametri biochimico-clinici sono risultati elevati e con concentrazioni tendenzialmente crescenti in rapporto alla progressione della malattia. In particolare, la creatininemia ha raggiunto i 4,7mg/dL, la bilirubinemia totale i 6,0mg/dL, la lattato deidrogenasi (LDH) le 1100U/L, la gamma glutamil transpeptidasi ( $\gamma\text{GT}$ ) le 181U/L e la aspartato amino transferasi (AST) le 786U/L. Durante tale periodo l'animale era costantemente anoressico e dispnoico ed era evidenziabile sangue occulto nelle feci. Alla terapia reidratante sono stati associati antibiotici ad ampio spettro (gentamicina, cefalosporine e metronidazolo) e antistaminici anti- $\text{H}_2$ . Le analisi delle urine sono risultate sempre nella norma. In 16<sup>a</sup> e 17<sup>a</sup> giornata, il puledro ha manifestato diarrea emorragica ed è deceduto in 18<sup>a</sup> giornata.

### *Esame anatomopatologico*

Alla necropsia era evidenziabile congestione delle mucose congiuntivali, schiuma biancastra dalle narici e imbrattamento emorragico perianale. In cavità addominale era presente liquido ascitico (circa 5 litri) ed era evidente una marcata congestione pluriviscerale e trombosi del sistema portale. Era presente enterite emorragica diffusa con materiale alimentare scarso, liquido e sanguinolento. La milza risultava ridotta di volume, mentre i reni erano megalici con precipitati calcarei nel bacinetto. Il fegato appariva modificato per la presenza di una massa rotondeggiante a livello del lobo sinistro. La neoformazione risultava ben capsulata, bianco-giallastra, consistente e delle dimensioni di circa 12-14 cm di diametro. Al taglio era variegata con emorragie e alcune lacune ematiche, miste ad aree di tessuto grigiastro di

consistenza cedevole e altre simili a tessuto epatico congesto. Frammiste a queste aree erano osservabili sottili strutture di consistenza ossea, scricchiolanti al taglio. Ulteriori lesioni rinvenute alla necropsopia erano costituite da edema polmonare, idropericardio e congestione del comparto venoso toracico e cervicale.

Varie porzioni di tessuto neoplastico, aree adiacenti di parenchima epatico rispettato, linfonodi ilari epatici e mediastinico caudale sono stati fissati in formalina neutra tamponata al 10% e inclusi in paraffina. Alcuni campioni di tessuto neoplastico sono stati sottoposti a decalcificazione con HCl al 5% e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5% per 2 giorni. Le sezioni di 5µm sono state colorate con i seguenti metodi: ematossilina-eosina, Gomori per le fibre reticolari, acido periodico-reattivo di Schiff, tricromica secondo Goldner, metodo di Schmorl, May-Grunwald-Giemsa. Sezioni rappresentative di tessuto neoplastico non sottoposto a decalcificazione e tessuto epatico normale, sono state sottoposte a indagini di immunistoichimica secondo la metodica perossidasi-anti-perossidasi, utilizzando i seguenti anticorpi: citocheratine (CK) AE1, 19 (monoclonali); antigene embrionale di membrana (EMA) (monoclonale); alfa-fetoproteina (AFP) e antigene carcinoembrionario (CEA) (policlonali).

Il quadro istologico della neoplasia si presentava notevolmente complesso con aree organoidi di natura epiteliale, aree di tessuto mesenchimale di tipo fibroso e aree di tessuto condroide e osseo. Le porzioni di origine epiteliale apparivano a struttura alveolare ed erano costituite da cellule con scarsa coesività, raggruppate a nidi o disposte in formazioni cordonali dello spessore di 2-3 cellule, con scarso o assente stroma reticolare e numerosi capillari ematici. Il citoplasma delle cellule era abbondante, conteneva una scarsa quantità di glicogeno ed era evidente una discreta distinzione della membrana citoplasmatica. I nuclei apparivano grandi, lievemente pleomorfi, con marginazione della cromatina e 1-2 nucleoli ben evidenti. In generale, il loro aspetto non appariva particolarmente dissimile dagli epatociti normali. In alcune aree le cellule contenevano voluminose vacuolizzazioni uniche o più raramente multiple, nettamente rotondeggianti e otticamente vuote. Accanto a questi elementi cellulari erano anche presenti numerose cellule con nucleo picnotico e citoplasma marcatamente eosinofilo, estesi fenomeni carioretici, detriti nucleari ed esiti della citolisi.

Il tessuto mesenchimale appariva strettamente commisto alle porzioni epiteliali e mostrava strutture lamellari osteoidi anche mineralizzate, tessuto connettivo con

aspetti mixoidi e riccamente vascolarizzato e cellule a differenziazione condroide. Particolarmente in corrispondenza di queste ultime strutture erano evidenti addensati di elementi cellulari di tipo mieloide. Tra questi erano distinguibili numerosi elementi della serie eritroblastica, emazie, alcune cellule della linea leucocitaria e megacariociti. Alcuni focolai di ematopoiesi extramidollare erano anche presenti nel contesto delle strutture di origine epiteliale sopra descritte.

Il tessuto neoplastico risultava nettamente incapsulato da spesse strutture connettivali e non mostrava tendenza invasiva. Nel tessuto epatico periferico al tumore era osservabile proliferazione dei dotti biliari, dilatazione delle strutture venose e ispessimento della parete delle arteriole, lieve fibrosi portale e atrofia parenchimale con depositi di lipofuscina prevalentemente a carico degli epatociti pericentrolobulari. Nessun focolaio metastatico è stato osservato a livello linfonodale.

Le cellule neoplastiche di natura epiteliale sono risultate focalmente immunoreattive alla CK AE1, all'AFP e al CEA, mentre sono risultate negative alla CK19 e all'EMA. Il tessuto epatico normale periferico alla massa neoplastica è sempre risultato negativo, mentre una netta positività alla CK AE1 è stata espressa dalle cellule dei dotti biliari.

## **Discussione**

Le caratteristiche istomorfologiche della neoplasia sono riferibili all'epatoblastoma di tipo misto con aspetti teratoidi.<sup>4</sup> Il tumore appare costituito sia da una componente epiteliale riconducibile a cellule di tipo fetale<sup>12</sup> che da una componente mesenchimale differenziata in tessuto connettivo, cartilagineo e osseo. Non sono stati osservati elementi cellulari riconducibili alla componente embrionale dell'epatoblastoma. Particolarmente evidente è risultata la componente cellulare di tipo mieloide che potrebbe giustificare il riscontro ematologico degli elevati valori dell'ematocrito, nonché l'insorgenza della trombosi portale e dell'enterite emorragica. La presenza di focolai di ematopoiesi extramidollare, quantomeno in patologia umana, è sempre associata all'epatoblastoma di tipo fetale<sup>11</sup> e modificazioni dell'emogramma costituiscono una complicità nell'epatoblastoma dell'uomo.<sup>8</sup> Tale alterazione non è mai stata riportata in letteratura negli animali.

Le elevate concentrazioni sieriche della  $\gamma$ GT possono essere riconducibili alla fibrosi portale e alla neoproliferazione dei dotti biliari del parenchima epatico periferico alla neoplasia.<sup>9</sup>

L'epatoblastoma di tipo misto descritto in un castrone di 3 anni ha determinato l'insorgenza di metastasi a livello omentale, mesenterico e polmonare<sup>9</sup> e anche nel tipo epiteliale descritto in un feto equino nato morto sono state evidenziate micrometastasi al linfonodo tracheobronchiale.<sup>7</sup> Nessuna metastasi si è verificata nel nostro caso e il tumore risultava inoltre ben differenziato. Nel bambino la prognosi è correlata alla precocità della diagnosi e a un intervento chirurgico radicale preceduto dalla chemioterapia. La guarigione, in questi casi, può raggiungere addirittura il 100%, essendo il tumore di solito unico e localizzato.<sup>6</sup> La malignità nel nostro caso non sembrava correlata al tipo istologico, quanto alle alterazioni ematologiche conseguenti al tumore stesso.

Relativamente all'istogenesi, si ritiene che l'epatoblastoma misto origini da cellule totipotenti capaci di differenziarsi sia nella componente epiteliale che mesenchimale.<sup>1</sup>

I risultati immunocitochimici di questo caso sono compatibili con i dati relativi all'epatoblastoma dell'uomo riportati in letteratura, per i quali le cellule epiteliali risultano immunoreattive alle CK a basso peso molecolare, all'AFP e al CEA.<sup>2</sup> La negatività all'immunoreazione per l'EMA può essere imputabile sia al grado di differenziazione delle cellule neoplastiche, sia alle modificazioni tessutali dovute alla fissazione, sia alla scarsa sensibilità dell'anticorpo monoclonale utilizzato, oppure a differenze interspecifiche di reattività ai diversi marker tumorali.

## **Bibliografia**

- 1) Abenzoa P, Manivel JC, Wick MR, Hagen K, Dehner LP: Hepatoblastoma: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Hum Pathol*, **18**, 1025-1035, 1987.
- 2) Cangiarella J, Greco MA, Waisman J: Hepatoblastoma. Report of a case with cytologic, histologic and ultrastructural findings. *Acta Cytol*, **38**, (3), 455-458, 1994.
- 3) Hayashi M, Ishihara R, Nishio O: Histopathological examination of spontaneous tumors in slaughtered animals. *Proc Ann Meet Jpn Cancer Assoc*, **38**, 103-108, 1979.
- 4) Manivel C, Wick MR, Abenzoa P, Dehner LP: Teratoid hepatoblastoma. The nosologic dilemma of solid embryonic neoplasms of childhood. *Cancer*, **57**, (11), 2168-2174, 1986
- 5) Manktelow BW: Hepatoblastomas in sheep. *J Pathol Bacteriol*, **89**, 711-714, 1965.

- 6) Martínez Ibáñez V, Marqués Gubern A, de Diego M, Sánchez de Toledo J, Boix-Ochoa J: Hepatoblastoma today. Our experience. *Cir Pediatr*, **9**, (1), 10-12, 1996
- 7) Neu SM: Hepatoblastoma in an equine fetus. *J Vet Diagn Invest*, **5**, 634-637, 1993.
- 8) Pollice L: Tumori. In Rugge M, Pollice L: *Basi Morfologiche della Patologia del Fegato*. USES, Firenze, pp. 217-218, 1990.
- 9) Prater PE, Patton CS, Held JP: Pleural effusion resulting from malignant hepatoblastoma in a horse. *J Am Vet Med Assoc*, **194**, (3), 383-385, 1989.
- 10) Rao PR, Sriraman PK, Naidu NRG: Note on hepatoblastoma in a breeding bull. *Indian J Anim Sci*, **50**, 762-764, 1980.
- 11) Rosai J: *Ackerman's Surgical Pathology*. 7a ed. The C.V. Mosby Co., St. Louis, pp. 714-716, 1989.
- 12) Stocker JT: Hepatic tumors in children. In Suchy FJ (Ed): *Liver Disease in Children*. Mosby, St. Louis, pp. 901-929, 1994.
- 13) Usuda H, Tanoue S: Hepatoblastoma with a large cyst in a dog. *J Jpn Vet Med Assoc*, **47**, (1), 43-46, 1994.