

# Un caso di carcinoma epatico con metastasi diffuse in un citello (*Spermophilus citellus*)

Lanza A.<sup>1\*</sup>, Baldi A.<sup>2</sup>, Spugnini E.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Veterinario Gianicolense, Via Lorenzo Valla 25, Roma,

<sup>2</sup> Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmacologiche, Seconda Università di Napoli,

\* Autore corrispondente: Andrea Lanza, Tel./fax +39065814539, e-mail address: cvgianicolense@gmail.com

## SUMMARY

### Metastatic hepatic carcinoma in a European Ground Squirrel (*Spermophilus citellus*)

There are scant reports of tumors in ground squirrels, while there is a bulk of literature in other rodents belonging to their family such as the woodchucks. Hepatocellular carcinoma has not been previously described in this specie. In this article we report a case involving a two year old female European Ground Squirrel (*Spermophilus Citellus*) that was presented for sudden onset of respiratory distress. At presentation the patient was quiet, alert and responsive, with evidence of increased abdominal respiratory effort. At physical exam an abdominal mass was palpable in the abdomen. Chest radiographs evidenced multiple nodular lesions within the lung fields. Overall, the condition was consistent with metastatic lung neoplasia. The owner elected the patient to be managed conservatively with bronchodilators and corticosteroids. The squirrel had transient improvement of its symptoms for one month and then its respiratory distress worsened leading to euthanasia. Necropsy evidenced a large liver mass and multiple metastatic lung nodules. Hematoxylin-eosin histopathology and immunohistochemistry were consistent with hepatocellular carcinoma, while the lungs showed multiple metastases from liver carcinoma. Clinicians should include metastatic lung disease among the differentials for respiratory distress in ground squirrel.

## KEYWORDS

Ground squirrel, histology, immunohistochemistry, liver carcinoma, metastases

## INTRODUZIONE

Nella letteratura veterinaria ci sono poche descrizioni di neoplasie epatiche nei roditori sciuromorfi.

## CASO CLINICO

Una femmina di citello d'affezione è stata riferita per respirazione difficoltosa. Alla presentazione la paziente era tranquilla, cosciente e responsiva agli stimoli, con evidente respirazione addominale. L'esame fisico evidenziava la presenza di una massa addominale dolente alla palpazione. Le radiografie "total body", eseguite in decubito laterale e ventro-dorsale evidenziavano lesioni nodulari multiple nei campi polmonari associate ad una evidente epatomegalia (Figura 1). Le diagnosi differenziali includevano: infezioni fungine, ascessi, malattie granulomatose e neoplasie. La presentazione clinica e gli esami di *imaging* suggerivano una neoplasia polmonare di verosimile natura metastatica. Si proponevano al proprietario un approccio diagnostico e di stadiazione che prevedesse un profilo ematobiochimico, un lavaggio tracheale (BAL) per esami citologici e colturali del caso ed esame ecotomografico addominale con biopsia da effettuarsi con ago sottile. Il proprietario, sceglieva di approcciare il caso con terapia conservativa e sintomatica con broncodilatatori a base di teofillina al dosaggio di 10 mg/kg per os ogni 8 ore (*Aminomal Elisir*® 200 ml 6,7 mg/ml Malesci Istituto Farmacologico S.p.A.).<sup>(1)</sup> Tre settimane

dopo, in seguito al peggioramento della sintomatologia respiratoria, venivano aggiunti corticosteroidi per nebulizzazione con beclometasone dipropionato per aerosol (CLENIL® 0,8 mg/2 ml 20 fl Chiesi) diluito con 5 ml di soluzione fisiologica (NaCl 0,9%). La paziente non mostrò di trarre beneficio dall'integrazione terapeutica con aggravamento delle condizioni generali che indusse il proprietario a fare ricorso, in ultima analisi, all'eutanasia. L'esame necroscopico evidenziava una massa epatica di grosse dimensioni e lesioni nodulari multiple nei campi polmonari. Macroscopicamente il fegato presentava una massa multinodulare, mentre i noduli polmonari erano ben circoscritti e mostravano numerosi foci microemorragici. Gli organi fissati in formalina tamponata al 10% venivano processati per esami di routine con colorazione ematossilina eosina. Inoltre sezioni di 4 sono state preparate per l'immunoistochimica; nello specifico, le sezioni sono state colorate con metodica immunoistochimica mediante il sistema Avidina-Biotina (Dako, Carpinteria; CA) usando DAB (anticorpo monoclonale) come colorante finale ed ematossilina come colorazione di contrasto dei nuclei. Anticorpi primari (Dako, Carpinteria; CA) sono stati utilizzati a temperatura ambiente per 1 ora alla diluizione di 1:100. Il pannello anticorpale consisteva in: antigene di membrana epiteliale (clone E-29) e citocheratina (prodotto # Z0622). Come controlli negativi sono state utilizzate sezioni preparate omettendo l'anticorpo primario. Istologicamente le sezioni epatiche presentavano carcinoma epatocellulare,



Fig. 1.: A) Radiografia in proiezione latero-laterale del torace e dell'addome di un citello di due anni con insufficienza respiratoria, evidenziante lesioni multiple radiopache nei campi polmonari. Nell'immagine è apprezzabile una evidente epatomegalia; B) Radiografia in proiezione ventro-dorsale dello stesso soggetto che permette una precisa localizzazione delle lesioni nodulari identificabili prevalentemente nei lobi del polmone di destra.

mentre le sezioni polmonari mostravano lesioni metastatiche multiple in partenza dal carcinoma primario epatico. Le lesioni presentavano *pattern* di crescita trabecolare, atipie nucleari con aggregati sporadici di macronuclei ipercromici o mitosi atipiche, alcuni vasi sanguigni presentavano trombosi ed in alcuni casi, produzione di pigmento biliare da parte delle cellule tumorali. La colorazione immunohistochemica ha evidenziato positività delle cellule neoplastiche per cheratina ed antigene epiteliale di membrana, confermando pertanto la natura epiteliale della neoplasia. La Figura 2 mostra sezioni tumorali colorate con ematossilina-eosina ed immunohistochemica positiva per l'antigene epiteliale di membrana.

## DISCUSSIONE

Il carcinoma epatocellulare è stato spesso descritto tra gli sciuridi in particolar modo nella marmotta (*Marmota monax*) in seguito ad infezione da hepadnavirus conosciuto anche come "woodchuck hepatitis virus" (WHV). Tutte le marmotte con infezione cronica da WHV contratta in età neonatale sviluppano carcinoma epatocellulare e l'età media alla presentazione + di 24 mesi.<sup>(2,3)</sup> La sopravvivenza media delle marmotte dopo la diagnosi di carcinoma epatocellulare è pari a 6 mesi, una condizione simile a quella di pazienti umani. Inoltre, la carcinogenesi indotta da WHV mostra molte similitudini con quella indotta nell'uomo dal virus dell'epatite B (HBV).<sup>(2,3)</sup> Le caratteristiche del carcinoma epatocellulare associato ad epatite cronicamente attiva, rende le marmotte un modello preclinico unico per lo studio di tale patologia, a differenza di altri modelli sperimentali.<sup>(4-7)</sup> Al contrario, le

neoplasie degli Sciuridi europei sono state descritte infrequentemente e si sono limitate all'adenocarcinoma della ghiandola del dorso.<sup>(8)</sup>

La descrizione di tumori spontanei nei membri della famiglia degli Sciuridi sono state finora circoscritte a marmotte e scoiattoli.<sup>(9-13)</sup> Per quanto riguarda i Citelli, finora sono stati riportati solamente due casi di adenocarcinoma della ghiandola del dorso. In modo simile, la ghiandola di Harder è stata descritta come sede di neoplasia nello *Spermophilus beecheyi*.<sup>(10)</sup> Il carcinoma epatico è stato riportato in altre specie di roditori oltre alle marmotte. Ad esempio il carcinoma epatocellulare è stato descritto in scoiattoli di Richardson o cani della prateria, così come in altri animali da compagnia quali cani e gatti, ma mai nel citello.<sup>(2-7, 9,11-13)</sup> L'aspetto macroscopico delle lesioni, così come l'istopatologia e il comportamento biologico della neoplasia nel caso descritto, sono compatibili con quanto riportato in altre specie. L'aggressiva tendenza alla metastasi è compatibile con quanto osservato in animali da compagnia e in pazienti umani affetti da carcinoma epatico nodulare e diffuso.<sup>(14,15)</sup> Il fatto che la neoplasia abbia colpito un soggetto anziano, induce a ipotizzare che, in seguito all'aumentata durata della vita negli animali esotici, nel futuro verranno riportate un numero sempre crescente di queste segnalazioni. Infine, una maggiore consapevolezza da parte dei proprietari del rischio di patologie oncologiche in roditori geriatrici, nonché il desiderio di perseguire approcci diagnostici e terapeutici porterà ad un rapido progresso dell'oncologia negli animali esotici.

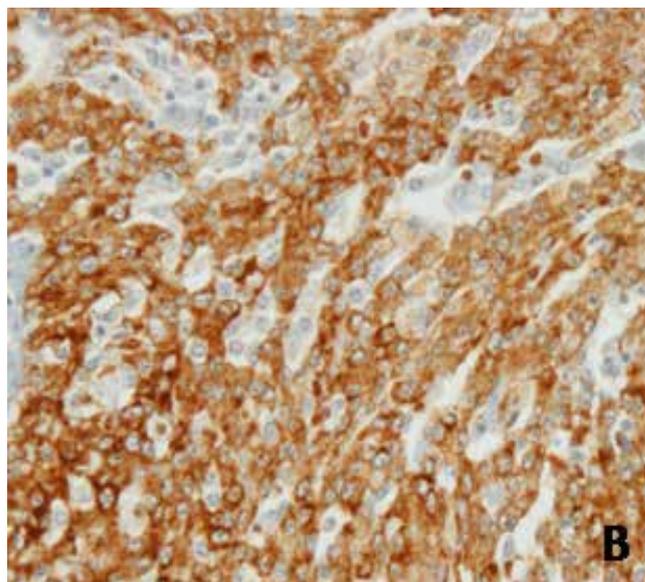
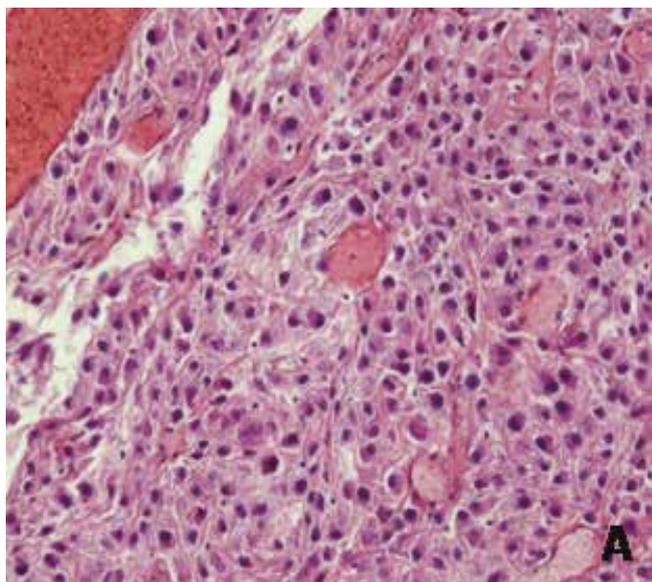


Fig. 2.: A) Esame istopatologico postmortale delle lesioni epatiche. Dopo colorazione è evidente la presenza di carcinoma epatico con pattern di crescita di tipo trabecolare (Ematossilina-Eosina, ingrandimento originale X20); B) Le cellule tumorali mostrano una chiara positività per EMA (ingrandimento originale X20).

## BIBLIOGRAFIA

1. Mayer J.: Rodents. In: Exotic Animal formulary. Elsevier, St. Louis, 2013.
2. Popper H., Roth L., Purcell R.H., Gerin J.L.: Hepatocarcinogenicity of the woodchuck hepatitis virus. Proceedings of the National Academy of Science USA, 1987, 84, 866-870.
3. Tennant B.C., Toshkov I.A., Peek S.F., Jacob J.R., Menne S., Hornbuckle W.E., Schinazi R.D., Korba B.E., Cote P.J., Gerin J.L.: Hepatocellular carcinoma in the woodchuck model of hepatitis B virus infection. Gastroenterology, 2004, 127, S283-293.
4. Rodriguez-Madoz J.R., Liu K.H., Quetglas J.I., Ruiz-Guillen M., Otano I., Crettaz J., Butler S.D., Bellezza C.A., Dykes N.L., Tennant B.C., Prieto J., González-Aseguinolaza G., Smerdou C., Menne S.: Semliki forest virus expressing interleukin-12 induces antiviral and antitumoral responses in woodchucks with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. Journal of Virology, 2009, 83, 12266-12278.
5. Burke C.T., Cullen J.M., State A., Gadi S., Wilber K., Rosenthal M., Bulysheva A., Pease A., Mauro M.A., Fuchs H.: Development of an animal model for radiofrequency ablation of primary, virally induced hepatocellular carcinoma in the woodchuck. Journal of Vascular Interventional Radiology, 2011, 22, 1613-1618.e1.
6. Freitas N., Salisse J., Cunha C., Toshkov I., Menne S., Gudima S.O.: Hepatitis delta virus infects the cells of hepadnavirus-induced hepatocellular carcinoma in woodchucks. Hepatology, 2012, 56, 76-85.
7. Kolthammer J.A., Corn D.J., Tenley N., Wu C., Tian H., Wang Y., Lee Z.: PET imaging of hepatocellular carcinoma with <sup>18</sup>F-fluoroethylcholine and <sup>11</sup>C-choline. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2011, 38, 1248-1256.
8. Carminato A., Nassuato C., Vascellari M., Bozzato E., Mutinelli F.: Adenocarcinoma of the dorsal glands in 2 European ground squirrels (*Spermophilus citellus*). Comparative Medicine, 2012, 62, 279-281.
9. Thas I., Garner M.M.: A retrospective study of tumours in black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*) submitted to a zoological pathology service. Journal of Comparative Pathology, 2012, 147, 368-375.
10. Ranck R.S., Cullen J.M., Waggle K.S., Marion P.L.: Harderian gland neoplasms in captive, wild-caught Beechey ground squirrels (*Spermophilus beecheyi*). Veterinary Pathology, 2008, 45, 388-392.
11. Marion P.L., Van Davelaar M.J., Knight S.S., Salazar F.H., Garcia G., Popper H., Robinson W.S.: Hepatocellular carcinoma in ground squirrels persistently infected with ground squirrel hepatitis virus. Proceedings of the National Academy of Science USA, 1986, 83, 4543-4546.
12. Tennant B.C., Mrosovsky N., McLean K., Cote P.J., Korba B.E., Engle R.E., Gerin J.L., Wright J., Michener G.R., Uhl E., King J.M.: Hepatocellular carcinoma in Richardson's ground squirrels (*Spermophilus richardsonii*): evidence for association with hepatitis B-like virus infection. Hepatology, 1991, 13, 1215-1221.
13. Garner M.M., Raymond J.T., Toshkov I., Tennant B.C.: Hepatocellular carcinoma in black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*): tumor morphology and immunohistochemistry for hepadnavirus core and surface antigens. Veterinary Pathology, 2004, 41, 353-361.
14. Withrow S.J.: Cancer of the gastrointestinal tract. F. Hepatobiliary tumors, In: Small animal clinical oncology. Elsevier/Saunders, St Louis, 2013.
15. Chua T.C., Morris D.L.: Exploring the role of resection of extrahepatic metastases from hepatocellular carcinoma. Surgical Oncology, 2012, 21, 95-101.