



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Il mesotelioma pleurico
del cane come indicatore
di esposizione ambientale ad amianto**

P. De Nardo

ISSN 1123 -3117

Rapporti ISTISAN

96/38

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Il mesotelioma pleurico
del cane come indicatore
di esposizione ambientale ad amianto**

Paola De Nardo
Laboratorio di Medicina Veterinaria

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

96/38

Istituto Superiore di Sanità

Il mesotelioma pleurico del cane come indicatore di esposizione ambientale ad amianto.

Paola De Nardo

1996, 42 p. Rapporti ISTISAN 96/38

Il mesotelioma pleurico del cane, per la sua eziologia e la sua patogenesi, nelle quali l'esposizione ad amianto svolge un ruolo ormai ben dimostrato, costituisce un "evento sentinella", l'osservazione del quale può far scattare interventi finalizzati alla prevenzione. In particolare, il tempo di induzione-latenza del mesotelioma del cane, dell'ordine degli otto-nove anni, è molto più breve del corrispondente tempo di induzione-latenza nell'uomo (circa trent'anni). L'osservazione di casi di mesotelioma nel cane può contribuire all'individuazione di situazioni di esposizione ad amianto precedentemente non riconosciute. Su questa base, viene proposta la sorveglianza epidemiologica del mesotelioma del cane in Italia.

Parole chiave: Amianto, Esposizione ambientale, Mesotelioma, Sanità pubblica veterinaria

Istituto Superiore di Sanità

Canine pleural mesothelioma as an indicator of environmental exposure to asbestos.

Paola De Nardo

1996, 42 p. Rapporti ISTISAN 96/38 (in Italian)

Canine pleural mesothelioma represents a "sentinel health event" because of the role of asbestos exposure in its etiology and pathogenesis. The observation of such event may thus trigger prevention-oriented remedial actions. This is especially due to the relatively short induction-latency time of canine mesothelioma, i.e. eight-nine years, versus the corresponding induction-latency time in humans (on average about thirty years). The observation of cases of canine mesothelioma may concur to the detection of previously unrecognized hazardous exposures to asbestos. On this ground, the epidemiologic surveillance of canine mesothelioma in Italy is suggested.

Key words: Asbestos, Environmental exposure, Mesothelioma, Veterinary public health

Si ringraziano, per i consigli forniti e gli utili suggerimenti, la Dr V. Ascoli dell'Università degli studi La Sapienza di Roma, il Dr C. Bianchi dell'Ospedale di Gorizia, il Prof. B. Terracini dell'Università degli studi di Torino, il Prof. G. Vitellozzi dell'Università degli studi di Perugia, i colleghi dell'Istituto Superiore di Sanità: Dr L. Paoletti, Dr L. Di Trani, Prof. A. Macrì e, in particolare, il Dr P. Comba per la preziosa guida nell'organizzazione di questo lavoro.

INDICE

Introduzione.....	1
1. IL MESOTELIOMA IN PATOLOGIA	3
1.1 Classificazione.....	4
1.2 Segni clinici	4
1.3 Caratteristiche istologiche e citologiche	5
1.4 Sviluppo e metastasi.....	6
1.5 Diagnosi.....	7
1.6 Casi di mesotelioma negli animali	9
1.7 Eziologia	10
1.8 Patogenesi.....	21
2. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE	24
Appendice - Fibre di amianto e fibre minerali artificiali	28
BIBLIOGRAFIA.....	31

Introduzione

L'incidenza dei mesoteliomi nell'uomo e particolarmente del mesotelioma pleurico è incontrovertibilmente in aumento nei paesi industrializzati, in relazione alla diffusione dell'amianto che è stata particolarmente rilevante a partire dal dopoguerra (1). Tali patologie sono da tempo oggetto di studi e lo stato attuale delle conoscenze ci permette di affermare che l'inalazione di fibre di amianto (Crisotilo, Crocidolite, Amosite, Antofillite, Tremolite) causa l'insorgenza di cancro polmonare, di mesotelioma della pleura, del peritoneo, del pericardio e della tunica vaginale del testicolo (2). Alcuni elementi inoltre suggeriscono un ruolo cancerogeno dell'amianto a carico del tratto gastrointestinale, della laringe, dell'ovaio e del rene, ma per questi siti tumorali non vi è tuttora un accordo definitivo in seno alla comunità scientifica. L'inalazione di amianto causa inoltre l'asbestosi, una particolare fibrosi polmonare. Tutti i tumori suddetti sono stati descritti nell'uomo in seguito ad esposizione professionale ad amianto. Per il mesotelioma pleurico si riconosce anche un nesso causale con l'esposizione di tipo domestico (abiti da lavoro di soggetti esposti professionalmente) ed ambientale (residenza in prossimità di stabilimenti per la lavorazione dell'amianto) (3-12). Il mesotelioma pleurico, a differenza del cancro polmonare che ammette diversi fattori di rischio fra i quali il fumo di sigaretta, è selettivamente indotto dall'esposizione ad amianto. La specificità di questa relazione, insieme alla rarità del mesotelioma in assenza di esposizione ad amianto ed alla sua alta letalità, ha fatto sì che questa patologia sia stata estesamente utilizzata come "marcatore" di pregressa esposizione. Negli studi epidemiologici si utilizzano frequentemente i dati relativi alla mortalità per tumore maligno della pleura come stima dell'incidenza del mesotelioma pleurico. Attualmente si renderebbe necessario acquisire dati sul rischio cancerogeno da amianto nei diversi contesti territoriali con riferimento ad esposizioni cronologicamente più vicine di quelle che causano mesotelioma nell'uomo; questa patologia ha infatti tempi di induzione-latenza dell'ordine di 30-40 anni (13, 14).

Una possibile ipotesi di lavoro è stata identificata nello studio dell'insorgenza del mesotelioma spontaneo nel cane. Alla luce delle più innovative speculazioni in *"Epidemiologia Ambientale Veterinaria"*, infatti, da tempo si sta indagando sulle diverse ipotesi di studio volte a definire in che misura gli animali domestici possano contribuire alla sorveglianza epidemiologica in campo ambientale in Sanità Pubblica. Le patologie ambientali, a cui si fa riferimento, si presentano tuttavia sovente con modalità complesse, trattandosi di patologie ad eziologia multifattoriale e correlata con la dose. Si veda ad

esempio il linfoma del cane come indicatore di esposizione agli erbicidi (15) ed ai campi magnetici (180). Il mesotelioma del cane, vista la similitudine con quello umano rispetto alle caratteristiche istopatologiche e all'interpretazione eziopatogenetica, e grazie al minor tempo di induzione-latenza legato anche al più breve lasso di vita, sembra di fatto costituire una patologia "modello" per studi di Epidemiologia Ambientale. Anche in Medicina Veterinaria i mesoteliomi spontanei sono da annoverare fra le patologie rare e poco documentate, a differenza di quelli indotti sperimentalmente in diverse specie animali che hanno trovato largo spazio in letteratura, fornendo un importante contributo nella determinazione dell'eziopatogenesi dei mesoteliomi sia umani che animali (16-23). Diversi elementi emersi dall'analisi ancora frammentata delle forme spontanee di mesotelioma pleurico e confortati dai risultati delle prove sperimentali sui cani, indirizzano verso una interpretazione eziopatogenetica simile a quella dell'uomo. Pur trattandosi di una patologia rara, si ha motivo di ritenere che sia in aumento, anche se non esistono attualmente dati di prevalenza e di incidenza validi ai fini epidemiologici (24), analogamente a quanto avviene per la corrispondente forma nell'uomo per la quale è in atto una sorveglianza epidemiologica (25-30).

Obiettivo del presente rapporto è quello di fornire una presentazione aggiornata del mesotelioma del cane dal punto di vista clinico e patologico, e di valutare i possibili sviluppi che lo studio di tale neoplasia offre per indagini di epidemiologia ambientale comparata. Il rapporto comprende una parte descrittiva relativa al mesotelioma ed una rassegna aggiornata della bibliografia dei casi pubblicati, con particolare riferimento al mesotelioma del cane.

In conclusione vengono formulate alcune considerazioni relative agli aspetti di fattibilità delle ricerche in esame. In particolare si propone la costruzione di un sistema di osservazione di mesoteliomi degli animali domestici, con particolare riferimento al mesotelioma pleurico del cane. Per queste patologie si prevede di integrare la segnalazione dei casi con la raccolta di notizie anamnestiche e, ove possibile, con il dosaggio delle fibre di amianto nel tessuto polmonare. La messa a punto di protocolli tecnici per queste diverse fasi della rilevazione e la costituzione di una rete di strutture che collaborano alla ricerca contribuirà ad una migliore conoscenza del fenomeno ed alla sua utilizzazione a fini di controllo e prevenzione della patologia da amianto in Italia.

1. IL MESOTELIOMA IN PATOLOGIA VETERINARIA

In "Tumors in domestic animals" (31), Head ha descritto ampiamente le caratteristiche principali di questa neoplasia.

I mesoteliomi sono neoplasie derivanti dalle cellule mesoteliali che, disposte in singolo strato, rivestono le tre maggiori cavità celomatiche (pleurica, pericardica, peritoneale) allungandosi, lungo il funicolo spermatico, fino alla superficie dei testicoli e possono essere benigni o maligni in relazione al loro comportamento biologico.

I mesoteliomi sono rari. Si presentano con una più alta frequenza nei bovini, soprattutto come neoplasia congenita in feti e neonati, e nei cani come localizzazione pleurica. Sono occasionalmente riscontrati nei cavalli, gatti, suini ed altre specie animali.

I mesoteliomi si presentano generalmente come noduli multipli consistenti, sessili o peduncolati, con diametro che varia da pochi millimetri fino a 10 centimetri. A volte la superficie si presenta ruvida con villi o screpolature c.d. a cavolfiore, e la superficie sierosa sottostante è evidentemente ispessita; occasionalmente sono stati identificati mesoteliomi simili a placche.

Il colore va dal bianco grigio al rosso giallo in relazione alla formazione di emosiderina.

Nei tumori sclerosanti, associati alla formazione di aderenze, le lesioni possono ricordare una peritonite cronica granulomatosa; l'eventuale presenza di ascite nei mesoteliomi peritoneali è conseguenziale al blocco dei vasi linfatici.

Quando c'è diffusione transcelomatica, le lesioni tendono ad essere più larghe e possono essere confluenti. Spesso la superficie parietale della sierosa è più interessata di quella viscerale e la superficie di taglio mostra frequentemente la mancanza di uno sviluppo infiltrativo nel tessuto sottostante.

Le forme più frequenti sono due: una predominantemente papillare che assomiglia ad un adenocarcinoma ed una a cellule fusiformi che ricorda il fibrosarcoma. Il tumore più comune si presenta come una massa solida costituita da un monostrato di cellule mesoteliali neoplastiche, scure, cuboidali rigonfie e cilindriche oppure di tipo epitelioidi arrotondate, con un margine distinto ed abbondante citoplasma, con uno stroma fibrocellulare proliferante.

I mesoteliomi che ricordano gli adenocarcinomi possono mimare con precisione l'impianto di un vero carcinoma rendendo difficoltoso eseguire una diagnosi differenziale.

1.1 Classificazione

Seguendo lo schema adottato in patologia umana da Enzinger (32) e successivamente da Henderson (188) si devono assolutamente specificare le caratteristiche istologiche, l'estensione della lesione, la localizzazione anatomica (pleura, peritoneo, pericardio e tunica vaginale del testicolo) ed il comportamento biologico. Questi tumori possono essere definiti benigni o maligni proprio in relazione al loro comportamento biologico ed alle caratteristiche macroscopiche dell'impianto, più che alla tendenza a produrre metastasi. I mesoteliomi possono presentare uno spettro di configurazioni istologiche da predominantemente epitelioide a predominantemente fibrosa. Un tumore che presenti in egual misura caratteristiche intermedie viene detto bifasico.

Le cellule epiteliodi possono presentare un crescente sviluppo di tipo tubulare, papillare, o tubulo-papillare. Le cellule della componente fibrosa sono di aspetto fusato. L'estensione della lesione può variare da localizzata a diffusa, e quest'ultima comporta lesioni multiple che coinvolgono aree estese delle cavità sierose. Si tende a raggruppare il mesotelioma in due gruppi: mesotelioma benigno (prevalentemente fibroso e localizzato) e mesotelioma maligno (prevalentemente diffuso, epitelioide, sarcomatoso o bifasico).

1.2 Segni clinici

In relazione alle diverse localizzazioni tumorali è possibile identificare una sintomatologia corrispondente.

In caso di mesotelioma pericardico, si può manifestare un blocco cardiaco per accumulo di essudato nel sacco pericardico. Il volume di liquido necessario per produrre segni evidenti va da 200 ml nel gatto a circa tre litri nel cavallo. Il sintomo può essere alleviato con la pericardiocentesi, ma l'essudato tende a riformarsi con una certa facilità. La velocità con cui si riforma, nel cane, è pari a circa 320 ml ogni 5 giorni. Non si sa con

certezza se il liquido prodotto in eccesso derivi dalle cellule o sia associato ai vasi oppure alla riduzione del drenaggio del fluido normalmente prodotto.

Il mesotelioma pleurico, allo stesso modo, può portare ad un accumolo di fluido nella cavità toracica e può causare dispnea e collasso alveolare nei lobi cranio-ventrali del polmone. Le lesioni intratoraciche sono ben evidenti se la radiografia è eseguita immediatamente dopo la toracocentesi.

Per avere sintomi manifesti sono necessarie quantità che vanno da 2 litri nel cane a 60 litri nel cavallo.

Il mesotelioma peritoneale è associato a distensione addominale progressiva. Nel cavallo adulto, per esempio, il liquido prodotto può superare i 30 litri e provocare coliche intestinali. La forma congenita di tumore nei bovini può causare difficoltà al parto per la presenza nella cavità peritoneale del feto fino a 12 litri di liquido, oppure per la marcata idropisia della membrana amniotica.

Il liquido drenato da una di queste cavità può mostrare eritrociti liberi, un basso contenuto in proteine, assenza di coaguli e rare cellule nucleate.

Queste cellule possono essere leucociti o, spesso, cellule tumorali desquamate, quando si sia in presenza di mesotelioma prevalentemente di tipo epitelioide (33).

1.3 Caratteristiche istologiche e citologiche

Le cellule mesoteliali sono disposte in un monostrato sottile. In seguito ad infiammazione aumentano di spessore fino ad assumere un aspetto cubico e vengono definite "reattive".

Questo stato di "attivazione" si può ottenere sperimentalmente nei ratti in seguito ad iniezione intraperitoneale con crocidolite (34).

Le cellule mesoteliali "reattive" hanno più enzimi glicolitici, una maggiore respirazione mitocondriale e la presenza di acido ialuronico di incerta derivazione (35). Al microscopio elettronico (M.E.) presentano un'abbondante quantità di glicogeno, un reticolo endoplasmatico rugoso molto sviluppato ed un ampio apparato del Golgi.

Nei versamenti reattivi sono state descritte tre tipi di cellule mesoteliali: cellule piccole rotonde di desquamazione, cellule medie "reattive" con abbondante citoplasma e grandi cellule vacuolizzate. Sia in presenza di mesotelioma che di neoplasie epiteliali metastatiche si osservano cellule mesoteliali "reattive" alcune delle quali possono essere

binucleate, multinucleate, o presentare mitosi. Risulta molto indaginoso differenziare le cellule mesoteliali "reattive" da quelle neoplastiche. Sebbene siano allo studio specifici marcatori in grado di differenziare potenzialmente questi due tipi di cellule, attualmente, ai fini diagnostici, l'esame citologico è in grado di consentire una diagnosi di "alto sospetto", mentre l'interpretazione istologica resta la possibilità più attendibile per differenziare un versamento di natura reattiva da un versamento mesoteliomatoso.

In analogia alla patologia umana, la diagnosi citologica presenta infatti alcuni problemi che vengono presi in considerazione da van Ooijen (36), Geib (37) ed Else (32). Le cellule mesoteliali "reattive" si presentano sia singole che in raggruppamenti di quattro o cinque cellule. I nuclei sono centrali, da rotondi ad ovali, uniformi in diametro, occupano fino alla metà della cellula, ed hanno uno o più piccoli nucleoli. E' comune la presenza di cellule binucleate. Il citoplasma, basofilo con la colorazione di Romanovsky, è finemente vacuolato, oppure denso ed omogeneo e può contenere cellule e particelle fagocitate. Con la colorazione PAS i vacuoli sono positivi; i granuli di glicogeno possono essere digeriti con il pretrattamento con diastasi. Le cellule mesoteliali neoplastiche, a differenza di quelle "reattive" (38), si presentano sia come elementi singoli sia come elementi riuniti in più cellule, sia in raggruppamenti tridimensionali o sferici con un centro solido che sembra mimare gli acini dell'adenocarcinoma. I nuclei differiscono in grandezza, sono spesso larghi ed hanno nucleoli grandi ed eosinofili. Il citoplasma, oltre a fini granuli di glicogeno, presenta spesso larghi vacuoli PAS negativi a differenza degli adenocarcinomi che risultano diastasi PAS positivi. Trigo *et al.* (39), in un accurato studio al microscopio elettronico, dimostrano la presenza di microvilli ben sviluppati, desmosomi, numerosi mitocondri, ed un reticolo endoplasmatico molto abbondante, mentre altri Autori riferiscono di vacuoli con materiale rifrangente non reattivo con diverse colorazioni (PAS, *Alcian blue*, mucicarminio, ed *oil red O*) e di cellule epiteliodi ciliate (40-42).

La variazione in sostanza fondamentale è stata descritta nelle diverse specie animali (43); McCullagh *et al.* (44) descrivono lo stroma come "mixomatoso", Andrews (45) paragona lo stroma a cartilagine molle, Brown e Weaver (46) riportano nell'agnello lo sviluppo di isole di cartilagine. Dulbiezlig (47) introduce il termine di "mesotelioma sclerosante" per quei tumori composti da spesse masse fibrose, contenenti cellule anaplastiche. Oltre alla metaplasia cartilaginea ci sono esempi di formazione di tessuto con sostanza osteoide e persino osso mineralizzato, che deve essere differenziato da forme di calcificazione distrofica associate ai processi necrotici. La presenza di cellule

giganti multinucleate simili a quelle che si riscontrano nelle sierositi tubercolari, rende obbligatoria la ricerca di organismi acido-resistenti, soprattutto per le lesioni congenite del bovino (41, 48).

1.4 Sviluppo e metastasi

E' raro trovare casi di tumori spontanei negli animali che stabiliscono senza dubbio i criteri essenziali per la diagnosi di mesotelioma. Le eventuali metastasi presentano così problemi di interpretazione. In casi congeniti di vitelli, riportati da Grant (48) e Baskerville (49), si è potuto individuare nella pleura e peritoneo che il tumore ha una origine multicentrica, ma è possibile un impianto transcelomatico. E' accettato in generale che il tumore cresca nel lume della cavità celomatica ed anche quando si presenta di grandezza limitata mostra un'invasione del tessuto sottostante. Solo raramente possono essere rinvenute delle metastasi distanti. Kramer *et al.* (38) hanno evidenziato nel cavallo una invasione in una piccola area del polmone che non può essere considerata una metastasi e nel cane Ikede *et al.* (42) descrivono l'invasione del tessuto connettivo del pericardio ed agglomerati linfatici di tessuto tumorale, senza che vengano osservate metastasi distanti. In molte specie animali è stato descritto un coinvolgimento dei linfonodi di drenaggio. Sebbene gli emboli possano essere la sorgente della diffusione in molti casi, l'estensione diretta del tumore dalla sierosa adiacente sembra essere in ogni caso la spiegazione più probabile.

La disseminazione per via ematica è estremamente rara. In un cane Geib *et al.* (37) descrivono un caso di metastasi dalla pleura al muscolo cardiaco ed al cervello rinvenute solo in seguito all'esame al microscopio; Brown e Weaver (46) in un agnello mostrano invece metastasi multiple polmonari di 2 cm di diametro; e solo uno dei sette casi di mesotelioma descritti da Thrall e Goldschmidt (50) presenta foci metastatici di derivazione ematica a partire da un mesotelioma pleurico primario.

1.5 Diagnosi

Molti casi di mesotelioma citati in letteratura potrebbero essere frutto di diagnosi errata; ad esempio una malattia delle sierose secondaria ad un tumore primario degli

organi limitrofi non individuato può verosimilmente condurre a formulare una diagnosi di mesotelioma.

Dai risultati delle prime esperienze di epidemiologia umana (51) emerge che molti casi vengono persi perché non viene eseguita l'autopsia oppure perché i dati anamnestici sono tali da non indirizzare adeguatamente le indagini necroscopiche. Nella pratica veterinaria potrebbe essere dunque di ausilio seguire uno schema di indagine come quello, in parte, suggerito da Head (31) ed ampliato di volta in volta secondo la necessità del caso.

- a. **Anamnesi-** Per formulare una diagnosi affidabile sarebbe necessario possedere un'anamnesi accurata raccolta in modo tale da consentire un esame necroscopico mirato ed eventuali indagini epidemiologiche retrospettive.

Sarà dunque necessario per esempio raccogliere:

1. informazioni su precedenti rimozioni di tumori ed eventuale data dell'intervento;
 2. notizie di malattie pregresse associate con le cavità celomatiche come per esempio la rottura spontanea dell' atrio del cuore; tale patologia comporta la presenza di fluido nel sacco pericardico, l' attivazione abbondante del mesotelio ed una risoluzione parziale che mima verosimilmente il mesotelioma stesso;
 3. dati riguardanti sia l'ambiente in cui vive l'animale sia le abitudini e lo stile di vita del proprietario.
- b. **Campionamento.** I campioni di tessuto dovrebbero essere prelevati in modo tale da permettere eventuali diagnosi differenziali. Per esempio il provvedere nella routine diagnostica a fissare i campioni di polmone con una sezione di parete toracica consentirebbe la possibilità di identificare un eventuale tumore primario della superficie della pleura. Essendo poi i tumori primitivi del polmone negli animali domestici un evento raro (5.6/100.000, 4.17/100.000) come si può evincere dalle stime effettuate rispettivamente da Suter (52) e Dorn *et al.* (181), è necessario condurre, con molta attenzione, la ricerca nel distretto toracico di eventuali fonti di metastasi pleuriche come: carcinoma delle mammelle toraciche, neoplasie del mediastino anteriore, tumori secondari dei linfonodi o carcinoma primario del timo.

Anche per quanto riguarda la cavità addominale si rende necessario esaminare meticolosamente tutti gli organi interni, le ovaie, l'utero, il tratto alimentare e la prostata prima di fare una diagnosi di mesotelioma peritoneale. E' interessante ricordare che ci può essere interessamento pleurico in seguito ad una diffusione dal peritoneo attraverso

il diaframma. Una diffusione attraverso i vasi linfatici della sott sierosa depone invece per un tumore secondario.

Molti adenocarcinomi passano nella cavità celomatica come cellule isolate che si depositano con la fibrina sulla superficie delle cellule mesoteliali attivate e vengono poi incorporate attraverso l'organizzazione della stessa, proprio nella sierosa. Queste cellule che tendono a strutturarsi in acini ben evidenziabili possono, solo in una fase successiva, esibire la capacità di sintetizzare mucina e rendersi più facilmente differenziabili.

1.6 Casi di mesotelioma negli animali

Possono essere colpiti da mesotelioma spontaneo molte specie animali, diverse per costituzione anatomica, alimentazione, ambiente e durata media della vita rendendo difficile l'individuazione di eventuali fattori predisponenti e/o causali. Sebbene le osservazioni riguardanti i casi di mesotelioma degli animali risultano essere scarse ed isolate i casi segnalati nel bovino e nel cane sono sicuramente più numerosi rispetto alle altre specie animali come si può evincere dai dati di Wolfe *et al.* (147) e Stober *et al.* (197). A differenza del cane, il mesotelioma nei bovini si manifesta in soggetti immaturi o neonati ed in soggetti di età molto avanzata e risulta essere in prevalenza di tipo peritoneale. Nei cani invece, il mesotelioma si presenta prevalentemente in soggetti in età adulta, intorno agli 8 anni e la sede più frequentemente colpita è quella pleurica e pericardica anche se un'attenta revisione dei casi registrati come adenomi ed adenocarcinomi ovarici potrebbe modificare tali rapporti Cammarata *et al.* (198).

Di seguito vengono riportati in tabelle suddivise per specie animale solo alcuni casi di mesotelioma, i più attendibili, scelti fra quelli pubblicati in letteratura durante una ricerca allargata ma sicuramente non completa della stessa. Le tabelle sono organizzate in primo luogo per specie animale e quindi per sito anatomico della lesione.

Ilgren (88) nel suo compendio cita, anche se con alcune ripetizioni od imprecisioni tipiche di queste grandi raccolte, i casi di mesotelioma spontanei e sperimentali nelle diverse specie animali, attingendo anche da fonti ricche e riservate come il registro tumori dell'AFIP (Armed Forces Institute of Pathology) e dello Smithsonian Institute.

Tabella 1. *Invertebrati, vertebrati inferiori e volatili*

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Pericardio	Mollusco adulto		Gardner <i>et al.</i> 1991	(89)
Pleura	Rana (M+F)		Duryee 1965	(90)
-	Serpente (M)	15 anni	Machotka & Whithney 1980	(91)
-	Pesce		Harshbarger & Clark 19990	(92)
Pericardio	Pesce	30 anni	Shields & Popp 1979	(95)
Peritoneo	Pesce		Herman 1985	(93)
Sierosa esofagea	Pesce		Ladreyt 1922	(94)
Peritoneo	Pollo		Jeckson 1936	(96)
Peritoneo e pleura	Pollo (F)	8 mesi	Patnaik & Mohanty 1970	(97)

Rif. bib. = Riferimenti bibliografici; (M) = Maschio; (F) = Femmina

Tabella 2. *Roditori*

Sede del mesotelioma	Soggetti	Autori	Rif. bib.
Peritoneo	Hamster (M)	Fortner 1961	(98)
Peritoneo	Coniglio (F)	Lichtensteiger & Leathers 1987	(99)
Mediastino	Ratto	Maekawa <i>et al.</i> 1983 ab	(107-108)
Ovaio-pleura - pericardio	Ratto	Gilbert & Gillmann 1958	(106)
Peritoneo	Ratto (M)	Maekawa e Odashima 1975	(109)
Peritoneo	Ratto	Burek e Hollander 1977	(110)
Peritoneo - pleura	Ratto	Gilbert & Gillmann 1958	(106)
Peritoneo-t.vaginale-pleura	Ratto	Maekawa <i>et al.</i> 1983 ab	(107-108)
Pleura	Ratto (F)	Boorman e Hollander 1973	(114)
Pleura - t.vaginale - ovaio	Ratto (M+F)	Solleveld <i>et al.</i> 1984	(105)
Testicolo	Ratto	Coleman <i>et al.</i> 1977	(104)
Tunica vaginale	Ratto (M)	Mastofi & Bresler 1976	(100)
Tunica vaginale	Ratto	Mawdesley & Hague 1970	(101)
Tunica vaginale	Ratto	Hollander 1976	(102)
Tunica vaginale	Ratto	Burek 1978	(103)
-	Ratto (M+F)	Goodman <i>et al.</i> 1979	(111)

Tabella 2. *segue*

Sede del mesotelioma	Soggetti	Autori	Rif. bib.
-	Ratto (M+F)	Sass <i>et al.</i> 1975	(112)
-	Ratto	Mackenzie & Garner 1973	(113)

Rif. bib.= riferimenti bibliografici; (M)= Maschio; (F)= Femmina

Tabella 3. *Canidi*

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Pericardio	Cane (M)	7 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Pericardio	Cane (F)	7 anni	Mariotti 1995	(193)
Pericardio	Cane (F)		Nierman 1935	(130)
Pericardio	Cane (M)	9 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)
Pericardio	Cane (M)	7 anni	Teunissen 1981	(128)
Pericardio	Cane (F)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Pericardio	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Pericardio	Cane (M)	11 anni	Brunner 1972	(129)
Pericardio	Cane (M)	11 anni	Ikede <i>et al.</i> 1980	(42)
Pericardio	Cane (F)	13 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Peritoneo - pericardio	Cane (M)	5 anni	Smith & Hill 1989	(132)
Peritoneo	Cane (M)	6 anni	Kosbohm 1977	(115)
Peritoneo	Cane (F)		Howard&Nielsen 1965	(116)
Peritoneo	Cane	6 mesi	Rayan 1973	(117)
Peritoneo	Cane -		Jackson 1936	(118)
Peritoneo	Cane (M)	8 anni	Dubielzig 1979	(119)
Peritoneo	Cane (F)	12 anni	Diaz 1974	(120)
Peritoneo	Cane (M)	12 anni	Glickman 1983	(56)
Peritoneo	Cane (M)	7 anni	Glickman 1983	(56)
Peritoneo	Cane (M)	9 anni	Glickman 1983	(56)
Peritoneo	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Peritoneo	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Peritoneo	Cane (M)	11 anni	Loupal 1982	(121)
Peritoneo	Cane (F)	10 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)

Tabella 3. segue

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Pleura	Cane (M c.)	4anni	Moore <i>et al.</i> 1991	(122)
Pleura	Cane (F o.)	6 anni	Moore <i>et al.</i> 1991	(122)
Pleura	Cane (F o.)	5 anni	Moore <i>et al.</i> 1991	(122)
Pleura	Cane (M)	7 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Pleura	Cane (M)	9 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Pleura	Cane (F)	9 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Pleura	Cane (M)	4 anni	Thrall & Goldschmidt 1978	(55)
Pleura	Cane (F)		Stewart 1966	(123)
Pleura	Cane (F)	15 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane (M)	9 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane (F)	12 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane (F)	8 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane (F)	7 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane (F)	13 anni	Morrison 1984	(124)
Pleura	Cane -	13 anni	Head 1976	(125)
Pleura	Cane (F)	5 anni	Breeze & Lauder 1975	(43)
Pleura	Cane (F o.)	5 anni	Trigo <i>et al.</i> 1981	(39)
Pleura	Cane (M)	8 anni	Matejic-Dardevic' 1975	(126)
Pleura	Cane (M)	9 anni	Geib <i>et al.</i> 1962	(37)
Pleura	Cane (M)	8 anni	Gembardt 1975	(127)
Pleura	Cane (M)	9 anni	Loupal 1982	(121)
Pleura	Cane (F)	15 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)
Pleura	Cane (M)	11 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)
Pleura	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura	Cane (M)	5 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura	Cane (M)	11 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - pericardio	Cane (M)	7 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)
Pleura - peritoneo	Cane (F)	4 anni	Kasbohm 1977	(115)
Pleura - peritoneo	Cane (F)	8 anni	Harbison & Godleski 1983	(54)

Tabella 3. segue

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Pleura - peritoneo	Cane (M)	8 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	10 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	7 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	7 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	10 anni	Glickman 1983	(56)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	8 anni	Craig 1985	(131)
Pleura - peritoneo	Cane (M)	12 anni	Dubielzig 1979	(119)
-	Cane		Roszel 1967	(133)
Pericardio	Volpe		Nordstoga & Landsverk 1981	(133)

Rif. bib.= Riferimenti bibliografici; (M)=Maschio; (F)=Femmina; o.=Ovariectomizzata; c.=Castrato

Tabella 4. Felini

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Pericardio	Gatto (F o.)	5 anni	Tilley <i>et al.</i> 1975	(137)
Peritoneo-pleura	Gatto		Creighton & Wilkins 1975	(135)
Peritoneo-pleura	Gatto (F)	9anni	Raflo & Nuernberger 1978)	(136)
Pleura	Gatto (F)	3 anni	Andrews 1973	(45)
Pleura	Leopardo (M)		Stewart 1966	(138)
Pleura	Leopardo		Ilgren 1982	(139)

Rif. bib.= Riferimenti bibliografici; (F)=Femmina; (M)=Maschio; o.=Ovariectomizzata

Tabella 5. Bovini e bufalini

Sede del mesotelioma	Autori	Rif. bib.
Mesentere	Marcato 1939	(165)
Pericardio	Yadigirkar <i>et al.</i> 1973	(160)
Pericardio	Restucci <i>et al.</i> 1994	(196)
Peritoneo	Sakai <i>et al.</i> 1987	(140)
Peritoneo	Henschen & Alegren 1927	(141)
Peritoneo	Head 1976	(125)
Peritoneo	Misdorp 1967	(142)
Peritoneo	Grant 1958	(48)

Tabella 5. *segue*

Sede del mesotelioma	Autori	Rif. bib.
Peritoneo	Purman 1930	(144)
Peritoneo	Drieux et al. 1949	(145)
Peritoneo	Midsorp 1965	(41)
Peritoneo	Midsorp 1963	(143)
Peritoneo	Hashimoto et al. 1989	(146)
Peritoneo	Wolfe et al. 1991	(147)
Peritoneo	Anderson <i>et al.</i> 1984)	(148)
Peritoneo	Pearson <i>et al.</i> 1982	(149)
Peritoneo	Charan <i>et al.</i> 1974	(150)
Peritoneo	Vestweber <i>et al.</i> 1986	(151)
Peritoneo	Klopfer et al. 1983	(152)
Peritoneo	Shortridge & Cordes 1971	(153)
Peritoneo	Hugh - Jones 1972	(154)
Peritoneo	Monlux <i>et al.</i> 1956	(155)
Peritoneo	Cothchin 1960	(156)
Peritoneo	Jackson 1936	(118)
Peritoneo	Dukes <i>et al.</i> 1981	(157)
Peritoneo	Dixit et al. 1981	(157)
Peritoneo	Singh 1970	(166)
Peritoneo	Croft 1983	(195)
Peritoneo	Stöber <i>et al.</i> 1990	(197)
Peritoneo - tunica vaginale	Ladds <i>et al.</i> 1976	(159)
Pleura	Rao & Mohiyuddin 1974	(160)
Pleura - peritoneo	Baskerville 1967	(49)
Pleura - peritoneo	Wolfe <i>et al.</i> 1991	(147)
Pleura - peritoneo	Vitovec 1976	(162)
Pleura - peritoneo	Schamber et al. 1982	(163)
Pleura - peritoneo	Plummer 1956	(164)

Rif. bib. = *Riferimenti bibliografici*

Tabella 6. Suini

Sede del mesotelioma	Autori	Rif. bib.
Pericardio	Davis <i>et al.</i> 1933	(168)
Pleura - peritoneo	Brandly & Migaki 1963	(167)
Pleura	Seffner & Fritzsich 1964	(169)

Rif. bib.= Riferimenti bibliografici

Tabella 7. Equini

Mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Endotelioma pericardico	Cavallo (M)	8 anni	Cotchin 1977	(174)
Endotelioma peritoneale	Cavallo	12 anni	Cotchin 1956	(170)
Hemangioendotelioma peritoneale	Cavallo (F)	21 anni	Waller & Rubarth 1967	(172)
Lymphangioma pleurico	Cavallo		Jackson 1936	(118)
M. pericardico	Cavallo (F)	27 anni	Carmine <i>et al.</i> 1977	(171)
M. peritoneale	Cavallo (F)	6 anni	Ricketts & Pearce 1976	(40)
M. pleurico	Cavallo (M)	8 anni	Straub <i>et al.</i> 1974)	(173)
M. pleurico	Cavallo (F)	13 anni	Kramer <i>et al.</i> 1976	(38)

Rif. bib. = Riferimenti bibliografici; (F)= Femmina; (M)= Maschio

Tabella 8. Ovini e caprini

Sede del mesotelioma	Soggetti	Età	Autori	Rif. bib.
Peritoneo			Plummer 1956	(164)
Peritoneo			Nobel <i>et al.</i> 1976	(175)
Peritoneo			Ilgren 1982	(139)
Peritoneo	Ovino (M)	4 mesi	Brown & Weaver 1981	(176)
Peritoneo - pleura	Ovino (F)	5 anni	Byerly <i>et al.</i> 1989	(177)
Pleura	Caprino		McCullagh <i>et al.</i> 1979	(44)

Rif. bib.= Riferimenti bibliografici; (M)= Maschio; (F)= Femmina

Tabella 9. Marsupiali

Sede del mesotelioma	Soggetti	Autori	Rif. bib.
Peritoneo	Koala	Canfield <i>et al.</i> 1990	(178)
Peritoneo	Koala	Sollefeld 1978	(179)

Rif. bib.= Riferimenti bibliografici;

1.7 Eziologia

Come è stato discusso nella premessa, esiste un evidente legame epidemiologico tra mesotelioma e l'inalazione di asbesto nell'uomo; a fronte di questo dato, non ci sono ancora molti studi epidemiologici per gli animali domestici. Pochi casi di mesotelioma sono stati esaminati per la presenza di amianto. La letteratura raccolta offre, comunque, diversi elementi che suggeriscono una correlazione tra l'esposizione ad amianto e l'insorgenza di mesotelioma nel cane, e nel bovino. Secondo alcuni autori come nel cane è plausibile sospettare una relazione tra esposizione ad asbesto e mesotelioma bovino. In particolare Croft (195) dimostra fibre di amianto in 7 mesoteliomi peritoneali osservati e nell'acqua di bevanda di 5 aziende delle 10 da cui provenivano gli animali esaminati. e più recentemente Stober (197) in un'indagine retrospettiva su 12 mesoteliomi bovini, individua nelle strutture in cemento-amianto presso le aziende agricole dove i bovini erano stati allevati, la presunta fonte di esposizione. ma non ci sono invece suggerimenti di nesso causale per le altre specie animali.

Nel 1931 si ha la prima segnalazione di asbestosi (53) in un cane di razza terrier vissuto per 10 anni presso una fabbrica per la lavorazione dell'amianto. Harbison e Godleski nel 1983 (54) rilevano la presenza di corpuscoli di amianto nel tessuto polmonare di 5 cani su 6 colpiti da mesotelioma viventi in area urbana, e già Thrall e Goldschmidt nel 1978 (55) avevano individuato una maggiore prevalenza di mesoteliomi fra i cani viventi in area urbana. Glickman *et al.* 1983 (56), nel corso di uno studio caso-controllo, evidenziano nel polmone di tre soggetti con mesotelioma, fra 18 indagati, un quantitativo di fibre confrontabili a quelli trovati nei polmoni di casi umani affetti da mesotelioma. In tale studio per la prima volta si individua una relazione tra l'attività occupazionale ed hobbistica dei proprietari dei cani e la possibile esposizione a fibre di amianto dei cani con mesotelioma. In Tabella 10, dove vengono riassunti i lavori nei quali gli autori hanno potuto individuare una relazione con la probabile sorgente di amianto, si può evidenziare come l'intuizione di Schuster, che vede nel cane un possibile

modello per lo studio del mesotelioma dell'uomo, sarà ripresa solo in tempi molto recenti con la forza scientifica di uno studio retrospettivo come quello di Glickman.

Tabella 10. *Casi di mesotelioma nel cane per i quali si può supporre od evidenziare una relazione con l'esposizione ad amianto..*

Autori	Soggetti studiati	Relazione con la sorgente	Risultati
Schuster (1931)	Terrier 10 anni	Soggetto vissuto circa 10 anni come cacciatore di ratti in una fabbrica di amianto	Asbestosi, presenza di fibre di amianto, assenza di "corpi classici"
Breeze (1975)	Irish Terrier (F) 5 anni	Proprietario carrozziere e tappeziere. Ignorata una possibile fonte di amianto in casa o nel posto di lavoro	M. pleurico a struttura predominantemente epitelioida, assenza di corpi e fibre di amianto
Thrall & Goldschmidt (1978)	Golden Retriever (M) 7 anni Chesapeake Bay Retriever (M) 7 anni Meticcio (M) 9 anni Borzoï (F) 9 anni Dachshund (F o.) 13 anni Bernese (M) 4 anni	Soggetti residenti in area urbana, assenza di ulteriori relazioni con fonte di amianto	M. della superficie viscerale del pericardio (epicardico) con metastasi ai linfonodi mediastinici M. pleurico M. pleurico con metastasi ai linfonodi sternali M. pleurico M. epicardico M. pleurico con metastasi al fegato, reni, polmoni, linfonodi mediastinici e renali

Tabella10. segue

Autori	Soggetti studiati	Relazione con la sorgente d'amianto	Risultati
Trigo <i>et al.</i> (1981)	Labrador (F o.) 5 anni	Assenza di amianto	M. pleurico di tipo epiteliale
Harbison & Godleski (1983)	Doberman (F) 8 anni Cocker spaniel (M) 9 anni Dachshund (F) 15 anni Setter inglese (M) 11 anni Terrier incrocio (F) 10 anni Collie incrocio (M) 7 anni	Corpi di amianto e segmenti ferrosi atipici Corpi di amianto, corpi e segmenti ferrosi atipici Segmenti ferrosi atipici Corpi e segmenti ferrosi atipici Corpi di amianto, corpi e segmenti atipici	M. pleurico M. peritoneale M. pericardico M. pleurico M. peritoneale M. pleurico e pericardico con metastasi: linfatici delle surrenali e linfonodo mesenterico
Glickman <i>et al.</i> (1983)	Incrocio (M) 12 anni Pastore tedesco (M) 7 anni Pastore tedesco (M) 9 anni Doberman (M) 8anni	I proprietari di 9 cani hanno un'occupazione od hobby legati all'amianto. Nel caso di 5 cani sono stati effettuati lavori di ristrutturazione ed isolamento nella casa. La residenza di 5 cani risulta essere in prossimità di una sorgente di amianto. Sono stati effettuati trattamenti con antiparassitari su 5 cani.	M. peritoneale M. peritoneale M. peritoneale M. pleurico e peritoneale

Tabella 10. segue

Autori	Soggetti Studiati	Relazione con la sorgente d'amianto	Risultati
Glickman <i>et al.</i> (1983)	Setter irlandese (F o.) 8 anni	In tre soggetti vengono rinvenute fibre di amianto	M. pericardico
	Bovaro delle fiandre (M) 8 anni		M. peritoneale
	Incrocio (M) 10 anni		M. pleurico e peritoneale
	Bovaro delle fiandre (M) 8 anni		M. pleurico
	Pastore tedesco (M) 7 anni		M. pleurico e peritoneale
	Boston terrier (M) 7 anni		M. pleurico e peritoneale
	Setter irlandese (M) 5 anni		M. pleurico
	Pastore tedesco (M) 10 anni		M. pleurico e peritoneale
	Bernese (M) 4 anni		M. pleurico
	Pastore inglese (M) 6 anni		M. pericardico
	Pastore tedesco (M) 8 anni		M. peritoneale
	Pointer (M) 11 anni		M. pleurico
	Incrocio (M) 8 anni		M. pleurico
Pastore tedesco (M) 6 anni	M. peritoneale		

(F)= Femmina; (M)= Maschio; o. = Oariectomizzata

Sebbene tali rilievi possano essere considerati non esaurienti presi isolatamente, essi assumono un elemento di maggiore significatività se confrontati con i risultati dei numerosi studi sperimentali che si sono succeduti dagli anni 60 in poi.

Senza tralasciare gli estesi studi sperimentali effettuati su diverse specie animali da laboratorio come ricordato in premessa, vale la pena considerare il lavoro di Humphrey 1981 (57). In questo studio a 9 cani viene somministrato per un periodo di tre anni crocidolite per via intratracheale ed a 7 dei 9 soggetti vengono fatte fumare 9 sigarette al giorno per 5 giorni a settimana per sei anni. Sebbene gli autori non siano riusciti a dimostrare con chiarezza il sinergismo d'azione del fumo con l'amianto, i risultati ottenuti (6 mesoteliomi e 4 adenocarcinomi) confortano ulteriormente i risultati degli sporadici studi sui mesoteliomi spontanei.

Peterson *et al.* 1983 (58) in una rassegna prendono in esame quegli agenti diversi dall'asbesto come possibili induttori di mesotelioma sia negli uomini che negli animali. Sanders e Jackson (59) con iniezione intraperitoneale di particelle di $^{239}\text{PuO}_2$ riproducono il mesotelioma (epiteliale) nel 27% dei ratti e la patogenesi appare simile a quella supposta in seguito a somministrazione intraperitoneale di fibre di amianto.

Hueper (60) trattando dei ratti per diverse vie di somministrazione (intrafemorale, intrapleurica, intranasale) con polvere di nichel verificò l'insorgenza di sarcoma solo nel sito di inoculazione intrapleurica anche se non è chiaro nella discussione il procedimento diagnostico, mentre Wagner (61) dimostra in un ampio studio condotto nei ratti, un'associazione tra la polvere di silicio e l'insorgenza di mesotelioma. Suzuki *et al.* (62, 63) hanno indotto mesotelioma nei topi usando fibre di zeolite. Stanton *et al.* (64, 65) sono riusciti ad indurre un numero significativo di mesoteliomi nei ratti dopo iniezione intrapleurica di diverse fibre (crocidolite, crisotilo, amosite, fibre di vetro, attapulgitite, dawsonite, ossido di alluminio, titanato di potassio) aventi la caratteristica comune di resistenza e sottigliezza.

Hueper (66) studiando le proprietà carcinogeniche delle plastiche di poliuretano e polisilicone nei ratti, trova dopo impianti sottocutanei ed intraperitoneali degli stessi, l'insorgenza di una ampia varietà di neoplasie, incluso il mesotelioma nel sito di impianto. Terao (67) induce il mesotelioma nei ratti in seguito ad iniezione intraperitoneale di sterigmatocistina, un composto derivato dall'aflatossina-B1, nel 50% dei ratti trattati. Rao e Reddy (68) hanno riprodotto una grande varietà di tumori nelle cavie, incluso il mesotelioma dopo ripetute somministrazioni intraperitoneali di N-metil-Nitrosourea. Bernman e Rice (69) hanno osservato diverse neoplasie, incluso il mesotelioma, della

tunica vaginale del testicolo in 25 fra 78 ratti trattati con una dose intraperitoneale di metil (acetoxymethyl) nitrosamina e in 2 dei 67 ratti controllo. Anche l'1-nitroso-5,6-diidrodrouacile studiato da Pelfrene e Garcia (70) nei ratti ha indotto in minore percentuale (2 ratti su 40) mesotelioma peritoneale. Mc Clure e Graham (71) hanno riprodotto il mesotelioma in 7 scimmie dopo trattamento prolungato per via sottocutanea di dietilstilbestrolo.

Chabot *et al.* (72) hanno evidenziato in un lavoro sperimentale la responsabilità del virus della leucosi aviare nell'indurre un' alta percentuale di mesotelioma nei pulcini trattati (ceppo MC29 inoculato per via peritoneale, pericardica e nel sacco aereo di tre gruppi di pulcini). Lipotch e coll (73) riferiscono in una loro pubblicazione di utilizzare una linea cellulare (800Tu) derivata da mesotelioma di hamster indotto dal virus SV4 (ceppo ATCCPA57) e sebbene questo sembra essere la prima comunicazione riportata in letteratura per gli animali è interessante ricordare il recente lavoro di Carbone *et al.* (74). Gli Autori riferiscono di aver rinvenuto in 29 mesoteliomi umani, su 48 studiati, le sequenze di DNA di un virus tipo-SV40 ed aver dimostrato in 13 campioni, su 16 saggiati, l'espressione dell'antigene T-large dello stesso virus. Anche i processi infiammatori cronici sono stati individuati in diversi casi isolati come causa di mesotelioma negli uomini ma non ci sono dati per le specie animali.

Warren e coll (75) hanno studiato in gruppi di ratti gli effetti cancerogeni di diversi composti associati come il 3-metilcolantrene, l'amianto e le radiazioni, mettendo in evidenza possibili sinergismi d' azione. Yoshimoto *et al.* (76) studiando gli effetti del BCG (Bacillus Calmette-Guerin) mettono in evidenza la possibilità di allungare il periodo di latenza e di ridurre l'incidenza del mesotelioma pleurico nei topi dopo somministrazione del 3-metilcolantrene.

1.8 Patogenesi

Non è ancora perfettamente chiaro il meccanismo attraverso il quale l'amianto può indurre il mesotelioma (76).

Prima di entrare in merito ad alcuni risultati ottenuti dai principali lavori sperimentali condotti in tal senso è interessante ricordare che i dati degli stessi hanno potuto fornire fino ad oggi solo informazioni frammentarie sulla patogenesi e le considerazioni biologiche che ne sono derivate sono state confortate dai risultati delle indagini epidemiologiche condotte sui lavoratori esposti per lunghi periodi a diversi tipi di amianto e confrontati con quelli della popolazione urbana (84-86). Questo

suggerisce che può risultare estremamente utile, per raccogliere altri dati sui meccanismi patogenetici, affiancare agli studi sperimentali studi epidemiologici osservazionali relativi a popolazioni animali di riferimento come sarà esposto in seguito.

Stanton (65;77) suggerisce, ma non riesce a provare in modo conclusivo, che le dimensioni delle fibre costituiscano il fattore critico principale per l'insorgenza del tumore. Gli esperimenti condotti utilizzando per l'inoculo fibre differenziate di amianto hanno permesso comunque di evidenziare che lo sviluppo di lesioni si verifica con maggiore facilità nei soggetti che ricevono fibre più lunghe di $8\mu\text{m}$ e di diametro $>$ di $0.25\mu\text{m}$. La qualità dell'amianto non sembra interferire nell'insorgenza del tumore. L'antofillite ed il crisotilo, che raramente producono tumore negli uomini, sono cancerogeni negli animali, come lo sono le fibre di vetro ed altre sostanze presentate dettagliatamente in Appendice. Gli studi sperimentali condotti sugli animali da laboratorio somministrando per diverse vie molteplici varietà di fibre della famiglia dell'amianto e/o altri materiali fibrosi sospetti, hanno provocato neoplasie maligne intracavitare dopo un periodo di latenza variabile.

Le caratteristiche che consentono a questi tumori di essere considerati a tutti gli effetti analoghi a quelli dell'uomo (17, 78-81), riassumendo, sono:

1. il loro sito d'origine, la configurazione caratteristica dello sviluppo, la modalità della diffusione nelle cavità celomatiche;
2. la variabilità delle caratteristiche istologiche delle lesioni evidenziate fra gli animali e gruppi di animali;
3. il periodo di latenza prolungato.

Le cellule di mesotelioma possono sviluppare *in vitro* e subire passaggi seriali negli animali per via sottocutanea ed intracavitaria. Le cellule esibiscono tutte le proprietà delle cellule maligne, di solito manifestano anomalie del cariotipo e possono formare lesioni crescendo in agar.

Le osservazioni dei dati sperimentali sugli animali permettono di individuare due fattori critici per l'insorgenza del tumore nell'uomo: 1. il pervenire delle fibre alla pleura, e 2. le dimensioni delle fibre, ma non la loro composizione chimica di per sé. Dagli studi eseguiti per caratterizzare le lesioni che precedono lo sviluppo del mesotelioma nei modelli sperimentali, risulta una notevole differenza di risposta tissutale prodotta in caso di somministrazione di crisotilo (altamente citotossico) o di anfiboli (relativamente non citotossici). Dopo inoculazione intracavitaria le fibre si accumulano in gruppi che provocano una risposta tissutale; con il crisotilo subito dopo l'inoculazione si ha

un'inflammatione acuta con presenza di foci di necrosi, mentre gli anfiboli innescano una reazione da corpo estraneo con cellule giganti ed invasione di macrofagi. I risultati degli studi di Davis (79-80) suggeriscono che le cellule accumulate in queste lesioni subiscono una trasformazione e possono essere considerate progenitrici del tumore secondo la teoria della carcinogenesi da corpo estraneo. E' doveroso ricordare che queste lesioni non sono state descritte nella cavità pleurica e peritoneale degli uomini esposti ad asbesto ma solo in caso di introduzione accidentale per via sottocutanea. Le fibre di amianto sono trasportate nel sistema respiratorio lungo il loro asse principale in accordo con i principi del flusso laminare (82). Così, la profondità della penetrazione di queste fibre è correlata al loro diametro e non alla loro lunghezza. Infatti le fibre sottili e rigide degli anfiboli tendono a depositarsi nel polmone, in modo periferico più vicino alla pleura, in relazione alla lunghezza della fibra, mentre le fibre di anfiboli corte e smussate e le fibre di crisotilo simili a "cavaturaccioli" si depositano più centralmente nei polmoni.

Le fibre di anfiboli persistono indefinitamente nei polmoni dato che sembrano essere resistenti alla degradazione, mentre le fibre di crisotilo si disfano, nel tessuto, nei loro componenti fibrillari, lungo entrambi gli assi. Ne consegue che i prodotti del degradamento sono più facilmente rimossi dai macrofagi polmonari e sono eliminati dai polmoni sia attraverso i vasi linfatici, sia attraverso il sistema mucociliare (83). Sebbene il dosaggio sia importante, le prove sperimentali non hanno consentito di definire la presenza di una soglia; i calcoli basati sui dati epidemiologici suggeriscono che l'esposizione a quantitativi anche minimi di amianto costituisca un rischio teorico di mesotelioma (17). Tale rischio aumenta con la dose ed anche se è difficile dirimere la questione della soglia, si può affermare che una quantità di amianto inferiore alla quantità richiesta per produrre asbestosi può iniziare lo sviluppo del tumore.

In relazione al tipo di impianto del tumore, Brawne e Smither (87) in una analisi molto esaustiva concludono che il mesotelioma peritoneale derivi da una esposizione prolungata ad alte concentrazioni di anfiboli. Il meccanismo attraverso il quale l'amianto raggiunge la cavità addominale è ancora oggetto di dibattito, e non ci sono risultati sperimentali che suggeriscano la via orale come possibile via per il raggiungimento del tratto gastrointestinale e del peritoneo (83); è in particolare da valutare il ruolo dell'ingestione di materiale espettorato. Si può verosimilmente supporre un movimento dell'amianto ingerito od inalato, negli organi addominali attraverso i vasi linfatici ma questa possibilità non è supportata da dati sperimentali. E' chiaro comunque che, nella specie umana, l'amianto perviene nella cavità addominale ed i patologi spesso rinven-
gono

corpi ferruginosi in pazienti che presentano un'ingente quantità di amianto nei loro polmoni (182).

Si conosce poco anche il meccanismo di trasporto delle fibre di amianto dalle porzioni distali del tratto respiratorio allo spazio pleurico e ne vengono ipotizzati due che sembrano essere plausibili (183). Il primo prende in considerazione il passaggio diretto nel tessuto connettivale sottosieroso e da qui nello spazio pleurico. Questa via sembra più plausibile per le fibre rigide e diritte degli anfiboli. Il secondo meccanismo, invece, si riferisce al passaggio attraverso i vasi linfatici della porzione distale del tratto respiratorio nella pleura viscerale.

La fibrosi pleurica e le placche presentano caratteristiche istologiche differenti che suggeriscono l'intervento di altri meccanismi patogenetici. Sebbene la patogenesi delle placche sia oscura, in patologia umana, sono stati intrapresi studi tesi a trovare connessioni patogenetiche tra fibrosi, insorgenza di placche e mesotelioma (184).

In coltura di tessuto, le fibre di asbesto possono causare eventi mutageni, incluso rottura della catena di DNA, delezioni, con produzione di radicali idrossilici ed anioni superossidi, ed alterazioni della morfologia dei cromosomi, interferendo meccanicamente con la loro segregazione durante la mitosi.

I macrofagi, dopo aver fagocitato fibre di asbesto, manifestano danno al DNA ed elaborano linfocine che possono deprimere la risposta immunitaria dell'ospite (185).

2. Considerazioni conclusive

Il quadro che emerge dalla letteratura esaminata nei capitoli precedenti porta a considerare l'opportunità scientifica di studiare il mesotelioma pleurico del cane, non più come pura segnalazione di evento anatomico patologico raro ed isolato, ma attraverso studi epidemiologici mirati. Il mesotelioma del cane, e più specificatamente il mesotelioma pleurico, sebbene rappresenti una patologia rara, sembra essere in aumento analogamente a quanto avviene nell'uomo, per quanto emerge dai dati, ancorchè frammentari, relativi all'osservazione delle forme spontanee. L'analogia dell'interpretazione eziopatogenetica e delle caratteristiche istopatologiche del mesotelioma del cane e della corrispondente forma nell'uomo, in associazione al minor tempo di induzione-latenza legato al più breve lasso di vita dell'animale, rendono tale patologia un vero e proprio "evento sentinella" come espresso da Rutstein (186).

In questo contesto si delinea chiaramente la necessità di programmare le successive indagini perché possano essere oggetto di analisi integrata volta ad acquisire dati sul rischio cancerogeno da amianto nei diversi contesti territoriali. Vengono così individuati quattro obiettivi principali:

1. Monitoraggio dei mesoteliomi degli animali domestici
2. Indagine descrittiva del mesotelioma pleurico del cane
3. Studio della concentrazione delle fibre di amianto in vari organi
4. Armonizzazione delle procedure diagnostiche per i mesoteliomi animali

La rilevazione dei casi di mesotelioma di tutti gli animali domestici sul territorio nazionale consentirà:

- una prima lettura dei dati disponibili sul mesotelioma degli animali domestici in Italia;
- l'individuazione di una rete di centri collaborativi in tale settore ed ove necessario l'adeguamento della stessa per effettuare in tempi successivi indagini epidemiologiche retrospettive.

La costruzione di questa rete di collaborazioni, coordinata dal Laboratorio di Medicina Veterinaria dell' Istituto Superiore di Sanità (ISS), potrà rappresentare la premessa anche per altri studi di epidemiologia ambientale veterinaria.

In aree geografiche scelte in cui è già documentata la presenza di amianto e dove è in atto una sorveglianza epidemiologica del mesotelioma pleurico dell'uomo, si potrà procedere a:

- valutare con approccio di tipo "sentinella" i casi di mesotelioma pleurico rilevati nel cane;
- esaminare il contenuto di fibre di amianto dei campioni di tessuto polmonare;
- raccogliere notizie anamnestiche sull'esposizione ad amianto dei proprietari dei cani in esame.

La scelta del cane come modello "privilegiato" e del mesotelioma pleurico come patologia di riferimento, deriva da numerose valutazioni, come si può evidenziare da una lettura delle pagine precedenti. Il cane è considerato fra tutti gli animali d'affezione la risorsa più adeguata per l'identificazione di eventuali cancerogeni ambientali per almeno due motivi principali:

1. la comunità scientifica gli riconosce un ruolo importante come animale da laboratorio per la ricerca biomedica, anche alla luce della nuova normativa sulla sperimentazione animale, tanto che ancora è aperto il dibattito sul significato del cane

come prima o seconda specie animale nelle valutazioni dei test tossicologici (189, 190);
 2. il cane, vivendo strettamente a contatto con l'uomo, ne condivide ambiente e stile di vita e può essere quindi considerato, secondo le diverse tipologie di studio, un plausibile modello, indicatore o sentinella in grado di offrire risultati degni di considerazione scientifica.

La ricerca sui casi di mesotelioma canino sin qui pubblicati in letteratura permette solo di evidenziare alcune caratteristiche epidemiologiche come frequenza, elemento raziale, sesso, età, localizzazione ed in sintesi risulta che il mesotelioma del cane:

- è una patologia rara;
- non è stato possibile identificare una predisposizione di razza e di sesso;
- l'età media dei soggetti è intorno agli 8-9 anni;
- è colpita prevalentemente la pleura;
- nei casi in cui è stato descritto il quadro morfologico, si è osservata una prevalenza della forma epiteliale.

A fronte di quanto ricordato, sebbene la verifica dell'entità del fenomeno mesotelioma necessariamente verrà effettuata per tutti i siti di insorgenza della neoplasia e per tutti gli animali domestici, è stato indicato come "evento sentinella" il mesotelioma pleurico del cane per considerare in modo esaustivo i risultati fin qui ottenuti (similitudine con la forma umana dell'interpretazione eziopatogenetica, delle caratteristiche istologiche, della prevalenza in sede pleurica) e per identificare più dettagliatamente l'ipotesi oggetto di indagine.

La ricerca ed analisi delle fibre di amianto in alcuni campioni scelti di organi e tessuti fornirà contributi riguardanti:

- il rapporto tra l'esposizione ad amianto ed il rischio di tumori in sedi diverse dall'apparato respiratorio;
- la rilevazione di fonti di esposizione ad amianto precedentemente non considerate.

Infatti gli studi volti alla caratterizzazione delle fibre in organi e tessuti di soggetti umani con varie patologie ed esposizioni pur non essendo in grado di individuare per gli ovvi motivi una ben definita relazione dose-risposta hanno offerto dati di riferimento e fatto emergere diversi nuovi interrogativi (191, 192).

Attualmente la diagnosi del mesotelioma si ottiene confrontando ove è possibile i risultati di diversi esami (esame citologico del liquido peritoneale, pleurico e pericardico; biopsia, esame *post mortem* etc.). Sarà dunque necessario provvedere alla messa a punto di un protocollo diagnostico che potrà essere seguito dai diversi laboratori anche

attraverso la composizione di competenze diverse in analogia a quanto avviene nel caso dei mesoteliomi umani. La disponibilità di uno strumento validato per la diagnosi dei casi e la raccolta di notizie anamnestiche consentirà una migliore osservazione del fenomeno, premessa indispensabile per disporre di dati rappresentativi.

L'iter così delineato richiederà il concorso di tutti i principali soggetti istituzionali (Facoltà di medicina Veterinaria, Istituti zooprofilattici, veterinari del Sistema Sanitario Nazionale) e di veterinari liberi professionisti. I dati epidemiologici così raccolti contribuiranno alla mappatura del rischio da amianto a livello territoriale in attuazione di quanto previsto dalla legge 27 marzo 1992, n. 257 relativa alla cessazione dell'impiego dell'amianto.