

PATOLOGIE GASTROENTERICHE E VALUTAZIONE

EMATOBIOCHIMICA DI BASE

Walter Bertazzolo, DVM, DiplECVCP

In corso di patologie caratterizzate da dimagrimento, diarrea/vomito (soprattutto se cronici), emissione di feci di aspetto, volume e/o con frequenza anomala o altri sintomi riconducibili ad un disordine dell'apparato digerente, l'esame clinico deve venir spesso integrato dalla diagnostica per immagini e dagli esami di laboratorio. Questi ultimi includono sia indagini di base quanto test più specifici relativi alla funzionalità di alcuni organi dell'apparato digerente.

Esami di base

- *Esame parassitologico delle feci:*
 - andrebbe sempre eseguito in caso di dimagrimento e/o diarrea. Anche nei pazienti affetti da vomito saltuario, ricorrente e cronico l'esame delle feci non deve essere trascurato in quanto i parassiti localizzati nella porzione prossimale dell'intestino tenue possono indurre vomito. Viene spesso sottovalutata la frequenza delle infestazioni intestinali che dovrebbero invece essere sempre incluse nelle diagnosi differenziali delle patologie gastro-enteriche. In alcuni casi oltre all'esame parassitologico classico (diretto e per arricchimento) possono essere indicati altri test addizionali quali l'esame citologico dello striscio fecale (per esempio nella ricerca dei Clostridi, Campylobacter) o di test immunologici dedicati ad agenti eziologici vari (es. *Giardia* sp., parvovirus, criptosporidiosi, ecc.). Questi ultimi nelle loro versioni "rapide" utilizzabili in ambulatorio, hanno trovato negli ultimi anni una notevole diffusione. Essi sono in grado di rilevare piccole quantità di antigene e sono dotati di eccellenti doti di sensibilità e specificità diagnostica ma i loro risultati vanno interpretati sempre con spirito critico. La positività ad un test antigenico per *Giardia* non significa per esempio che questo protozoo sia necessariamente il principale responsabile dei sintomi riscontrati, in quanto è comunemente considerato un agente opportunista, più spesso presente in conseguenza di un'altra patologia primaria gastro-enterica. L'attuale evidenza scientifica mostra che possa essere un patogeno negli animali giovani (<6 mesi) e con sintomatologia enterica, mentre è probabile che non giochi un ruolo importante in altri pazienti. I test antigenici per la rilevazione del parvovirus canino sembra non vengano influenzati dalle vaccinazioni recenti (studi aziendali pubblicati da Idexx), ma alcuni autori consigliano comunque di eseguirli a distanza di almeno 2-3 settimane dalle profilassi vaccinali per evitare possibili falsi positivi.
- Esame emocromocitometrico:

- *Eritrogramma*: nelle forme acute caratterizzate da vomito e/o diarrea profusa o nelle gravi pancreatiti l'ematocrito può essere aumentato per disidratazione, mentre raramente può essere caratterizzato da anemia in caso di emorragia acuta gastro-enterica. Nella classica enteropatia emorragica acuta, a dispetto della perdita ematica (diarrea emorragica profusa con o senza vomito), l'ematocrito risulta spesso molto aumentato, per effetto della perdita di acqua e soluti in eccesso rispetto alla quota cellulare ematica. L'anemia può essere presente anche in corso di emorragia cronica (sideropenica), per esempio a seguito di neoplasie o ulcere gastriche o gastroduodenali. Se la patologia enterica induce malassorbimento possono comparire anemie da ridotta eritropoiesi, con aspetti variabili a seconda che prevalgano gli aspetti carenziali o le forme infiammatorie sottostanti. Infine, nelle gravi pancreatiti acute possono essere presenti anemie emolitiche associate anche a DIC.

- *Leucogramma*: di rado risulta alterato nelle patologie primariamente gastroenteriche: nelle condizioni acute si possono osservare sia neutrofilie con left-shift indicative di stati infiammatori che leucogrammi da stress. I processi infiammatori che caratterizzano le IBD sono invece cronici o infiltrativi e le alterazioni del leucogramma sono quindi incostanti, ad eccezione della possibile presenza di linfopenia in alcune forme di IBD, verosimilmente dovute a sequestro di linfociti nelle lesioni, o di eosinofilia nelle forme di gastrite/enterite eosinofila. Una condizione non molto comune è l'eosinofilia periferica associata ad alcune forme di linfoma gastro-enterico T-cell in grado di produrre citochine eosinopoietiche (es. Interleuchina-5)

In caso di pancreatite acuta è invece possibile riscontrare gravi neutrofilie, con spostamento a sinistra e/o con segni di tossicità nei neutrofili, soprattutto nel cane o, al contrario, e con maggiore frequenza nel gatto, occasionali neutropenie con spostamento a sinistra degenerativo nelle forme settiche iperacute. Tale riscontro costituisce un fattore prognostico potenzialmente sfavorevole. Lo stesso riscontro è comune in altre gravi patologie gastroenteriche associate a sepsi (es. perforazioni, invaginamento, ostruzioni intestinali, volvolo, ecc.).

- Profilo coagulativo:

- Spesso inalterato nelle forme primariamente gastroenteriche, può evidenziare aspetti compatibili con DIC (fase ipercoagulabile seguita da una ipo-coagulabile con piastrinopenia, allungamento dei tempi di coagulazione, diminuzione del fibrinogeno, aumento di FDPs e d-dimeri) nelle gravi pancreatiti acute, nelle perforazioni con conseguente peritonite settica, volvolo/intussuscezione, ecc. In corso di malassorbimento si

può osservare ipofibrinogenemia, mentre nelle gravi forme di enteropatia proteino-disperdente è descritto un stato ipercoagulativo (dimostrabile mediante tromboelastografia) che non sembra dipendere completamente dalla riduzione della concentrazione ematica dell'antitrombina III, che in queste forme viene persa in abbondanza con le albumine. In corso di enteropatie emorragiche acute, le imponenti perdite ematiche (e quindi plasmatiche) possono condurre ad allungamenti dei tempi di coagulazione per effetto della perdita dei fattori della coagulazione, che però si ripristinano rapidamente a seguito delle terapie mediche supportive.

- Biochimica clinica:

- il reperto più rilevante in tutte le patologie gastroenteriche gravi è di solito l'ipoproteinemia e più specificamente la *panipoproteinemia* (diminuzione sia di albumine che di globuline, con rapporto A/G normale). Tale reperto è particolarmente intenso nelle enteropatie proteino-disperdenti. Nelle forme infiammatorie o neoplastiche potrebbero però coesistere fenomeni immuno-mediati o infiammatori, per cui potrebbe essere molto più marcato il calo delle albumine (che, oltre a non essere assorbite, vengono meno prodotte in quanto proteine di fase acuta negative) e meno marcato il calo delle globuline (che potrebbe essere mascherato dalla presenza di proteine della fase acuta positive o da gammopatie policlonali).

In corso di enteropatie emorragiche acute, a dispetto della marcata emocoagulazione che spesso si rileva all'emogramma, le proteine plasmatiche risultano spesso normali o addirittura basse: ciò è il risultato della perdita di liquido a contenuto ematico ma particolarmente ricco in proteine, acqua e soluti di origine plasmatica.

Nelle pancreatiti il reperto dominante del quadro proteico è rappresentato dall'aumento delle proteine, e in particolar modo delle albumine, conseguente a disidratazione. In caso di concomitante peritonite si può viceversa osservare ipoproteinemia/ipoalbuminemia

- Le proteine di fase acuta possono aumentare nelle IBD. In analogia con quanto osservato nell'uomo, l'aumento della *CRP* può quindi assumere un ruolo importante nella diagnostica di tali patologie. La *CRP* però è una proteina infiammatoria ed aumenta in qualsiasi forma flogistica, incluso, ad esempio, la pancreatite, che può avere segni clinici comuni a quelli delle forme intestinali. La specificità diagnostica della *CRP* per IBD è quindi molto bassa. Nel gatto, le proteine di fase acuta da utilizzare in caso di sospetta pancreatite o grave flogosi enterica sono la siero amiloide A (*SAA*) e la α_1 -glicoproteina acida (*AGP*) ma anche in questo caso la specificità diagnostica di tali parametri è ridotta.

- Se il malassorbimento interessa metaboliti lipidici è possibile riscontrare *ipocolesterolemie* eventualmente associate a *lievi ipocalcemie* (dovute a minore assorbimento di precursori liposolubili della vitamina D). In alcune forme di malassorbimento grave e protratto si può osservare iperparatiroidismo secondario alimentare per lo stesso motivo, con ipocalcemia lieve/moderata e iperfosforemia. La ridotta calcemia e la ridotta concentrazione di VitD sono ormai considerati fattori prognostici negativi nelle enteropatie croniche del cane.
- La presenza di una *grave ipocalcemia* è possibile nelle pancreatiti, soprattutto in quelle acute associate a steatonecrosi in quanto la saponificazione dei grassi tende a sequestrare il calcio circolante. Accanto a tale meccanismo sembra essere anche presente un fenomeno di insensibilità al paratormone.
- In caso di disidratazione (riscontro comune sia in corso di patologie gastroenteriche che di pancreatite), può essere presente iperazotemia pre-renale, con aumenti di creatinina ed urea, ed eventualmente dei fosfati ematici. L'aumento dell'urea può essere particolarmente intenso e sproporzionato rispetto a quello della creatinina, in caso di emorragie gastroenteriche, nelle quali l'urea può aumentare per rimaneggiamento delle proteine plasmatiche ed eritrocitarie riassorbite dopo l'emorragia. È stato recentemente segnalato come un valore di urea >42 mg/dl nei pazienti con enteropatia proteino disperdente abbia un valore prognostico negativo.
- Sia in corso di patologie gastroenteriche che, soprattutto, in corso di pancreatite è possibile riscontrare aumenti aspecifici di enzimi di citolisi epatica (*ALT e AST*) e di colestasi (*ALP e GGT*). Ciò può dipendere da fenomeni di ipoperfusione epatica (dovuta allo shock ipovolemico in caso di vomito e/o diarrea grave), a traslocazione di microrganismi e tossine di origine intestinale in eccesso, a fenomeni di flogosi locale (es. pancreatite) o a sepsi (es. perforazioni intestinali, volvolo, ecc.).
- Nel caso di pancreatiti caratterizzate da estesa distruzione del parenchima pancreatico è possibile riscontrare *iperglicemia* da carente o insufficiente produzione di insulina (diabete mellito che può essere transitorio in base all'estensione del danno a carico del tessuto endocrino delle isole pancreatiche). Anche in forme più blande è comunque possibile riscontrare iperglicemia come conseguenza di stress.
- *Iposideremia*, nel caso di perdita ematica cronica o come conseguenza di un processo infiammatorio.
- *Ipocloremia*, *ipokaliemia* e talora *iponatriemia* in caso di vomito profuso. In questi casi è possibile osservare anche alcalosi metabolica per perdita di H⁺ mentre in caso di diarree profuse può essere presente acidosi metabolica. In caso di vomito grave, è tuttavia forse

più frequente osservare una condizione paradossale di acidosi metabolica invece della ben più logica alcalosi metabolica da perdita di acidi. Quando ciò si verifica, dipende dallo shock ipovolemico e quindi alla acidosi metabolica lattica conseguente ad ipoperfusione dei tessuti periferici. In tutte le condizioni di vomito e diarrea, soprattutto quando acute o associate a ostruzioni del tratto gastroenterico, è importante eseguire l'emogasanalisi al fine di poter instaurare terapie di supporto e correttive più adeguate

- aumento di *amilasi* e *lipasi* (quest'ultima misurata con metodo enzimatico tradizionale) in quanto tali enzimi potrebbero fuoriuscire dalle cellule pancreatiche danneggiate. Va però rilevato che amilasi e lipasi hanno una bassa specificità per la pancreatite, in quanto risultano elevate in presenza di altre patologie: entrambe hanno un'eliminazione renale e quindi in caso di azotemia (renale o pre-renale) potrebbero risultare elevate per effetto della ridotta clearance renale, anche in assenza di lesioni pancreatiche. Le fonti di lipasi nell'organismo sono inoltre molteplici (gastriche, lipoprotein lipasi, ecc.), quindi il semplice rilievo di un'aumentata attività lipasica non ci consente di affermare che l'enzima rilevato sia stato rilasciato proprio dal pancreas.

Esami di approfondimento:

Gli esami di base sopra descritti evidenziano solitamente alterazioni abbastanza poco specifiche e devono servire ad aiutare il clinico nell'indirizzare il problema, dopodiché può essere necessario ricorrere ai seguenti esami di approfondimento:

- TLI, Folati e Vit. B12: Sono test che vanno utilizzati in associazione tra loro, perché il metabolismo di questi tre composti è strettamente interconnesso, come evidenziato.
 - Il TLI (Trypsin-like immunoreactivity) evidenzia, con un metodo immunologico (cioè utilizzando un anticorpo specifico) la presenza di tripsina e di suoi precursori nel sangue. Il principio su cui si basa questo test è il seguente: la tripsina è di solito rilasciata dal pancreas attraverso i dotti pancreatici nell'intestino, ma una piccola quantità di essa "sfugge" alle cellule e può essere rilevata nel sangue. La concentrazione ematica del TLI può decrescere in corso di insufficienza pancreatica esocrina (EPI): questo test ha una elevata specificità per tale patologia, ma presenta una sensibilità non ottimale in particolare allorché coesistano EPI e fenomeni di pancreatite che tendono a modificare in direzioni opposte la concentrazione del TLI.
- In caso di pancreatite, parte della tripsina viene rilasciata dalle cellule pancreatiche ed entra in circolo. L'aumento di TLI indica quindi pancreatite acuta, ma tale riscontro è incostante in quanto è rilevabile solo nelle fasi acute del processo. Con il procedere della distruzione

del parenchima esocrino e l'esaurirsi del tessuto funzionalmente residuo, la concentrazione di TLI può tornare ad essere normale. Pertanto il ruolo del TLI come marker di pancreatite è marginale ed è stato recentemente soppiantato da esami più specifici e sensibili (vedi oltre). Il TLI può incrementare anche in condizioni azotemiche e dopo i pasti.

- La vitamina B₁₂ (cianocobalamina) ha origine alimentare e viene assorbita a livello di ileo, grazie alla presenza del cosiddetto "fattore intrinseco" (IF), prodotto dal pancreas e riversato nell'intestino con i succhi pancreatici e di un pH luminale non particolarmente acido. Durante il loro metabolismo, i batteri intestinali consumano la Vit B₁₂. La concentrazione ematica di Vit B₁₂ aumenta raramente. L'unica causa riconosciuta è la somministrazione iatrogena (parenterale) di tale vitamina. La concentrazione ematica di Vit B₁₂ può quindi diminuire in caso di sovracrescita batterica, insufficienza pancreatica (minor immissione di IF e bicarbonati nel lume intestinale), ipercloridria gastrica, o lesioni della superficie assorbente del piccolo intestino distale (ileo). Sebbene sia poco utile dal punto di vista diagnostico, la sua misurazione può essere importante nel monitorare i soggetti a rischio di carenza per poter instaurare una corretta supplementazione.
- I folati, oltre ad essere introdotti con l'alimento, vengono prodotti dai batteri intestinali ed assorbiti in sede di piccolo intestino prossimale. Il livello di folati nel sangue può aumentare in corso di sovra crescita batterica mentre tende a restare invariato in corso di EPI, e diminuisce in caso di alterazioni dell'assorbimento intestinale.
- PLI: il test PLI (pancreatic lipase immunoreactivity, ora commercializzato come SpecPL) evidenzia mediante un metodo immunologico solo la lipasi pancreatica specifica e non l'attività complessiva sierica delle lipasi di varia origine tissutale. Sostanzialmente, il test è un test immunoenzimatico basato sull'utilizzo di un anticorpo specifico solo per la lipasi pancreatica canina (cPLI) o felina (fPLI). Con questo test non è quindi possibile "confondere" la lipasi pancreatica con altre lipasi di origine extrapancreatica e un'eventuale positività a questo test è dotata di un'elevata sensibilità e specificità diagnostica per pancreatite. Questi test sono ora disponibili anche in forma rapida ma mancano dati sufficienti per considerare l'accuratezza di questo metodo comparabile con quello eseguito con il metodo di riferimento. Va considerato che al momento della sua commercializzazione il test veniva considerato come molto sensibile e specifico per la diagnosi di pancreatite. Numerosi studi successivi hanno ridimensionato l'accuratezza diagnostica del test, che risulta avere sensibilità intorno al 90%, ma solo per le pancreatiti acute; nelle forme croniche la sua sensibilità è nettamente inferiore. Anche la specificità del test non è assoluta (intorno all'80%), in quanto sempre più condizioni vengono riconosciute come potenzialmente in grado di determinare un risultato falsamente positivo

(rialzo post-prandiale, in corso di IBD, dopo somministrazione di alcuni farmaci come gli anticonvulsivanti, ecc.). Il rialzo della lipasi pancreatico specifica è stato indicato come fattore prognostico negativo nei pazienti con IBD.

Biomarker recenti di enteropatia:

Numerosi biomarker sono stati studiati al fine diagnosticare precocemente una enteropatie, ve ne riporto alcuni che sono stati individuati negli ultimi anni.

Citrullina: la citrullina è un aminoacido non essenziale prodotto principalmente da fegato e da enterociti. E' stato pertanto proposto quale marker di massa enterica funzionante. Tuttavia uno studio recente ha mostrato l'assenza di variazioni significative della citrullinemia in pazienti sani e in pazienti con diversi tipi di enteropatie croniche (Gerou Ferriani e al, JVIM 2018).

Calprotectina e Calgranulina: questi complessi proteici legati al metabolismo cellulare del calcio, sono interessanti marker di infiammazione intestinale, in particolare quando misurati a livello fecale. La calgranulina fecale ha inoltre mostrato una valenza prognostica (elevata in paziente non responsivi alle terapie) (Heilman et al, Vet J 2016; Heilman et al JVIM 2018).

Alfa-1 inibitore delle proteinasi: questa proteina sierica ha lo scopo di inibire l'azione pericolosa e proteolitica di varie proteinasi qualora dovessero raggiungere il sangue. In corso di proteino-disperdenza, questa proteina aumenta la sua concentrazione fecale ma a differenza delle altre proteine, non viene digerita e può quindi essere misurata. E' stata quindi proposta come potenziale marker precoce di enteropatia proteino-disperdente, in quanto può alzarsi prima della riduzione plasmatica dell'albuminemia (Murphy et al; Vet Clin Pathol 2003).

Molti altri biomarker verranno senza dubbio testati negli anni a venire, ma i principali limiti di queste nuove molecole sono: difficoltà di misurazione (sono richieste tecniche analitiche avanzate e dai costi elevati) e una evidenza scientifica non ancora assodata.