



scivac

SOCIETÀ CULTURALE ITALIANA
VETERINARI PER ANIMALI DA COMPAGNIA
SOCIETÀ FEDERATA ANMVI

in collaborazione con



Close window to return to IVIS



RICHIESTO ACCREDITAMENTO

scivac

56th INTERNATIONAL CONGRESS

organizzato da  certificata ISO 9001:2000 

RIMINI 1st-3rd June 2007
PALACONGRESSI DELLA RIVIERA DI RIMINI



INFORMATION
SCIVAC Secretary

Palazzo Trecchi, via Trecchi 20 Cremona
Tel. (0039) 0372-403504 - Fax (0039) 0372-457091
commscientifica@scivac.it www.scivac.it



Leucemie

William Vernau

BSc, BVMS, DVSc, PhD, Dipl ACVP, Davis, USA



Leucemia linfocitaria cronica (CLL)

La leucemia linfocitaria cronica del cane differisce marcatamente da quella dell'uomo. Nel più ampio studio condotto sino ad oggi in questa specie animale, la leucemia linfocitaria cronica (CCL) del cane è stata riscontrata in soggetti anziani (età media 9,75 anni, con limiti compresi fra 1,5 e 15 anni; n=73 casi).¹ Il conteggio dei linfociti ematici variava da 15.000/ μ l a 1.600.000/ μ l. Sorprendentemente, il 73% dei casi di leucemia linfocitaria cronica riguardava una proliferazione di linfociti T (CD3+) ed il 54% mostrava una morfologia da linfociti granulari (GL).¹ Le GL-CLL erano costituite quasi esclusivamente da proliferazioni delle cellule T che esprimevano CD8 e la leucointegrina CD11d ed esprimevano più frequentemente il recettore delle cellule T (TCR) $\alpha\beta$ (69%) piuttosto che il TCR $\gamma\delta$ (31%). La GL-CLL seguiva un decorso clinico tipicamente indolente. I casi di CLL a cellule T non-GL (19% delle CLL) comportavano una proliferazione delle cellule T TCR $\alpha\beta$ in cui non è stato riscontrato alcun quadro costante di espressione di CD4 o CD8. La CLL a cellule B, basata sull'espressione di CD21 (e sulla mancanza degli antigeni delle cellule T) o di CD79a, costituiva solo il 26% dei casi di leucemia linfocitaria cronica del cane. Nessun caso di CLL a cellule B del cane esprimeva CD5. L'espressione di CD1c era presente nel 95% delle CLL a cellule B del cane. Questi risultati sono in netto contrasto con quanto è stato rilevato nell'uomo, dove più del 95% delle CLL è caratterizzato dalla proliferazione dei linfociti B CD5+.²

L'anemia (< 0,37 L/L) costituisce un riscontro comune (58% dei casi) nella leucemia linfocitaria cronica del cane. Sul totale dei casi di anemia, il 58% venne classificato come lieve (ematocrito di 0,30-0,36, intervallo di riferimento di 0,37-0,55 L/L), il 34% come moderato (ematocrito di 0,20-0,30 L/L) e l'8% come grave (ematocrito <0,20 L/L).¹ Quasi tutte le anemie presentavano una scarsa risposta alla terapia. La trombocitopenia era presente nel 27% dei casi e, nella maggior parte di essi (72%), era relativamente lieve (120-200 x 10⁹/L, intervallo di riferimento di 180-500 x 10⁹/L). In nessun caso è stata osservata una neutropenia assoluta (<3 x 10⁹/L).¹

La leucemia linfocitaria cronica a cellule B del cane sembra essere una malattia midollare primaria. Tuttavia, il coinvolgimento del midollo osseo nella CLL a cellule T che comporta la proliferazione dei GL sembra verificarsi relativamente tardi nel decorso della malattia.¹ L'espansione neoplastica in questi animali pare avere origine dalla milza. In parecchi casi di GL-CLL è stato possibile disporre di concomitanti aspirati splenici e midollari da destinare alla valutazione.¹ Nella maggior parte di questi casi, era presente una marcata infiltrazione splenica di GL, mentre il coinvolgimen-

to midollare era minimo o assente. Occasionalmente, è stata riscontrata una significativa infiltrazione midollare, che però era accompagnata da un maggior grado di coinvolgimento splenico. È interessante notare che l'espressione di CD11d è caratterizzata da una relativa limitazione tissutale; sia nel cane che nel gatto, la polpa rossa della milza è il sito dominante di espressione di CD11d nel sistema emopoietico.³

I differenti immunofenotipi osservati nella leucemia linfocitaria cronica del cane non sembrano essere associati a diversi decorsi clinici, né conferire prognosi diverse, anche se per molti dei casi descritti nello studio sopracitato non è stato possibile disporre del follow-up a lungo termine.¹ La malattia segue un decorso abbastanza variabile, a seconda del suo stato di avanzamento al momento della diagnosi iniziale. Parecchi casi molto avanzati con conteggi linfocitari superiori a 500.000/ μ l (500 x 10⁹/L), grave anemia e segni clinici significativi andarono incontro ad una completa remissione con normalizzazione del conteggio dei linfociti.¹ Molti dei cani erano ancora vivi a distanza di più di tre anni dalla diagnosi iniziale e questa sopravvivenza a lungo termine è parsa essere indipendente dai differenti immunofenotipi presenti all'interno di questo gruppo.¹ Nei casi in cui sono state effettuate ripetute immunofenotipizzazioni, è stato riscontrato che l'immunofenotipo di un dato caso non subiva variazioni significative col tempo o con la progressione della malattia.¹ Come altri tipi di leucemia linfocitaria cronica del cane, anche la GL-CLL canina sembra rispondere favorevolmente alla terapia standard con prednisone e clorambucil.

Leucemia acuta

Analogamente a quanto è stato riscontrato nell'uomo, l'immunofenotipizzazione sembra essere utile anche per la valutazione delle leucemie acute del cane. Nello studio sopracitato sulla CLL canina, sono stati presi in esame anche, in totale, 38 casi di leucemia acuta.¹ L'età media era di 7,4 anni, con limiti compresi fra 0,5 e 13 anni. Il conteggio dei leucociti variava da 3.300 a 450.000/ μ l (3,3-450 x 10⁹/L, intervallo di riferimento di 6-17 x 10⁹/L) con una media di circa 133.000/ μ l (133x10⁹/L). Il 54% dei casi presentava valori < 100.000/ μ l (100 x 10⁹/L) ed il 23% risultava < 50.000/ μ l (50 x 10⁹/L). Il 55% dei casi (21/38) era dovuto ad una probabile leucemia mieloide acuta (AML), il 16% (6/38) ad una leucemia linfoblastica acuta (ALL) a cellule B (CD 79a+), il 18% (7/38) ad una leucemia acuta di tipo GL e l'11% (4/38) ad una leucemia indifferenziata acuta (AUL). Fra i casi di leucemia acuta di tipo GL, 3 erano a cellule T (CD3+ TCR $\alpha\beta$ +CD8 $\alpha\beta$ +CD11d+) e 4 sono stati

considerati con tutta probabilità proliferazioni a cellule Natural Killer (NK) (CD3- CD11d+ CD8 α +). Quando è stata valutata, l'espressione di CD34 è stata osservata in 11 casi su 12 (92%) di AML, 2/2 casi di ALL a cellule B e 0/3 casi di leucemia acuta GL.¹ Nessun caso di CLL (di nessun sottotipo) esprimeva CD34. L'espressione di CD34 non è stata valutata in nessuno dei casi di AUL. Analogamente all'equivalente forma cronica, la leucemia acuta di tipo GL nel cane sembra essere una malattia splenica primaria; anche la mancanza di espressione di CD34 nei casi di leucemia GL acuta nei quali è stata valutata è risultata compatibile con questa conclusione.¹

In seguito abbiamo valutato l'espressione di CD 34 in un numero più elevato ed in una più ampia varietà di neoplasie emopoietiche del cane. Abbiamo riscontrato la mancanza di espressione di CD34 nel linfoma (0/299, suddivisi in 204 linfomi a cellule B e 95 a cellule T) ed una sua frequente espressione nelle leucemie acute (10/10 B-ALL, 2/3 T-ALL, 9/10 AUL e 18/20 AML). La valutazione dell'espressione di CD 34 è utile per differenziare la ALL (CD34+) da alcuni casi di linfoma primario con marcata leucemia secondaria (CD34-) e alcuni casi inusuali di CLL (anche CD34-).

La maggior parte dei casi di leucemia acuta (compresa quella GL) è costituita da malattie fulminanti e rapidamente fatali. Non sembra esistere alcuna predisposizione riferibile al sesso ed il rapporto femmine: maschi è di circa 1,0.¹ I comuni segni clinici al momento della presentazione alla visita sono relativamente aspecifici e comprendono ipossia o anoressia, grave depressione e letargia, piressia ed occasionalmente zoppia che si sposta da un arto all'altro e dolore osseo. La linfadenopatia è poco comune e, se presente, di solito risulta relativamente lieve.¹ Anche la perdita di peso si osserva raramente.

L'anemia è un riscontro frequente nella leucemia acuta non-GL (93% dei casi) ed è solitamente (88%) moderata o grave (ematocrito medio 0,25 L/L, con valori limite di 0,10-0,41 ed intervallo di riferimento di 0,37-0,55 L/L) e non risponde alla terapia.¹ Il 65% dei cani con leucemia acuta non-GL era neutropenico (<3000/ μ l o 3×10^9 /L) e, in molti di questi casi (67%), la neutropenia era grave (<1000/ μ l o 1×10^9 /L).¹ È comune anche la trombocitopenia (92% delle leucemie acute non-GL), che spesso risulta marcata (<50.000/ μ l o 50×10^9 /L).¹ La frequenza e la gravità dell'anemia e della trombocitopenia osservate nei casi di leucemia acuta GL sono molto simili a quelle che si riscontrano nelle leucemie acute non-GL. Al contrario, nessuno dei cani con leucemia acuta GL era neutropenico.¹ La maggior parte (86%) dei cani con leucemia acuta GL presenta neutrofilia (media = $34,5 \times 10^9$ /L, valori limite di $8,4-102 \times 10^9$ /L, intervallo di riferimento di $3-11,5 \times 10^9$ /L)¹ e questo riscontro può favorire la diagnosi di leucemia acuta GL piuttosto che di AML.

Molti casi di leucemia acuta nel cane comportano la proliferazione di cellule con una morfologia primitiva o immatura che risulta inutile per prevedere la possibile linea di derivazione di origine.¹ Inoltre, sembra esistere una correlazione relativamente scarsa fra l'aspetto morfologico delle cellule neoplastiche e l'immunofenotipo, il che conferma la necessità di ricorrere all'immunofenotizzazione per deter-

minare l'origine della linea delle cellule neoplastiche. Analogamente a quanto accade nell'uomo, la valutazione morfologica di routine sembra avere dei limiti significativi nella diagnosi della leucemia acuta del cane.^{1,4}

Benché la mancanza di espressione dell'antigene linfocidico e l'espressione di una costellazione di antigeni mieloidi siano fortemente indicative di un'origine mieloidale,¹ la conferma immunofenotipica **definitiva** della AML nel cane al momento non è possibile. Nello sforzo di porre rimedio a questa situazione, abbiamo recentemente sviluppato degli anticorpi monoclonali (Mab) specifici per la mieloperossidasi del cane (Vernau W., Graham P. e Moore P.F., dati non pubblicati). La mieloperossidasi è considerata il marcatore mieloidale-specifico definitivo.⁵ Con questi anticorpi anti-MPO specifici per il cane abbiamo valutato 34 casi di leucemia acuta (dati non pubblicati). I risultati sinora ottenuti indicano che questi Mab anti-MPO cane-specifici sono utili per la diagnosi definitiva della AML in questa specie animale. Tredici su diciassette (13/17) leucemie acute del cane sono state classificate come AML sulla base della positività per MPO che ne ha confermato l'origine mieloidale. Le 4 leucemie acute MPO-negative riscontrate in questi cani ed ancora classificate come AML erano rappresentate da 2 Leucemie Megacarioblastiche acute e 2 probabili Leucemie Monoblastiche Acute (anche se la maggior parte di queste era MPO-positiva). Le leucemie megacarioblastiche acute sono state confermate sulla base della positività per CD41 (GpIIb).⁶

Bibliografia

1. Vernau W, Moore PF. An immunophenotypic study of canine leukemias and preliminary assessment of clonality by polymerase chain reaction. *Vet Immunol Immunopathol* 1999;69:145-64.
2. Jennings CD, Foon KA. Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood* 1997;90:2863-92.
3. Danilenko DM, Rossitto PV, Van der Vieren M, Le Trong H, McDonough SP, Affolter VK, Moore PF. A novel canine leukointegrin, alpha d beta 2, is expressed by specific macrophage subpopulations in tissue and a minor CD8+ lymphocyte subpopulation in peripheral blood. *J Immunol* 1995;155:35-44.
4. Davis BH, Foucar K, Szczarkowski W, Ball E, Witzig T, Foon KA, Wells D, Kotylo P, Johnson R, Hanson C, Bessman D. U.S.-Canadian Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematologic neoplasia by flow cytometry: medical indications. *Cytometry* 1997;30:249-63.
5. Rothe G, Schmitz G. Consensus protocol for the flow cytometric immunophenotyping of hematopoietic malignancies. Working Group on Flow Cytometry and Image Analysis. *Leukemia* 1996;10:877-95.
6. Burstein SA, Friese P, Downs T, Epstein RE. Canine megakaryocytopoiesis: analysis utilizing a monoclonal antibody to a 140-kd dog platelet protein. *Exp Hematol* 1991;19:47-52.

Indirizzo per la corrispondenza:

Bill Vernau
Pathology, Microbiology and Immunology
UC Davis School of Veterinary Medicine
1064 Haring Hall One Shields Ave
Davis, CA 95616
Phone: 530 754 7162 - Fax: 530 752 3349