

Esame della clonalità linfocitaria nel cane e nel gatto

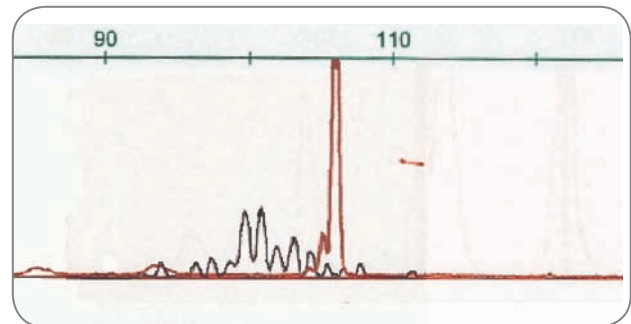
La richiesta di un chiarimento diagnostico nel caso di un processo linfoproliferativo è spesso un punto critico in un ambulatorio veterinario.

Si tratta infatti di confermare o escludere in linea di massima un linfoma maligno/ una leucemia, oppure, in caso di tumore, è importante per la prognosi differenziare tra un linfoma a cellule B e un linfoma a cellule T.

Il sospetto o anche già la diagnosi certa di linfoma/leucemia vengono determinati microscopicamente su materiali ricchi di linfociti. È possibile partire da campioni istologici o citologici di neoformazioni/linfonodi oppure anche da strisci ematici. Su un campione di tessuto in paraffina è possibile poi eseguire anche un esame immunostologico ulteriore come approfondimento. Per motivi tecnici questo ultimo esame non è fattibile su campioni citologici/strisci ematici e piccoli campioni istologici. Inoltre non sempre l'immunostologia dà una reazione evidente. In ogni caso per confermare o escludere la presenza di una proliferazione clonale in una popolazione linfocitaria si possono utilizzare anche metodiche di biologia molecolare (PARR).

Materiali per la determinazione della clonalità

Per questo esame è necessario solamente il DNA, per cui si possono utilizzare vari tipi di campioni. L'unica condizione è che vi sia la presenza di una popolazione linfocitaria sospetta. La suddetta analisi microscopica dovrebbe quindi sempre precedere altri approfondimenti per confermare la presenza di queste cellule. A volte è anche necessario dover studiare ulteriori specifiche parti di un campione istologico in paraffina o di uno striscio. La fissazione in formalina o l'asciugatura all'aria degli strisci non costituiscono un problema, è possibile quindi eseguire l'analisi anche dopo molto tempo.



Analisi della lunghezza dei frammenti in un animale malato (linea rossa) a confronto con un animale sano (linea nera)

Con la PARR si determina la variabilità linfocitaria a livello genetico all'interno della popolazione: i geni per gli anticorpi (IgH) o per i recettori delle cellule T (TCR) sono costituiti da più parti, ciascuna con numerosi segmenti che, durante la maturazione delle cellule B o T, vengono combinati insieme individualmente. In questo modo ciascun linfocita e il suo clone hanno una combinazione specifica di questi segmenti genici. Questa grande variabilità di tipo genetico porta alla grande variabilità del repertorio dei recettori del sistema immunitario. In un animale sano le lunghezze dei geni assemblati per IgH e TCR sono variabili, mentre in un paziente con tumore la variabilità è in larga misura assente e la popolazione linfocitaria è dominata da un clone e quindi da un'unica combinazione di geni.

Con la PARR è possibile differenziare le popolazioni linfocitarie policlonali di un animale sano dalle popolazioni monoclonali di pazienti con linfoma o leucemia.

La PARR può quindi fornire un ulteriore importante tassello verso la diagnosi definitiva. Come sempre, nel caso di esami di approfondimento, l'esito deve essere valutato in correlazione con tutti gli altri referti clinici e citologici/istologici, in quanto anche nelle infezioni si ha un'espansione clonale della popolazione linfocitaria che in rari casi con la PARR non può essere differenziata da un processo tumorale.

Al contrario vi è anche la possibilità che un clone non venga rilevato dalla PARR. È quindi necessaria sempre una valutazione critica di tutti i referti a disposizione e, in un secondo momento, possono anche rendersi necessarie ulteriori analisi.

Risultati fino ad oggi

Offriamo questo esame solo dalla metà del 2012 e da allora abbiamo analizzato circa 300 cani e 100 gatti. È stato possibile rilevare una popolazione policlonale nel 20% dei cani. Le popolazioni monoclonali sono risultate essere nel 64% dei casi linfomi a cellule B e nel 36% dei casi linfomi a cellule T.

Nel gatto è stato possibile rilevare una popolazione policlonale nel 50% dei casi, mentre le popolazioni monoclonali sono risultate essere nel 50% dei casi linfomi a cellule B e nel 50% dei casi linfomi a cellule T.

L'elevato numero di popolazioni policlonali mostra che molti casi sospetti ad un primo esame citologico / istologico, sono poi risultati appartenere ad animali sani. Questo può essere utilizzato anche come indice del significato di questa analisi nei casi poco chiari. L'elevato numero di popolazioni policlonali nel gatto è una conferma che in particolare la diagnosi citologica di un linfoma in questa specie è più difficile che nel cane.

Fino ad ora non siamo venuti a conoscenza di casi in cui una popolazione monoclonale non risultasse tumorale.

