

veterinary/ focus #28.2

La rivista mondiale del veterinario per animali da compagnia 2018 - \$10 / 10€

GENETICA E SALUTE

Mantenere la diversità genetica: perché è importante - Casey A. Knox e Katherine M. Lytle - P02

Applicazioni cliniche dei test genetici -

Jamie L. Freyer e Angela Hughes - P08

Il gene *ABCB1* nei cani -

Cynthia Cole - P14

Epatopatia da accumulo di rame nel cane - Hille Fieten - P16

Quale approccio... La fistola perianale nel cane -

Lindsay W. McKay - P21

La sindrome di Tom e Jerry -

Mark Lowrie e Laurent Garosi - P27

Disturbi eritrocitari ereditari -

Urs Giger - P32

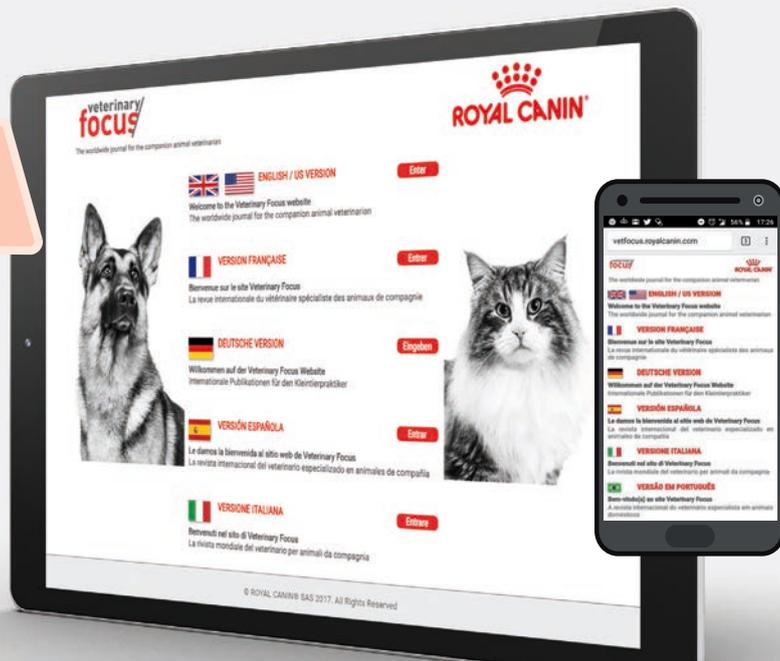
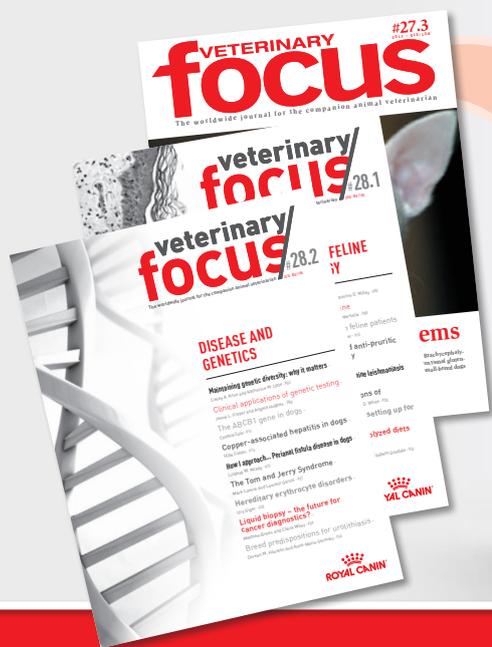
Biopsia liquida: il futuro della diagnostica oncologica? -

Matthew Breen e Claire Wiley - P39

Predisposizioni di razza per l'urolitiasi -

Doreen M. Houston e Anne-Marie Germain - P46

TROVA LA TUA RIVISTA ONLINE



<http://vetfocus.royalcanin.com/>



veterinary/ focus #28.3

La rivista mondiale del veterinario per animali da compagnia



IN ARRIVO...

Il prossimo numero di *Veterinary Focus* tratterà vari aspetti della nutrizione:

- **Il comportamento alimentare del gatto**
Jon Bowen, Regno Unito
- **Le razze canine e la loro influenza sulle malattie legate all'alimentazione**
Giacomo Biagi, Italia
- **Il Pet Health and Nutrition Center (PHNC) di Lewisburg**
Sally Perea, Stati Uniti
- **Il ruolo della vitamina D nella malattia canina**
Valerie Parker, Stati Uniti
- **Considerazioni dietetiche nei cani con enteropatie croniche**
Adam Rudinsky, Stati Uniti
- **Comportamento nei confronti dei liquidi dei gatti**
Stefanie Handl, Austria
- **Diete prive di cereali: innocue o dannose?**
Maryanne Murphy, Stati Uniti
- **I vantaggi delle diete umide**
Megan Shepherd e Jessica Benson, Stati Uniti

ROYAL CANIN

Saranno accolte con interesse tutte le offerte di collaborazione, le idee per i lavori e i suggerimenti su argomenti ed autori indirizzati alla redazione. *Veterinary Focus* è interamente protetto da copyright. Nessuna parte di esso può essere riprodotta, copiata o trasmessa in alcun modo o con qualsiasi mezzo (anche grafico, elettronico o meccanico) senza l'autorizzazione scritta dell'editore © Royal Canin SAS 2018. I nomi depositati (marchi commerciali) non sono stati identificati in modo specifico. Dall'omissione di tali informazioni non si può concludere, tuttavia, che questi non siano depositati e che, come tali, possano essere usati da chiunque. L'editore non si assume alcuna responsabilità per le informazioni riguardanti i dosaggi e metodi di somministrazione. L'esattezza di tali dettagli deve essere controllata dal singolo utente nella letteratura appropriata. Nonostante i traduttori abbiano fatto tutto il possibile per assicurare l'accuratezza delle proprie traduzioni, in relazione a ciò non si accetta alcuna responsabilità per la correttezza degli articoli originali e non si accettano quindi eventuali rivendicazioni per negligenza professionale. Le opinioni espresse dagli autori o da coloro che inviano il proprio contributo non riflettono necessariamente le opinioni dell'editore, dei redattori o dei consulenti redazionali.

LA VARIETÀ È IL SALE DELLA VITA

“Quando un uomo è stanco di Londra, è stanco della vita”

Così ha detto Samuel Johnson, celebre saggista del 18° secolo, moralista e critico, un uomo che apprezzava la diversità e credeva che la città offrisse opportunità quasi illimitate per nuovi divertimenti, stimolando il dialogo e motivando le sfide. Stava essenzialmente esprimendo l'idea che a chiunque piace la varietà e sicuramente aveva ragione. Siamo tutti d'accordo che la varietà è il sale della vita, e le cose sarebbero molto noiose se fossimo tutti uguali.

E altrettanto vale con i nostri pet: ad alcune persone piacciono le lunghe orecchie di un Bassett, altre sono attratte dalle orecchie appuntite di un Corgi; alcuni ammirano il mantello liscio e lucente di un Siamese, mentre altri preferiscono il pelo lungo di un Norvegese o i segni distintivi di un Egyptian Mau. E come sa bene ogni veterinario, quando si alleva per ottenere determinate caratteristiche, che si tratti della forma dell'orecchio, del colore del mantello o dei contorni facciali, si possono introdurre involontariamente allo stesso tempo caratteristiche indesiderate.



Ewan McNEILL
Caporedattore

Ma stare al passo con i diversi problemi di una razza può essere una sfida in sé. Il Dr. Johnson ha inoltre dichiarato “La conoscenza è di due tipi: o conosciamo un soggetto per nostro conto, oppure conosciamo il posto dove poter trovare informazioni al riguardo” e *Veterinary Focus* offre ai veterinari il secondo tipo di conoscenza, affrontando come fa alcuni dei problemi correlati alla razza che si riscontrano oggi nei nostri pazienti.

• In evidenza su *Veterinary Focus*

Una mutazione nel gene

ABC1 canino rende gli animali colpiti insolitamente sensibili a molti farmaci diversi comunemente usati nella pratica veterinaria e quando si somministrano dosi normalmente terapeutiche a cani con una o due copie della mutazione possono manifestarsi segni clinici di tossicità.



p14

Per la fistola perianale è stata suggerita un'etiologia multifattoriale, inclusa la disfunzione immunitaria, l'allergia alimentare e una predisposizione genetica nel Pastore tedesco.

p21

p32

Nel cane e nel gatto sono stati segnalati numerosi difetti eritrocitari ereditari, ma tali disturbi sono presi spesso in considerazione solo dopo il fallimento dei trattamenti empirici per le cause immunitarie e infettive dell'anemia.



veterinary focus #28.2



Origine du papier : VIRTON (Belgique)
Taux de fibres recyclés : 0%
Certification : 100% PEFC
Impact sur l'eau : 0.012 P tot kg/tonne

Comitato di redazione

- Craig Datz, DVM, Dipl. ACVN, Senior Scientific Affairs Manager, Royal Canin, Stati Uniti
- Pauline Devlin, BSc, PhD, Scientific Communications and External Affairs, Royal Canin, Regno Unito
- María Elena Fernández, DVM, Chile
- Philippe Marniquet, DVM, Dipl. ESSEC, Veterinarian Prescribers Marketing Manager, Royal Canin, Francia
- Brunella Marra, DVM, Scientific Communication and Scientific Affairs Manager, Royal Canin, Italia
- Sally Perea, DVM, Dipl. ACVN, Nutritionist, Royal Canin, Stati Uniti
- Claudia Rade, DVM, Scientific Affairs Manager, Royal Canin, Germania
- Henna Söderholm, DVM, Global Scientific Support Specialist, Royal Canin, Francia
- Anne van den Wildenberg, DVM, Scientific and Regulatory Affairs Manager, Royal Canin, Olanda

Revisione traduzioni

- Elisabeth Landes, DVM (tedesco)
- Noemí Del Castillo, PhD (spagnolo)
- Matthias Ma, DVM (cinese)
- Minoru Fukuyama, DVM (giapponese)
- Boris Shulyak, PhD (russo)

Vice editore: Buena Media Plus
Bernardo Gallitelli and Didier Oliveau
90, rue de Paris 92100 Boulogne-Billancourt, Francia
Telefono: +33 (0) 1 72 44 62 00

Caporedattore: Ewan McNeill, BVMS, Cert VR, MRCVS

Segreteria editoriale

• Laurent Cathalan
(lcathalan@buena-media.fr)

Grafica

• Pierre Ménard
Stampato nell'Unione Europea
ISSN 2430-7947

Deposito legale: junio 2018
Copertina: BlackJack3D

Veterinary Focus è pubblicato anche in francese, tedesco, cinese, italiano, polacco, spagnolo, giapponese e russo.

Consulta i numeri più recenti sul sito Veterinary Focus – <http://vetfocus.royalcanin.com> – e sul sito IVIS: www.ivis.org.

Gli accordi di licenza per gli agenti terapeutici destinati ai piccoli animali variano notevolmente in tutto il mondo. In assenza di una specifica licenza, occorre istituire un'appropriata avvertenza cautelativa prima della somministrazione di qualsiasi farmaco.

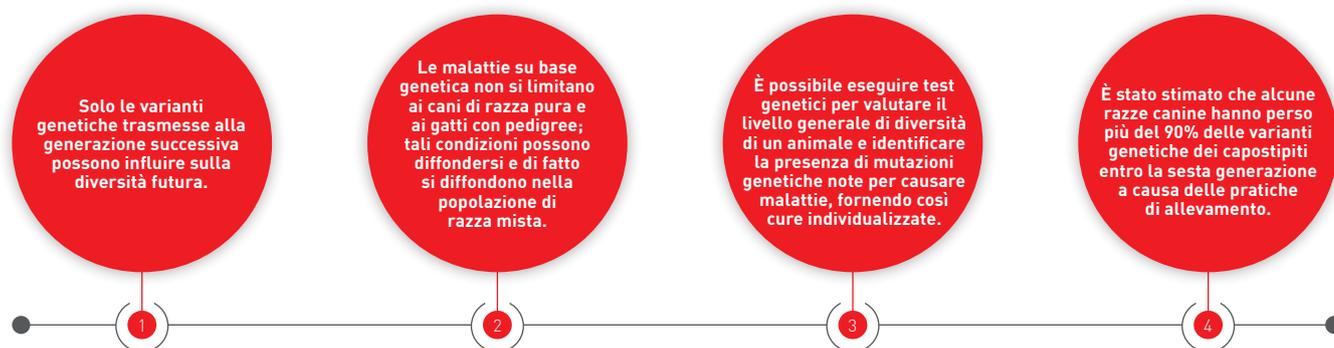
Veterinary Focus è interamente protetto da copyright. Nessuna parte di esso può essere riprodotta, copiata o trasmessa in alcun modo o con qualsiasi mezzo (anche grafico, elettronico o meccanico) senza l'autorizzazione scritta dell'editore
© Royal Canin 2018. I nomi depositati

(marchi commerciali) non sono stati identificati in modo specifico. Dall'omissione di tali informazioni non si può concludere, tuttavia, che questi non siano depositati e che, come tali, possano essere usati da chiunque. L'editore non si assume alcuna responsabilità per le informazioni riguardanti i dosaggi e metodi di somministrazione. L'esattezza di tali dettagli deve essere controllata dal singolo utente nella letteratura appropriata. Nonostante i traduttori abbiano fatto tutto il possibile per assicurare l'accuratezza delle proprie traduzioni, in relazione a ciò non si accetta alcuna responsabilità per la correttezza degli articoli originali e non si accettano quindi eventuali rivendicazioni per negligenza professionale. Le opinioni espresse dagli autori o da coloro che inviano il proprio contributo non riflettono necessariamente le opinioni dell'editore, dei redattori o dei consulenti redazionali.

MANTENERE LA DIVERSITÀ GENETICA: PERCHÉ È IMPORTANTE

Potrebbe sembrare troppo radicale affermare che molte razze canine e feline, comprese alcune molto popolari, potrebbero essere classificate come in pericolo o seriamente in pericolo di estinzione, ma Casey Knox e Katie Lytle presentano una discussione approfondita sulla diversità genetica, o sulla sua mancanza, nella nostra popolazione di pet e spiegano perché è importante.

PUNTI CHIAVE



●○○○ Cos'è la diversità genetica?

La sorprendente varietà che si riscontra nelle circa 400 razze di cani domestici in tutto il mondo è il prodotto e la testimonianza della loro intima relazione con lo sviluppo umano degli ultimi 14.000 anni e dell'allevamento selettivo che ha avuto luogo in quel periodo. Se consideriamo che il Chihuahua pesa 0,9 kg e può stare in una tazza di tè, mentre l'Alano pesa 91 kg ed è grosso 100 volte di più, la gamma più ampia osservata in una specie di mammiferi, possiamo incominciare a capire l'impatto che l'uomo ha avuto sul cane domestico. Ad oggi, sono state trovate 19 milioni di varianti genetiche uniche nel genoma canino (1). Il gatto domestico con pedigree, d'altra parte, mostra una minore variabilità e un'anamnesi più breve di incroci intenzionali a opera dell'uomo; ci sono circa 70 razze feline riconosciute, e la maggior parte di queste è stata sviluppata solo negli ultimi 80 anni. Sia nei cani che nei gatti tuttavia, la varietà dei tratti fisici che l'uomo ha trasmesso con cura attraverso la riproduzione, è prodotta da un numero di varianti genetiche, o alleli, relativamente basso rispetto alla diversità genetica complessiva riscontrata all'interno di ciascuna specie.

Sappiamo che, da molti punti di vista, "la varietà è il sale della vita" e la ricerca ha mostrato che altrettanto vale per la diversità genetica nell'ambito di una specie. Quando pensiamo alla diversità genetica di una popolazione, consideriamo la varietà di geni presenti in una popolazione nella sua totalità. Ciò include gli alleli che influenzano l'aspetto fisico, nonché i processi biologici (vedere **Figura 1**).

Al contrario, nel singolo individuo descriviamo la diversità genetica come diversità interna, vigore degli ibridi o eterosi. La diversità può avere impatti diretti e profondi sulla salute della popolazione e sulla sopravvivenza a lungo termine. I conservazionisti sono ben consapevoli di questi rischi, e quindi hanno sviluppato gruppi consultivi e piani per la sopravvivenza della specie per molti degli animali di cui si occupano, con l'obiettivo di cooperare per massimizzare la diversità genetica, gestendo adeguatamente la distribuzione demografica e la sostenibilità a lungo termine di una specie o sottospecie (2). Se consideriamo i nostri animali da compagnia da questo punto di vista, arriviamo a renderci conto che le nostre razze canine e feline possono essere considerate allo stesso modo, perché rappresentano popolazioni isolate con un numero limitato di soggetti fatti riprodurre e allevati principalmente in cattività.

La diversità genetica è la risorsa, cioè la "libreria utensili" su cui si basa una popolazione di fronte a una nuova sfida, che si tratti di una mutazione maladattiva del DNA, dell'esposizione a un nuovo virus o di una sfida ambientale. Il beneficio più evidente di un pool genico più diversificato è una riduzione nella probabilità di appaiamento di mutazioni recessive e maladattive in ogni generazione, che si manifestano come malattia. Sappiamo dal Progetto 1.000 Genomi che in ogni essere umano sono presenti mutazioni maladattive; questo è definito "carico genetico". I ricercatori hanno scoperto che l'uomo medio ha 50-100 mutazioni che causano malattie, oltre a 250-300 mutazioni che causano perdite di funzione (3). È ragionevole presumere che anche i cani e i gatti in media siano portatori di mutazioni maladattive, e

Casey A. Knox,

DVM, Wisdom Health™, Vancouver, WA, Stati Uniti

Casey Knox è una veterinaria per animali da compagnia con un particolare interesse per la genetica. È dal 2007 analista del supporto tecnico per Wisdom Health™ (precedentemente Mars Veterinary), un'impresa del settore della genetica veterinaria specializzata in ricerche e test genetici per allevatori, veterinari e proprietari di cani.



Katherine M. Lytle,

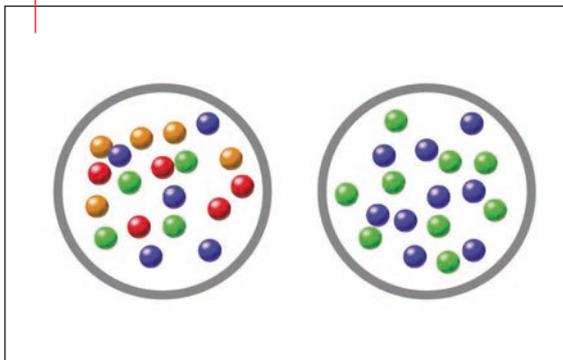
DVM, MPH, MS, Wisdom Health™, Vancouver, WA, Stati Uniti

Katie Lytle ha una passione per la scienza, i pet e le persone. Laureata all'University of Florida, ha lavorato in una struttura privata per la cura degli animali da compagnia. Attualmente è responsabile del progetto di ricerca genetica per Wisdom Health™, azienda che fornisce quadri analitici per le malattie genetiche a proprietari, allevatori e veterinari.

ricerche recenti hanno corroborato questa idea. In uno studio su circa 7.000 cani di razza pura, che rappresentavano 230 razze, ogni animale è stato testato per 93 varianti associate al rischio. I ricercatori hanno scoperto che il 17,8% (N = 1.208) dei cani era portatore di almeno una delle varianti testate, mentre il 2,5% (N = 170) era geneticamente affetto da una malattia testata (4), un risultato che mette in discussione l'idea che le varianti associate alla malattia nella nostra popolazione canina siano rare. Il carico genetico delle mutazioni associate alla malattia non è tuttavia limitato ai cani di razza pura. Dopo la valutazione di circa 35.000 cani meticci per 13 mutazioni della malattia, uno studio separato ha rilevato che due di queste mutazioni venivano identificate con una frequenza abbastanza elevata da far ritenere "falsa l'ipotesi che i cani meticci non soffrano di disturbi genetici monogenici" (5).

Il gatto, d'altra parte, non è stato sottoposto a una valutazione altrettanto ampia della salute genetica delle razze feline selezionate. Tuttavia, un'indagine completa sulla salute di oltre 8.000 gatti ha trovato un'evidenza a supporto della specificità della razza in molte delle condizioni analizzate (6). Inoltre, anche la valutazione delle richieste di risarcimento in Giappone e Svezia ha evidenziato una maggiore probabilità che alcune razze siano associate a una diagnosi particolare (7,8). In Giappone, ad esempio, una diagnosi cardiovascolare era più probabile in razze come Scottish Fold, American Shorthair, Persiano, Maine Coon, Norvegese delle foreste, Ragdoll o Bengala piuttosto che in un gatto meticcio (7). Sebbene non sia noto l'esatto meccanismo d'azione della depressione da consanguineità del vigore degli ibridi,

Figura 1. Due rappresentazioni ipotetiche degli alleli, o varianti geniche, presenti in una popolazione. La popolazione a sinistra ha più varianti ed è quindi più diversificata.



© Heidi Anderson, PhD

molti esperti ritengono che sia correlata all'accoppiamento di mutazioni associate a malattia e perdita di funzione. Man mano che ampliamo la nostra comprensione delle basi genetiche delle malattie che affliggono le nostre razze di animali da compagnia, ci aspettiamo di vedere un cambiamento paradigmatico nella nostra comprensione dell'impatto della malattia genetica sulla nostra popolazione di pazienti: le malattie genetiche non sono rare nelle nostre specie di animali da compagnia.



Quanto è comune la bassa diversità genetica?

Nella biologia della conservazione, una specie è considerata "in pericolo di estinzione" quando restano meno di 500 riproduttori fertili, perché gli sforzi per evitare la consanguineità diventano difficili o impossibili in questa fase, e la specie potrebbe non riuscire a sopravvivere all'infinito. Si parla di specie "criticamente in pericolo di estinzione" quando si ha una popolazione inferiore a 50 riproduttori geneticamente unici e fertili, un concetto chiamato anche "dimensione effettiva della popolazione" (Ne) (9). Nelle popolazioni di queste dimensioni, la teoria genetica indica che la depressione da consanguineità avrà probabilmente un impatto sulla salute della popolazione nel futuro immediato e intermedio. Date le dimensioni complessive delle popolazioni canine e feline, il veterinario medio potrebbe restare sorpreso apprendendo che molte delle nostre razze canine e feline potrebbero essere classificate come in pericolo o criticamente in pericolo di estinzione.

Uno studio che ha stimato le dimensioni effettive delle popolazioni di diverse razze canine comuni, utilizzando otto generazioni o più di pedigree ottenuti dal Kennel Club del Regno Unito, ha scoperto che otto delle dieci razze indagate, Akita Inu, Boxer, Bulldog inglese, Chow-Chow, Rough Collie, Golden Retriever, Cane da pastore tedesco e Springer Spaniel inglese, avevano dimensioni effettive delle popolazioni comprese tra 33 e 76 cani (10). Uno studio nordamericano più recente che ha utilizzato "pedigree completi" risalenti ai primi progenitori documentati ha scoperto che le dimensioni effettive delle popolazioni erano inferiori a 100 animali in nove delle undici razze studiate, un riscontro che si riflette nei livelli di diversità misurati sia dai calcoli effettuati sui pedigree, sia dalle misure genetiche testate. Il dato allarmante è che i Golden Retriever negli Stati Uniti erano tracciabili a una dimensione effettiva della popolazione di 6,5 cani (11). Questi colli di bottiglia genetici sono accaduti spesso nei primi decenni della formazione di una razza; è stato stimato che sette delle razze studiate abbiano perso oltre

il 90% delle varianti genetiche dei capostipiti entro la sesta generazione, evidenziando i gravi effetti delle pratiche di allevamento comunemente usate. Il Golden Retriever, in particolare, ha mostrato un grave collo di bottiglia, con il 10% dei riproduttori maschi utilizzati che producevano ciascuno più di 100 discendenti registrati, seguito dal Labrador Retriever con il 5% (10). Questi studi suggeriscono che molte delle nostre razze più popolari e comuni sono effettivamente a rischio di estinzione quando le si valuta secondo i parametri applicati dalla biologia della conservazione.

Nei gatti, una valutazione globale della diversità genetica complessiva delle popolazioni rappresentative ha scoperto che le razze feline selezionate avevano una diversità genetica complessivamente inferiore rispetto alle razze feline allevate in modo casuale. Le razze feline tendevano ad avere un'eterozigosità inferiore del 10%, in media, rispetto alle popolazioni allevate in modo casuale, e diverse razze, principalmente Burmese e Singapura, erano considerate a rischio di subire gli effetti della bassa diversità (12). È interessante notare i risultati di uno studio secondo cui i livelli di diversità genetica o di consanguineità in una razza felina non potevano essere interamente previsti in base alla popolarità o al tempo di esistenza della razza (13). Come nei cani, l'evidenza suggerisce che le decisioni prese dagli stessi allevatori possano rappresentare l'influenza più significativa sulla salute e sulla diversità genetica di una particolare razza.



Come nasce la bassa diversità?

Solo le varianti genetiche trasmesse alla generazione successiva possono influire sulla diversità futura. La forza più influente nella diversità dei cani di razza pura e dei gatti con pedigree è il comportamento degli allevatori. La diversità genetica si perde facilmente all'interno di una popolazione chiusa, ma richiede molto tempo per essere acquisita in modo naturale, supponendo che la popolazione possa sopravvivere abbastanza a lungo da riacquistare la diversità. A prescindere dalla causa, dopo un collo di bottiglia



“La diversità genetica si perde facilmente in una popolazione chiusa, ma è necessario molto tempo per acquisirla in modo naturale... supponendo che la popolazione possa sopravvivere abbastanza a lungo da riuscirci.”

Casey A. Knox

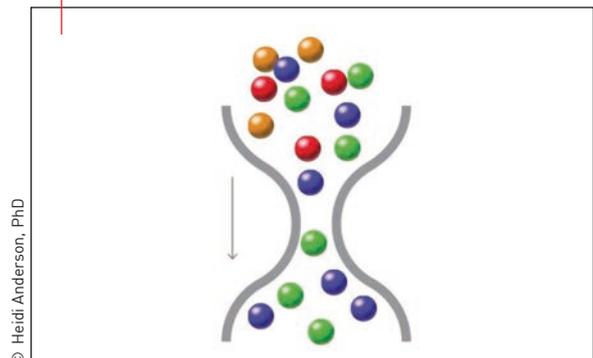
genetico (**Figura 2**) la conseguente riduzione della diversità genetica potrebbe impedire alla popolazione di superare una nuova sfida come ad esempio una malattia infettiva emergente. Data la natura globale della maggior parte delle specie di animali da compagnia, è improbabile che una singola sfida elimini completamente le specie canine o feline, ma le tendenze riproduttive errate che si verificano in molte generazioni rappresentano una minaccia maggiore per l'estinzione di singole razze.

I meccanismi che possono ridurre la diversità genetica della popolazione includono:

- “Sindrome del riproduttore popolare” (che si potrebbe chiamare anche “allevamento del mattatore”)
- Consanguineità
- Uso eccessivo dei maschi rispetto alle femmine
- Consolidamento delle popolazioni riproduttive rimuovendo i confini geografici, climatici o politici
- Malattia infettiva
- Perdita dello stile di vita per cui è stata sviluppata una determinata razza [ad es. alcune razze di cani da slitta, cani da caccia alla pulcinella di mare, cane-esca per anatre]
- Eventi sociali umani significativi, come ad es. la guerra

Sebbene i cani siano stati inizialmente allevati per svolgere compiti particolari (cioè, allevamento per una funzione), l'aspetto fisico è un obiettivo comune dei gatti si è concentrato quasi esclusivamente sugli attributi fisici. I tentativi umani di effettuare accoppiamenti pilotati nel cane e nel gatto hanno cercato di rendere ripetibili questi risultati, sia nel caso del “tipo” fisico, sia dal punto di vista del comportamento. Anche se i nostri predecessori non comprendevano la genetica, il concetto di ereditarietà è accettato da lungo tempo. Facendo accoppiare ripetutamente un particolare maschio “di razza pura” (che suggerisce un'elevata ereditarietà del tratto per le sue linee), gli allevatori aumentano la probabilità di ottenere l'attributo ricercato con il minimo tempo e investimento. Anche l'allevamento di animali strettamente imparentati è ben accetto per “impostare il tipo” o creare maggiore coerenza nella prole sfruttando l'ereditarietà. Prima della creazione, alla fine dell'800, di grandi registri di cani allevati a ciclo chiuso e delle più moderne introduzioni dei test di paternità e dell'inseminazione artificiale, gli effetti della consanguineità erano attenuati da introduzioni deliberate o accidentali di altre razze o linee, nonché da limitazioni alla sovra-riproduzione dei maschi. Le razze erano definite in base al fenotipo, o aspetto fisico, o comportamento, e meno dal pedigree. Oggi, i principali

Figura 2. Un collo di bottiglia genetico, a prescindere dalla causa, riduce la diversità nella popolazione.



© Heidi Anderson, PhD

registri di cani come l'American Kennel Club sono registri chiusi, il che significa che non è possibile aggiungere nuove linee di sangue al registro esistente; un cane deve essere imparentato con i cani già presenti nel registro per essere incluso. D'altro canto, entrambi i principali registri felini degli Stati Uniti hanno norme che consentono, in alcuni casi, di effettuare incroci con soggetti non strettamente correlati dal punto di vista genetico. Non è una sorpresa che gli allevatori di gatti sono più propensi a questo tipo di incrocio rispetto alle loro controparti canine.

Oggi gli allevatori seguono spesso linee guida simili a quelle stabilite per la prima volta molto tempo fa. Tuttavia, l'ambiente in cui vengono prese queste decisioni è spesso influenzato dalla più ampia rete di allevatori a cui appartengono. Questa omogeneità nei modelli di comportamento riproduttivo è potenziata da Internet, che consente una maggiore comunicazione e un minore isolamento geografico dei soggetti, con conseguente impatto su una percentuale più ampia della popolazione riproduttiva e un potenziale rischio di perdita di alleli [14]. Poiché gli allevatori sono incoraggiati ad allevare "il migliore al meglio", è naturale che alcune linee siano esageratamente enfatizzate nei pedigree, a volte in un'intera nazione. Nell'allevare un riproduttore o una fattrice "popolare", o facendo molto affidamento su linee particolari, si escludono altri potenziali riproduttori. I geni che portano questi ultimi potrebbero essere utili, anche se meno comuni, e c'è il rischio che siano persi del tutto dal patrimonio genetico della popolazione se il riproduttore popolare, o il metodo di "allevamento del mattatore", viene spinto all'estremo. Se i maschi sono allevati più spesso delle femmine, come nel caso di molte specie domestiche, ciò riduce anche la dimensione della popolazione. Tutte queste pratiche servono a creare maggiore coerenza nella prole e nella popolazione totale della razza per il comportamento o il tipo fisico desiderato, ma lo fanno diminuendo allo stesso tempo la diversità genetica. Ciò aumenta a sua volta le possibilità di assistere all'impatto negativo della ridotta diversità genetica nella generazione successiva. In generale, sia gli allevatori di cani che quelli di gatti impiegano regolarmente l'analisi del pedigree, e anche gli allevatori di cani usano ormai abitualmente l'inseminazione artificiale. Solo quest'ultima situazione porta a chiedere consigli o assistenza al veterinario, cosa che non succede con la maggior parte delle decisioni in materia di allevamento, anche se l'esito può influenzare direttamente la nostra popolazione di pazienti.

●●●○ Come si manifesta la bassa diversità?

I segni di bassa diversità sono molto simili tra le specie animali e vegetali. Una recente valutazione di oltre un milione di esseri umani con oltre 100 background culturali ha rilevato che il 10% della popolazione mondiale è figlio di cugini di secondo grado o parenti più stretti. Quando soggetti consanguinei o a bassa diversità sono stati confrontati con i rispettivi coetanei, i ricercatori hanno trovato un'evidenza di infertilità. I soggetti con consanguineità moderata avevano una probabilità 1,6 volte maggiore di non avere figli rispetto ai loro coetanei non consanguinei, mentre i bambini nati da incesto (parenti di primo grado) avevano una probabilità 4 volte maggiore. I ricercatori hanno inoltre scoperto che la consanguineità era associata ad altezza ridotta e calo delle prestazioni scolastiche [15]. La ricerca nei cani ha scoperto effetti

Riquadro 1. I segni di bassa diversità nei cani includono:

Diminuzione della durata della vita
Diminuzione delle dimensioni della cucciolata
Diminuzione della taglia
Diminuzione della fertilità (capacità di concepire)
Aumento della mortalità del cucciolo prima e dopo lo svezzamento
Aumento nel rischio di malattie genetiche
Aumento della predisposizione alla malattia autoimmune e/o all'infezione

negativi simili, che sono in generale proporzionali al livello di consanguineità (**Riquadro 1**). La diminuzione della diversità aumenta il rischio di malattia genetica mendeliana con entrambi i tipi di pattern, semplice e complesso [16,17]. La diminuzione della diversità è anche associata a un rischio aumentato di malattia autoimmune [18]. Va inoltre osservato che, per gli animali di razze miste e allevati a caso, il fatto di non avere pedigree non è sufficiente a proteggerli dalle malattie genetiche perché, in molti casi, la loro genetica deriva da una popolazione di razza pura o con pedigree; per questa ragione, sono affetti allo stesso modo [5]. La diminuzione della diversità è stata associata a segni di infertilità, come diminuzione delle dimensioni della cucciolata e aumento della mortalità del cucciolo [19-21]. Nei cani di razza Bovaro del Bernese, i ricercatori hanno scoperto che la durata della vita diminuiva di 21 giorni per ogni aumento dell'1% nel COI (Coefficient Of Inbreeding, coefficiente di consanguineità) [22]. Sono disponibili poche ricerche sull'impatto della diversità genetica sul comportamento e sulle prestazioni, ma i dati preliminari suggeriscono che anche la capacità di caccia diminuisca [23].

Gli studi che valutano l'impatto della ridotta diversità nelle razze feline sono sottorappresentati, ma si prevede che l'effetto seguirà un pattern simile a quelli riscontrati nei cani e negli esseri umani.

●●●○ Come si misura la diversità genetica?

Quando si tratta di valutare la diversità genetica di un soggetto, l'approccio più comune è stato di calcolare il coefficiente di consanguineità (COI) [24]. Il COI cerca di determinare la probabilità statistica che due alleli casuali in un determinato locus in un soggetto siano identici a causa di capostipiti comuni; questo significa che le due varianti geniche provenivano dallo stesso capostipite che era presente nella discendenza, sia del padre che della madre. Più relazioni familiari esistono tra i soggetti in un albero genealogico, maggiore è la percentuale del COI risultante. Ad esempio, un incrocio tra fratelli biparentali o tra genitore e figlio produrrebbe una cucciolata con un COI pari a 0,25 o del 25%, mentre gli incroci tra fratelli monoparentali producono un valore di 0,125, e gli incroci tra cugini di primo grado un valore di 0,0625. Per eseguire l'analisi, tuttavia, si fanno alcune ipotesi: la generazione più lontana utilizzata nell'analisi è composta da soggetti completamente non correlati, tutti i figli dei genitori sono identici, e tutti i soggetti mancanti dall'albero genealogico non sono correlati. Pertanto, i calcoli del COI sono fortemente dipendenti dalla completezza e dall'accuratezza del



“La diminuzione della diversità genetica che segue un collo di bottiglia genetico potrebbe impedire a una popolazione di superare una nuova sfida, come ad esempio una nuova malattia infettiva.”

Katherine M. Lytle

pedigree e sono solo approssimazioni. Ma con l'aumentare del COI, aumenta anche il tasso di omozigotità e il rischio di contrarre malattie genetiche.

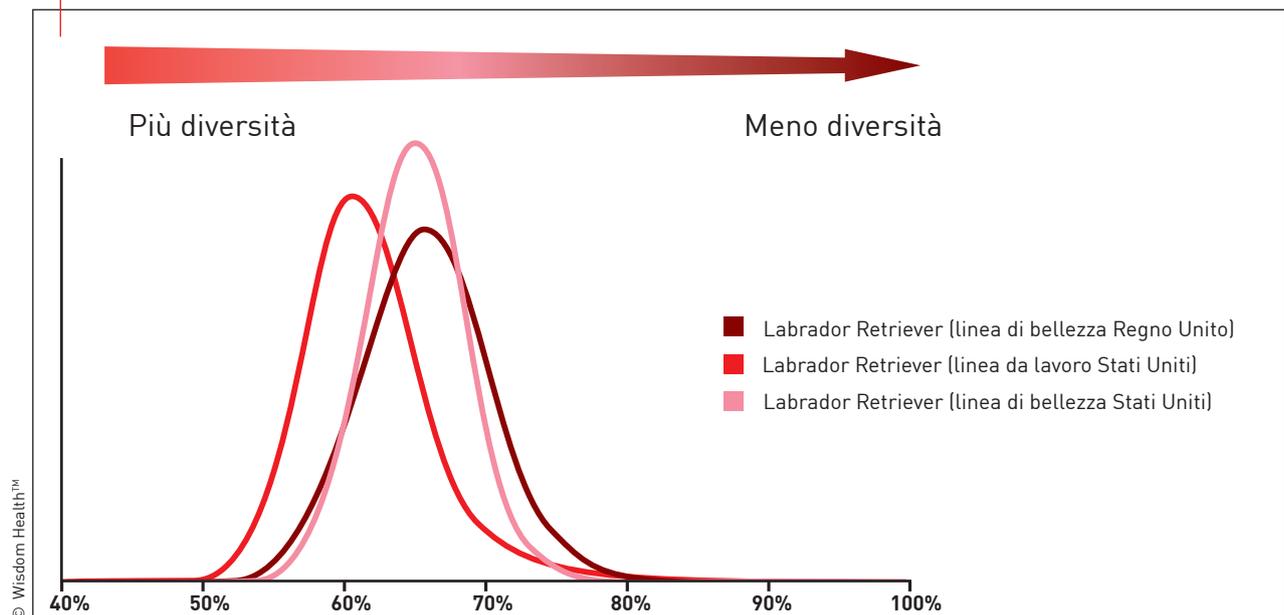
La ricerca iniziale suggerisce che le misure genetiche dirette della diversità siano più sensibili e utili del COI come strumento di selezione [25]. Dato che i calcoli del COI che utilizzano software standard diventano piuttosto lenti o si bloccano oltre le 10 generazioni, e che di molte razze manca il pedigree dei capostipiti, è raro che si calcoli il COI oltre 5-8 generazioni. Inoltre, quando si calcola un COI, non c'è modo di tenere conto dell'impatto delle inesattezze nel pedigree; uno studio stima che il tasso di errore per i cani sia dell'1-9% [26], il che potrebbe avere un impatto sostanziale sul COI. Quindi, l'uso di misure dirette della diversità attraverso test genetici è una valutazione più sostanziale della diversità genetica di un soggetto, poiché non è vincolato dalle ipotesi applicate al

calcolo del COI ed è quindi un riflesso dello stato genetico del soggetto (**Figura 3**). Quando si utilizza il sequenziamento dell'intero genoma (Whole Genome Sequencing, WGS) o si adottano misure della diversità basate su chip con sonde specifiche per il polimorfismo a singolo nucleotide (PSN), è emerso che persino i calcoli dell'intero pedigree sottovalutavano significativamente il COI rispetto alle misurazioni dirette, probabilmente a causa dei limiti di questo metodo descritti in precedenza. La maggior parte delle razze studiate rientrava nell'intervallo di relazione media da fratelli monoparentali a fratelli biparentali (COI = 0,125-0,25) [11].

●●● Cosa deve sapere il veterinario?

La medicina veterinaria, come la medicina umana, sta entrando in un'era di assistenza personalizzata, e per una valida ragione. La pratica standard nell'assistenza medica umana include l'acquisizione di un'anamnesi medica dei nuovi pazienti che include domande riguardanti l'anamnesi medica della famiglia, assieme alle cartelle cliniche individuali. Avere accesso a informazioni di questo tipo è raro per il veterinario, che ha spesso a che fare con un singolo soggetto, scollegato dall'anamnesi familiare, e talvolta senza nemmeno le cartelle cliniche di base del paziente. La bassa diversità genetica a un livello tale da influire sulla salute è relativamente rara nell'uomo, e nella maggior parte dei paesi esistono leggi particolari per prevenirla; al contrario, nei cani di razza mista o di razza pura e nei gatti con pedigree sono frequenti tassi elevati di consanguineità o bassa diversità [12], e tanto nei cani [4] quanto nei gatti [6] sono comuni anche le malattie genetiche. Inoltre, molti di questi cani e gatti hanno capostipiti di razza mista e sconosciuta, e la maggior parte è accompagnata da una documentazione imprecisa relativa alla razza; questo dà la falsa impressione che non ci siano rischi specifici della razza, mentre le predisposizioni di cui tenere conto potrebbero sfuggire all'identificazione [27]. Quando si forniscono consulenze agli allevatori di cani e gatti, si dovrebbero

Figura 3. La curva della diversità osservata per i Labrador Retriever delle linee da lavoro negli Stati Uniti è spostata a sinistra rispetto alle linee di bellezza della razza negli Stati Uniti e nel Regno Unito; ciò indica che, in media, le linee da lavoro hanno maggiore diversità rispetto alle linee di bellezza.





© Shutterstock

Figura 4. Il Singapura è una delle razze feline con base genetica limitata.

fornire informazioni sul “pre-screening” genetico corretto dei riproduttori per la salute e la diversità: non solo di questi soggetti, ma della popolazione della razza nel senso più ampio. Per la futura idoneità genetica della razza in questione, è essenziale incoraggiare gli allevatori a considerare gli aspetti della genetica di popolazione e come la strategia del proprio allevamento di cani o gatti si inserisce in questa (**Figura 4**).

Nell'uomo, prima di iniziare alcuni trattamenti come ad esempio gli antidepressivi, sono comunemente richiesti profili di farmacogenetica e i veterinari dovrebbero essere consapevoli che oggi esistono test simili, prima di istituire un trattamento nei loro pazienti, in particolare valutando il livello di *ABCB1* (precedentemente indicato come *MDR1*) prima di somministrare l'anestesia, la chemioterapia e trattamenti dermatologici [28] (vedere **Pagina 14**). Nei cani e, in misura crescente nei gatti, sono disponibili test genetici commerciali per disturbi noti, come pure test per valutare i capostipiti e la diversità della razza [29-31].



CONCLUSIONE

D'ora in avanti, i professionisti dovranno lavorare partendo dal presupposto che le malattie genetiche siano piuttosto comuni, sia nei gatti con pedigree che nei cani di razza pura (e anche nei meticci). Le informazioni di screening della razza e della salute genetica, unitamente ai dati sulla diversità, possono essere preziosi al momento di fornire consigli obiettivi ai proprietari e trattare i pet nella pratica quotidiana. I metodi di analisi genomica hanno dimostrato di essere strumenti importanti nell'analisi della diversità genetica e delle mutazioni delle malattie e devono essere sfruttati per rivelare informazioni pertinenti sui nostri pazienti; questo ci consentirà di offrire ai pet un'assistenza sanitaria migliore e contribuire a preservare e migliorare la diversità e il profilo sanitario delle generazioni successive.



RIFERIMENTI

1. Beijing Institute of Genomics Web site. DoGSD: The Dog Genome Database. Available at: <http://dogsd.big.ac.cn/>
2. Species Survival Plan Programs. The Association of Zoos and Aquariums website. Available at: www.aza.org/species-survival-plan-programs
3. The 1000 Genomes Project Consortium. A global reference for human genetic variation. *Nature* 2015;526:68-74.
4. Donner J, Kaukonen M, Anderson H, et al. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016;11(8):e0161005.
5. Zierath S, Hughes AM, Fretwell N, et al. Frequency of five disease-causing genetic mutations in a large mixed-breed dog population (2011-2012). *PLoS One* 2017;12(11):e0188543.
6. Vapalahti K, Virtala AM, Joensuu TA, et al. Health and behavioral survey of over 8000 Finnish cats. *Front Vet Sci* 2016;3:70.
7. Inoue M, Hasegawa A, Sugiura K. Morbidity pattern by age, sex and breed in insured cats in Japan (2008-2013). *J Feline Med Surg* 2016;18(12):1013-1022.
8. Egenvall A, Bonnett BN, Häggström J, et al. Morbidity of insured Swedish cats during 1999-2006 by age, breed, sex, and diagnosis. *J Feline Med Surg* 2010;12(12):948-959.
9. Franklin, IR. Evolutionary change in small populations. In: Soulé, ME, Wilcox BA (eds.) *Conservation Biology: an Evolutionary-Ecological Perspective*. Sunderland: Sinauer Associates, 1980;135-150.
10. Calboli FCF, Sampson J, Fretwell N, et al. Population structure and inbreeding from pedigree analysis of purebred dogs. *Genetics* 2008;179(11):593-601.
11. Dreger DL, Rimbault M, Davis BW, et al. Whole-genome sequence, SNP chips and pedigree structure: building demographic profiles in domestic dog breeds to optimize genetic-trait mapping. *Dis Mod & Mech* 2016;9(12):1445-1460.
12. Lipinski MJ, Froenicke L, Baysac KC, et al. The ascent of cat breeds: genetic evaluations of breeds and worldwide random-bred populations. *Genomics* 2008;91(1):12-21.
13. Kurushima JD, Lipinski MJ, Gandolfi B, et al. Variation of cats under domestication: genetic assignment of domestic cats to breeds and worldwide random bred populations. *Anim Genet* 2013;44(3):311-324.
14. Wade CM. Inbreeding and genetic diversity in dogs: results from DNA analysis. *Vet J* 2011;189(2):183-188 [abstract].
15. Clark DW, Joshi PK, Esko T, et al. Sex-specific inbreeding depression in humans. In *Proceedings. American Society of Human Genetics*, 2017;Pgm-Nr279 [abstract].
16. Janutta V, Hamann H, Distl O. Genetic and phenotypic trends in canine hip dysplasia in the German population of German Shepherd dogs. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2008;121(3-4):102-109 [abstract].
17. Engelhardt A, Stock KF, Hamann H, et al. A retrospective study on the prevalence of primary cataracts in two pedigrees from the German population of English Cocker Spaniels. *Vet Ophthalmol* 2008;11(4):215-221.
18. Safra N, Pedersen NC, Wolf Z, et al. Expanded dog leukocyte antigen (DLA) single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping reveals spurious class II associations. *Vet J* 2011;189:220-226.
19. Gresky C, Hamann H, Distl O. Influence of inbreeding on litter size and the proportion of stillborn puppies in dachshunds. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005;118(3-4):134-139 [abstract].
20. van der Beek S, Nielen AL, Schukken YH, et al. Evaluation of genetic, common-litter, and within-litter effects on preweaning mortality in a birth cohort of puppies. *Am J Vet Res* 1999;60(9):1106-1110 [abstract].
21. Leroy G, Phocas F, Hedan B, et al. Inbreeding impact on litter size and survival in selected canine breeds. *Vet J* 2015;203:74-78.
22. Long P, Klei B. Inbreeding and longevity in Bernese Mountain Dogs website. Available at: www.slideserve.com/harvey/inbreeding-and-longevity-in-bernese-mountain-dogs
23. Voges S, Distl O. Inbreeding trends and pedigree analysis of Bavarian Mountain hounds, Hanoverian hounds and Tyrolean hounds. *J Anim Breed Genet* 2009;126(5):357-365.
24. Wright S. Coefficients of inbreeding and relationship. *Am Nat* 1922;56(645):330-338.
25. Leroy, G. Genetic diversity, inbreeding and breeding practices in dogs: Results from pedigree analyses. *Vet J* 2011;189(2):177-182.
26. Leroy G, Danchin-Burge C, Palthiere I, et al. An ABC estimate of pedigree error rate: application in dog, sheep and cattle breeds. *Anim Genet* 2012;43(3):309-314.
27. Voith VL, Trevejo R, Dowling-Guyer S, et al. Comparison of visual and DNA breed identification of dogs and inter-observer reliability. *Am J Soc Res* 2013;3(2):17-29.
28. Mealey, K. *MDR1* gene mutations and drug therapy. *Clinician's Brief* 2016;5:14-20.
29. Wisdom Health™ www.wisdompanel.com.
30. Genoscooper Laboratories Oy. www.MyDogDNA.com
31. University of California-Davis Veterinary Genetics Laboratory. www.vgl.ucdavis.edu

APPLICAZIONI CLINICHE DEI TEST GENETICI

La nostra comprensione della genetica è progredita a un ritmo impressionante negli ultimi anni, per cui le alternative per i test genetici stanno aumentando notevolmente. I benefici per il veterinario stanno già iniziando a diventare evidenti, come descrivono la Dr.ssa Freyer e la Dr.ssa Hughes nella loro panoramica della situazione attuale.

PUNTI CHIAVE



Introduzione

Il campo della genetica è progredito ben oltre i ricordi della maggior parte delle persone, ovvero i fringuelli delle Galapagos di Darwin e i piselli rugosi di Mendel. In effetti, solo negli ultimi anni c'è stata una crescita esponenziale in questo settore. La maggior parte delle specie animali principali ha ottenuto la propria sequenza genomica, tra cui uomo, cane, gatto, cavallo, maiale, mucca e topo. Con nuovi strumenti a disposizione, gli scienziati hanno imparato una quantità enorme di cose su come i tratti genetici e le malattie emergono e sono ereditati.

Questa conoscenza sta cambiando l'approccio ai pazienti da parte dei veterinari. Ad esempio, solo pochi decenni fa è stato identificato un grave effetto indesiderato dell'ivermectina in alcuni Cani da pastore scozzese (1) (vedere **Pagina 14**). È noto che la causa molecolare è una piccola delezione nel gene della multi-farmacoresistenza che può eliminare la funzione di una fondamentale pompa trasportatrice di farmaci nella barriera ematoencefalica (2) ed è ormai chiaro che questa mutazione non solo è presente in molti cani di razza pura e mista diversi dal Cane da pastore scozzese, ma coinvolge molti altri farmaci oltre all'ivermectina (3). Tale conoscenza ci rende migliori come veterinari e ci permette di curare meglio i nostri pazienti.

Comprendere e utilizzare questi progressi genetici consente ai veterinari di fornire cure complete ai pazienti

e aumentare la consapevolezza del cliente sul valore di tale cura. Possiamo fornire ai nostri pazienti piani sanitari personalizzati adattando il nostro approccio, non solo alla fase di vita del paziente, ma anche alla sua razza. Identificare i rischi specifici della razza e personalizzare l'assistenza del paziente in base al background della razza migliora il rapporto del cliente con la struttura veterinaria e consente una diagnosi più rapida e un intervento medico più tempestivo.

La maggior parte dei veterinari considera probabilmente già alcune differenze di razza quando assume decisioni mediche o parla con i proprietari, ma è importante sviluppare per ogni razza un messaggio coerente che l'intero team possa trasmettere. Questo aspetto dovrebbe essere discusso all'inizio di qualsiasi trattamento con i clienti in modo che questi possano essere preparati, e che si possa creare per il loro pet il piano benessere migliore possibile. È più probabile che i proprietari ben informati vadano più spesso in clinica per le cure di routine, eseguano le cure preventive raccomandate e riconoscano prima quando i pet si ammalano.

Ovviamente, questo tipo di assistenza sanitaria specifica per la razza si applica facilmente ai pazienti che sono cani di razza pura o gatti con pedigree, ma ora questo beneficio può essere esteso anche ai cani meticci e, sempre più spesso, ai pazienti felini di razza mista. Da un decennio sono disponibili test del DNA per valutare gli ascendenti di razza pura nella discendenza

Jamie L. Freyer,

DVM, Wisdom Health™, Vancouver, WA, Stati Uniti

Originaria di Portland, Oregon, la Dr.ssa Freyer ha ricevuto la laurea in Medicina veterinaria presso l'Oregon State University nel 2009. Dopo aver lavorato per cinque anni in una struttura per piccoli animali nella zona di Portland, è passata al ruolo di analista dell'assistenza tecnica per Wisdom Health™ (ex Mars Veterinary). I suoi interessi includono la medicina degli animali esotici, il comportamento animale e la genetica. Inoltre, le piace lavorare con i suoi cani e partecipare a competizioni sportive canine, come prove di agility, esposizioni di bellezza e gare di sheepdog.



Angela Hughes,

DVM, PhD, Wisdom Health™, Vancouver, WA, Stati Uniti

La Dr.ssa Hughes ha conseguito il titolo di DVM, ha completato una residenza in genetica veterinaria, ha ottenuto il PhD in genetica ed è Professore Associato di Clinica presso l'University of California, Davis. Attualmente lavora come genetista veterinaria presso Wisdom Health™ dove ha sviluppato Optimal Selection™, una nuova analisi per valutare geneticamente i potenziali cani da riproduzione. È inoltre coinvolta in numerosi studi di genetica canina e felina, e sullo sviluppo continuo dei test del Wisdom Panel® per i disturbi genetici, i tratti e l'ascendenza. Ha prodotto articoli in numerose pubblicazioni accademiche e contribuito alla creazione di capitoli in vari libri di testo.

recente di un cane di razza mista e la tecnologia migliora costantemente. In base a queste informazioni, i veterinari possono aiutare i clienti a capire meglio i loro cani e creare per loro un piano benessere personalizzato. In questa epoca è un imperativo medico comprendere la storia riproduttiva di ogni paziente e trattare quest'ultimo in modo appropriato.

●●○ Fenotipi e genotipi



Sebbene molti clienti e veterinari possano sentirsi relativamente certi nello stimare la razza di un cane in base a segnali visivi come lunghezza e colore del mantello o altre caratteristiche, l'associazione della razza alle caratteristiche fenotipiche (basate sull'aspetto) non è così intuitiva come potrebbe sembrare. Sebbene alcuni tratti mostrino una modalità ereditaria dominante/recessiva semplice, altri sono poligenici, ovvero causati da una combinazione di più geni, per cui potrebbe essere difficile individuare la razza o le razze contribuenti. Inoltre, i tratti dominanti possono provenire da molte generazioni prima nell'ascendenza di un cane, poiché il loro metodo di ereditarietà li rende relativamente "facili" da trasmettere.

Le comuni idee sbagliate sull'aspetto esteriore abbondano. Per esempio, si pensa spesso che la prole di un cane a pelo corto e di uno a pelo lungo debba avere un mantello di lunghezza media; in realtà, i peli corti sono dominanti in quasi tutti i casi, quindi tali tipi di prole sono solitamente a pelo corto. Un altro esempio è la convinzione che un particolare pattern di colore, come ad esempio merle o nero focato, sia unico per una determinata razza; in realtà, esiste una ventina di razze portatrici della colorazione merle, e un numero ancor maggiore che può essere portatrice della colorazione nero focato. La realtà è che i cani di razza mista possono avere ascendenze che mascherano il loro aspetto, e combinazioni di razza che possono essere considerate insolite sono di fatto abbastanza comuni.



© Wisdom Health™ 2017

Figura 1. Il cane a sinistra è stato giudicato all'adozione come incrocio di "Labrador e cane da pastore". Per quanto riguarda il carattere della razza del cane sulla destra, si potrebbe pensare che includa una cane da pastore, o forse l'Akita. In realtà, entrambi i cani sono incroci di American Staffordshire terrier e Chow-Chow. Entrambi i cani mostrano alcuni tratti dominanti, come il pelo corto, la colorazione nera o una maschera facciale scura.

Alcune illustrazioni possono esemplificare quanto può essere difficile indovinare l'ascendenza di un cane sulla base del solo aspetto, e quanto possano essere diversi gli aspetti esteriori di cani con ascendenze simili (**Figure 1-3**). Essenzialmente, l'identificazione visiva delle razze è molto più complessa di quanto molti credano, e gli studi hanno dimostrato che è in larga parte inaccurata (4); quindi, tirare a indovinare la razza non è un metodo affidabile quando si devono assumere decisioni mediche importanti. Per utilizzare appieno i dati genetici e l'assistenza sanitaria specifica



© Wisdom Health™ 2017

Figura 2. Anche se molto diversi nell'aspetto, questi cani sono entrambi incroci di Cocker spaniel e Chihuahua.

per razza nei pazienti di razza pura e in quelli di razza mista, i veterinari e il relativo personale devono avere una conoscenza generale della genetica e dei tipi di test genetici e fenotipici disponibili.

●●● Una panoramica sulla genetica



Il materiale alla base della vita, ovvero il materiale genetico, è l'acido desossiribonucleico (DNA). Il DNA è composto da due filamenti polimerici di basi nucleotidiche: adenina, timina, guanina e citosina. Questi filamenti possono essere replicati in preparazione per la divisione cellulare, oppure trascritti nell'acido ribonucleico (RNA) e tradotti in proteine funzionali. Il DNA è contenuto nel nucleo della maggior parte delle cellule del corpo, ed è organizzato in cromosomi. Nei cani, questi cromosomi



“Comprendere e utilizzare i recenti progressi genetici consente ai veterinari di fornire un'assistenza completa ai pazienti e aumentare la consapevolezza del cliente sul valore di tale assistenza.”

Jamie L. Freyer



© Wisdom Health™ 2017

Figura 3. Questi incroci di American Staffordshire terrier e Yorkshire terrier mostrano entrambi un tratto noto come “furnishing” (quantità o tipo extra di peli su testa, coda, orecchie o zampe), con la barbetta e le sopracciglia comunemente associate alle razze terrier. Questo è un tratto dominante che viene spesso ereditato da molte generazioni prima nell'ascendenza di un cane, un fattore che può rendere difficile l'identificazione visiva. Il cane sulla destra mostra anche un tratto noto come condrodiplosia, un accorciamento degli arti comunemente osservato nello Yorkshire terrier.

comprendono 38 autosomi e una coppia di cromosomi sessuali, X e Y, mentre i gatti hanno informazioni genetiche simili strutturate in 18 autosomi e una coppia di cromosomi sessuali. Ogni cucciolata eredita un set di autosomi e un singolo cromosoma sessuale (X o Y) da ciascun genitore. In ognuno di questi cromosomi, le sequenze di basi si combinano per creare i geni, che sono essenzialmente istruzioni per le cellule al fine di creare diverse proteine.

I cani sono una delle specie più diversificate del pianeta. Come può una singola specie variare da un minuscolo Chihuahua a un enorme Alano, avendo essenzialmente le stesse istruzioni del DNA? La risposta sta negli alleli. Gli alleli sono piccole alterazioni della sequenza a livello del DNA, che vengono spesso trasmesse alle generazioni future. Alcuni alleli si traducono in differenze nelle proteine, con conseguenti possibili variazioni strutturali o correlate alla salute tra i soggetti. I cani di una razza tendono a condividere molti degli stessi alleli, quindi tendono ad avere aspetti e comportamenti simili.

Al contrario dei cani, dove molti secoli di allevamento selettivo hanno creato centinaia di razze distinte, la maggior parte delle razze feline è stata creata appena nel secolo scorso e si basa spesso su singoli tratti genetici come il colore o il tipo di mantello. Ad esempio, l'Exotic è un Persiano a pelo corto, mentre il Selkirk Rex è un Persiano a pelo riccio. Pertanto, le razze feline e di conseguenza i loro alleli, tendono a essere molto più omogenee rispetto alle razze canine, con il risultato di un minor numero di malattie genetiche e differenze morfologiche specifiche per la razza. Sebbene le offerte

genetiche disponibili per i gatti siano tradizionalmente in ritardo rispetto alle controparti canine, stanno continuando a progredire, con oltre 60 mutazioni del tratto e di malattia oggi disponibili per i test.

I benefici dei test genetici

Forse, il beneficio più evidente dei test genetici sta nella prevenzione delle malattie, che consente agli allevatori di scegliere selettivamente gli animali che non producono cucciolate affette. I portatori di malattia possono continuare a essere utilizzati nei programmi di accoppiamento, a condizione che siano accoppiati responsabilmente con i partner appropriati; inoltre, è consigliabile testare la potenziale progenie portatrice prima della riproduzione.

Oltre a utilizzare i test genetici per gli screening pre-accoppiamento, possiamo anche usare le informazioni da essi fornite per assistere la popolazione generale. Come nella medicina umana, la medicina veterinaria si sta dirigendo verso un'assistenza personalizzata basata sulle valutazioni del rischio di malattia di ogni animale, con i test genetici largamente diffusi che diventano la norma, sia per i pazienti di razza pura, sia per quelli di razza mista, facilitando la diagnosi precoce della malattia.

Test genetici

I veterinari hanno a disposizione numerosi tipi di test genetici. Uno di questi test viene utilizzato per verificare la paternità di una cucciolata; il DNA serve a esaminare "marcatori" genetici, o loci nel DNA in cui le mutazioni hanno creato numerosi alleli, per identificare se una cucciolata corrisponde geneticamente al padre e alla madre proposti. Questi stessi marcatori possono servire a confermare l'identità di un soggetto nei casi di medicina legale riguardanti lo smarrimento o il furto di un pet.

Quando è nota la specifica mutazione che causa una malattia o un tratto, è possibile esaminare tale locus genetico nel DNA di un animale per determinare se il soggetto è portatore di una o due copie della specifica mutazione. Questa indagine è chiamata test di mutazione diretta. Altri test genetici si basano sul concetto del linkage genetico, usando marcatori che fiancheggiano l'area di interesse al fine di predire il genotipo in quel locus.

La tecnologia continua a evolversi per rendere possibile l'analisi di numerosi marcatori. Per questo motivo, sono disponibili test genetici più avanzati e complessi per la ricerca e le applicazioni commerciali, incluso lo screening per le malattie genetiche, sia nel cane che nel gatto, e i test dell'ascendenza nel cane.

Test fenotipici

Sebbene la nostra conoscenza dei tratti e dei disturbi genetici stia crescendo rapidamente, esistono ancora alcuni disordini ereditari che sono probabilmente multifattoriali, o la cui causa genetica rimane sconosciuta. Per questo motivo, non siamo in grado di sondare direttamente il DNA per determinare se un cane o un gatto soffrirà di queste condizioni o produrrà

eventualmente una cucciolata affetta. Il paziente deve essere invece esaminato alla ricerca di quelle caratteristiche cliniche che possono indicare gli alleli di cui è facilmente portatore.

Come accennato in precedenza, per fenotipo si intende il prodotto esteriore dei geni. Pertanto, un cane con gli alleli per produrre un mantello marrone ha un "fenotipo" marrone. Esempi di test fenotipici spesso usati includono la radiografia per la displasia dell'anca e la displasia del gomito, l'ecografia per la cardiopatia e i test di laboratorio o gli esami obiettivi per le malattie oculari, tiroidee, cutanee e uditive.

Casistica

Ogni razza canina ha le sue peculiari malattie genetiche di interesse. Ad esempio, è opinione comune tra i veterinari che la malattia di von Willebrand tipo 1 colpisca spesso il Dobermann pinscher, mentre il Dalmata sia predisposto all'urolitiasi a causa dell'iperuricosuria. La ricerca genetica continua a identificare la presenza di mutazioni clinicamente pertinenti in razze dove la malattia non era stata precedentemente caratterizzata. Uno studio ha stabilito la presenza di un certo numero di mutazioni in nuove razze, compresa l'iperuricosuria nel Lagotto romagnolo, una razza relativamente rara (5). I cani di razza mista pongono sfide uniche per quanto riguarda i test per le malattie genetiche; è importante capire in che modo le varianti del rischio genetico identificate si manifesteranno clinicamente nell'ascendenza dei cani di razza mista per fornire consulenze adeguate a veterinari e proprietari.

Un esempio è il caso di una cagna di razza mista di 1,5 anni (25% di Labrador retriever e Rat terrier, 12,5% di Siberian Husky, Golden retriever e Australian shepherd) di nome Orsetta (**Figura 4**) che amava

Figura 4. Questo cane, con un carattere della razza che include il 25% di Labrador retriever, ha sperimentato episodi di collasso prima di scoprire che era portatore di due copie del gene per il collasso indotto da sforzo. Questa conoscenza può consentire al proprietario di prevenire gli episodi futuri e ridurre lo stress vissuto dal proprietario nel caso si verificassero altri episodi.



© Nikki Trost



“L’identificazione visiva delle razze è molto più complicata di quanto molti credano ed è in gran parte inaccurata; quindi, tirare a indovinare la razza non è un metodo affidabile.”

Angela Hughes

correre e giocare nel parco di zona. In due diverse occasioni aveva avuto un collasso durante l’esercizio fisico e non era riuscita ad alzarsi in piedi senza assistenza, spingendo il proprietario a portarla in un pronto soccorso per la valutazione. Sebbene fosse stato impossibile identificare una causa clinica, Orsetta si era ripresa dopo ogni episodio, ma non senza causare preoccupazioni e investimenti finanziari significativi per il suo proprietario. I successivi test del profilo genetico avevano rivelato che Orsetta era positiva per due copie di una mutazione nel gene dinamina 1 responsabile del collasso indotto da sforzo, come descritto in diverse razze di retriever (6), il che spiega gli episodi di collasso. In base a queste informazioni, il proprietario è stato adeguatamente

consigliato con l’obiettivo di evitare i futuri episodi di collasso e ha ricevuto informazioni sul modo migliore di trattare tali episodi qualora fossero riapparsi.

Inoltre, sono stati segnalati numerosi casi di cani di razza mista con una o due copie della mutazione per la multi-farmacosenibilità (mutazione *ABCB1*, precedentemente nota come *MDR1*). Queste segnalazioni riguardano generalmente un recupero fortemente ritardato dopo procedure anestetiche che includono l’uso di acepromazina e butorfanolo come parte del protocollo anestetico. Il metabolismo e l’eliminazione di entrambi i medicinali sono notoriamente influenzati dalla mutazione *ABCB1*. Proprietari e veterinari hanno segnalato che questi cani impiegavano fino a quattro giorni per tornare ai livelli normali di attività e concentrazione mentale rispetto ai cani privi della mutazione *ABCB1* che ricevevano lo stesso protocollo anestetico; questi ultimi tornavano in genere alle attività normali entro il giorno successivo. Per questo motivo, si raccomanda di scegliere medicinali alternativi (o ridurre i dosaggi) nei cani che notoriamente trasportano una o due copie della mutazione *ABCB1*.

Si noti che l’aspetto esteriore dei cani di razza mista non indica sempre la necessità di eseguire test per *ABCB1*. Molti veterinari usano il metodo “zampe bianche, non trattare” per identificare i pazienti che potrebbero trarre vantaggio dai test per la mutazione *ABCB1*. In realtà, questo termine colloquiale è improprio; la presenza di macchie bianche (più comuni sulle zampe) viene osservata in molti cani che non hanno ascendenza da cani da pastore, e molte razze miste di cani da pastore non hanno in effetti le zampe bianche. Inoltre, dato che esistono così tante

Tabella 1. Risorse utili per ottenere informazioni sulle malattie genetiche.

Nome della risorsa	Caratteristiche preminenti	URL
Canine Health Information Center	Banca dati centralizzata della salute canina sponsorizzata dall’OFA. Protocolli di analisi specifici in base alla razza.	www.caninehealthinfo.org
Canine Inherited Disorders Database	Banca dati con opzioni di ricerca per le malattie genetiche con un focus più clinico.	cidd.discoveryspace.ca
Companion Animal Eye Registry	Banca dati dei genotipi e fenotipi relativi alle malattie oculari	www.ofa.org/diseases/eye-certification
Programma Genesis	Raccomandazioni sanitarie personalizzate basate sui dati relativi alla razza e alla taglia	www.genesis4pets.com
Malattie ereditarie nei cani	Banca dati con opzioni di ricerca per informazioni e risorse sulle malattie genetiche	www.vet.cam.ac.uk/idid
Partnership internazionale per i cani	Numerose risorse relative alla razza e alla salute, inclusi blog e presentazioni/lezioni online	www.dogwellnet.com
Langford Vets	Lista delle malattie genetiche pertinenti, in base alla razza felina	www.langfordvets.co.uk/diagnostic-laboratories/diagnostic-laboratories/general-info-breeders/genetic-diseases-and-cat
My Breed Data	Informazioni sulla prevalenza di malattia con opzioni di ricerca in base alla razza e al disturbo	www.mybreeddata.com
Online Mendelian Inheritance in Animals	Banca dati con opzioni di ricerca per informazioni e risorse sulle malattie genetiche	omia.org/home/
Orthopedic Foundation for Animals (OFA)	Banca dati per il DNA, memorizza informazioni sul genotipo/fenotipo per la ricerca	www.offa.org
PennHip	Informazioni sui test fenotipici per la displasia dell’anca	www.pennhip.org
Comitato per le malattie ereditarie della WSAVA	Notizie e risorse relative alle malattie genetiche	www.wsava.org/Education-1/Hereditary-Disease-Committee-Resources
	Banca dati dei test disponibili per cani e gatti e dei laboratori che li eseguono	research.vet.upenn.edu/penngen/AvailableTests/TestsAvailableatLabsWorldwide/tabid/7620/Default.aspx



© Marcella VanMeter

Figura 5. L'aspetto e il carattere della razza di questo cane (Beagle, Chihuahua e volpino di Pomerania) non indicano necessariamente la necessità di effettuare i test per la mutazione *ABCB1*. Tuttavia, la cagna è eterozigote per la mutazione, un'informazione che dovrebbe essere utilizzata per guidare le scelte mediche future.

generazioni di incroci con cani di razza mista, essere portatori della mutazione non è solo più esclusiva dei cani con recente ascendenza di cani da pastore (Figura 5).

Consulenza genetica nella pratica

Quando un paziente riceve una diagnosi di una condizione potenzialmente ereditaria, il test del DNA, se disponibile, può servire a confermare la diagnosi e fornire possibilmente al cliente informazioni sul trattamento e la prognosi, come descritto nei precedenti esempi. Dove possibile, il proprietario va incoraggiato a informare l'allevatore di quanto ha scoperto in modo costruttivo; gli allevatori che

CONCLUSIONE

Nel complesso, la genetica è un campo entusiasmante e in rapida evoluzione della medicina veterinaria. Integrare la genetica nella pratica e concentrarsi sui problemi specifici di ogni razza migliorerà le capacità cliniche e diagnostiche del veterinario, aiuterà i proprietari a comprendere la causa e il decorso di una malattia (che consente in alcuni casi il trattamento precoce e l'esordio ritardato della malattia), consentirà agli allevatori di produrre una prole sana, e tutto questo insieme aumenterà la soddisfazione del cliente. Aumentando la consapevolezza delle malattie genetiche e la disponibilità dei test, i veterinari possono lavorare per alleviare, e forse eliminare un giorno, le malattie genetiche nella popolazione degli animali da compagnia.

seguono un codice deontologico tengono sinceramente alla salute dei propri animali e stanno cercando di produrre animali sani per migliorare la razza. Inoltre, molti disturbi congeniti, non importa se ereditari o ambientali, possono verificarsi sporadicamente, e l'allevatore non può migliorare il suo programma di allevamento se non riceve informazioni, buone o cattive, sulla prole che sta producendo.

Il futuro

Sebbene sia intrinsecamente difficile prevedere il futuro della medicina veterinaria, sono in corso molti entusiasmanti programmi di ricerca che portano dentro di sé una promessa significativa. Alcuni di questi studi stanno tentando di comprendere le influenze genetiche su malattie più complesse, tra cui la displasia dell'anca, l'atopia e molti cancri. I ricercatori stanno inoltre cercando di comprendere meglio la struttura e la diversità della razza e hanno sviluppato strumenti per consentire agli allevatori di prendere decisioni migliori al fine di produrre cuccioli e gattini più sani.

Tuttavia, per un veterinario pieno di impegni può essere scoraggiante trovare informazioni accurate sulla prevalenza della malattia per razze particolari, soprattutto quelle meno comuni. Le fonti d'informazione valide includono i siti Web dei club di razza nazionali, alcune risorse disponibili online, e i libri di testo pubblicati recentemente (per garantire che le informazioni siano aggiornate). La **Tabella 1** include alcuni siti Web particolarmente utili.



RIFERIMENTI

1. Paul AJ, Tranquilli WJ, Seward RL, et al. Clinical observations in collies given ivermectin orally. *Am J Vet Res* 1987;48(4):684-685.
2. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *MDR1* gene. *Pharmacogenetics* 2001;11(8):727-733.
3. Neff MW, Robertson KR, Wong AK, et al. Breed distribution and history of canine *MDR1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(32):11725-11730.
4. Voith VL, Ingram E, Mitsouras K, et al. Comparison of adoption agency breed identification and DNA breed identification of dogs. *J Appl Anim Welf Sci* 2009;12(3):253-262.
5. Donner J, Kaukonen M, Anderson A, et al. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016; 11(8):e0161005.
6. Patterson EE, Minor KM, Tchernatynskaia AV, et al. A canine *DNM1* mutation is highly associated with the syndrome of exercise-induced collapse. *Nat Genet* 40:1235-1239.

Lecture consigliate

- Bell JS, Cavanagh KE, Tilley LP, et al. *Veterinary Medical Guide to Dog and Cat Breeds*. Jackson, WY. Teton NewMedia 2012
- Ackerman L. *The Genetic Connection: A guide to health problems in purebred dogs* 2nd ed. Lakewood, Co. AAHA Press 2011
- Gough A, Thomas A. *Breed Predispositions to Disease in Dogs and Cats* 2nd ed. Oxford, Blackwell 2010.
- Nicholas FW. *Introduction to Veterinary Genetics* 3rd ed. Oxford, OUP 2009.

IL GENE *ABCB1* NEI CANI

Tutti i veterinari conoscono la sensibilità all'ivermectina dei Cani da pastore scozzesi, ma ciò che generalmente non viene riconosciuto è che il gene responsabile è molto più diffuso di quanto si pensi; inoltre, come spiega Cindy Cole, la mutazione può causare reazioni avverse a molti altri farmaci, oltre all'ivermectina.

PUNTI CHIAVE



Precedentemente denominato *MDR1* (multi-farmacoresistenza), il gene *ABCB1* codifica per la glicoproteina P (P-gp), un trasportatore di ATPasi che sposta piccole molecole (substrati) attraverso la membrana cellulare. L'importanza della P-gp è stata sottolineata nel 2001, quando è stata identificata una mutazione nel gene *ABCB1* come causa della sensibilità all'ivermectina nei Cani da pastore scozzesi (1,2). Inizialmente, si riteneva che il significato clinico della mutazione fosse limitato ai lattoni macrociclici, una classe farmacologica che include ivermectina, milbemicina ossima, selamectina e una varietà di altre molecole comunemente usate come parassitocidi. Tuttavia, è ormai riconosciuto che esiste una lunga lista di substrati di P-gp, molti dei quali sono comunemente usati in medicina veterinaria (**Tabella 1**). Il gene *ABCB1* mutato causa la produzione di una proteina troncata, che altera l'effetto di questi medicinali e così, quando si somministrano dosi normalmente terapeutiche a cani con una o due copie della mutazione, si manifestano segni clinici di tossicità. Vari rapporti hanno indicato un collegamento tra mutazione e tossicità per molti farmaci diversi, tra cui loperamide (**Figura 1**) (3), acepromazina (4) e gli agenti chemioterapici vincristina, vinblastina e doxorubicina (5).

●○○ Quali razze sono colpite?

Si pensa che la mutazione abbia avuto origine dai cani da pastore in Gran Bretagna nel 1800 (6). Sebbene oggi siano comunemente colpite molte delle razze di cani da pastore, la distribuzione della mutazione nella razza non è chiara. I Cani da pastore scozzesi hanno la massima frequenza della mutazione e fino al 75% di alcune popolazioni è portatore di almeno una copia (6). Altre razze comunemente colpite includono un certo numero di razze di cani da pastore, come Australian Shepherd e McNab. L'analisi genetica rivela che molto probabilmente si è verificata una singola mutazione in un antenato condiviso delle razze di cani da pastore.

Inaspettatamente, anche due razze nel gruppo dei levrieri, Whippet a pelo lungo e Silken Windhound, sono portatori della mutazione *ABCB1*, e questo sembra essere un fenomeno abbastanza recente (6). È stato suggerito che la mutazione genetica sia stata introdotta, poiché queste razze erano in via di sviluppo alcuni decenni fa, e le implicazioni sono chiare: se gli allevatori vogliono creare nuove razze o cani ibridi, potrebbero introdurre inconsapevolmente condizioni indesiderate, come la mutazione *ABCB1*. La **Tabella 2** mostra la frequenza della mutazione in alcune delle razze più comuni.

●●○ Qual è il rischio?

Molti veterinari hanno familiarità con la mutazione nelle razze di cani da pastore, ma potrebbero non rendersi conto che anche i cani di razza mista sono a rischio. Poiché la mutazione viene ereditata in modo dominante, anche i cani che possiedono una copia del gene sono a rischio di rispondere negativamente a determinati farmaci, e idealmente tutti i cani dovrebbero quindi essere testati per determinare il loro stato *ABCB1*.

Il dosaggio di alcuni (ma non tutti) medicinali che sono substrati di P-gp deve essere ridotto quando sono somministrati ai cani affetti. Il grado di riduzione della dose dipende sia dal medicinale sia dal fatto che il cane sia portatore di una o due copie della mutazione. Ad esempio, sebbene digossina, ciclosporina, doxiciclina, morfina e la maggior parte degli altri analgesici oppioidi siano substrati di P-gp,

Tabella 1. Farmaci attualmente noti come substrati per la glicoproteina P.

Agenti chemioterapici	Agenti per il cuore	Altro
Doxorubicina Mitoxantrone Paclitaxel Vinblastina Vincristina	Digossina Diltiazem Losartan Chinidina Verapamil	Amitriptilina Fenitoina
Antibiotici	Steroidi	Oppioidi
Doxiciclina Eritromicina Itraconazolo Rifampicina Tetraciclina	Aldosterone Cortisolo Desametasone Estradiolo Idrocortisone Metilprednisolone	Butorfanolo Morfina Loperamide
Immunosoppressori	Antiemetici	Lattoni macrociclici
Ciclosporina A Tacrolimus	Domperidone	Ivermectina Milbemicina ossima Selamectina Moxidectina
Antistaminici H2	Antistaminici H1	
Cimetidina Ranitidina	Fexofenadina Terfenadina	

Tabella 2. Razze colpite dalla mutazione *ABCB1* (frequenza%).

Cane da pastore scozzese	70%
Australian shepherd, mini	50%
Australian Shepherd	50%
Whippet a pelo lungo	50%
Cani da pastore scozzesi McNab	30%
Silken Windhound	30%
Chinook	25%
English Shepherd	15%
Cane da pastore scozzese Shetland	15%
Pastore tedesco	10%
Bobtail	5%
Border collie	< 5%



Cynthia Cole,

DVM, PhD, Dipl. ACVCP, Wisdom Health™, Portland, OR, Stati Uniti

La Dr.ssa Cole si è diplomata al College of Veterinary Medicine, University of Florida e ha iniziato la sua carriera nel mondo accademico prima di ricoprire vari ruoli in diverse aziende farmaceutiche veterinarie. Nel 2014 è entrata a far parte del Wisdom Health™ (ex Mars Veterinary) come direttore R&D ed è attualmente General Manager per l'azienda.

non è stata osservata una maggiore sensibilità a questi agenti e non è attualmente raccomandata alcuna modifica della dose (7).

La **Tabella 3** mostra i medicinali la cui dose deve essere regolata quando usati nei cani con mutazioni *ABCB1* (7). È difficile raccomandare una regolazione generale della dose per uno qualsiasi dei farmaci trasportati dalla proteina *ABCB1*, quindi è più sicuro evitare di somministrare questi medicinali ai cani con la mutazione, o consultare se necessario un farmacologo clinico. Questo specialista dovrebbe anche essere consultato prima di somministrare agenti con finestre terapeutiche strette, come ad esempio gli agenti chemioterapici, poiché devono essere somministrati con estrema cura ai cani. Un punto estremamente importante, tuttavia, è che tutti i medicinali approvati dalle autorità regolatorie governative (vale a dire FDA, EMA) per prevenire la filariosi cardiopolmonare nei cani sono sicuri ed efficaci indipendentemente dallo stato *ABCB1* del cane. Dosi più elevate di questi lattoni macrociclici, che sono comunemente usati per trattare condizioni come la rogna demodettica, possono essere tossiche per i cani portatori della mutazione *ABCB1*, causando addirittura la morte in cuccioli o animali malati.

CONCLUSIONE

La mutazione *ABCB1* è presente in molte più razze canine, oltre ai Cani da pastore scozzesi o alle razze di cani da pastore. È verosimile che i cani di razza mista siano particolarmente a rischio perché i veterinari non si aspettano regolarmente che abbiano la mutazione e pertanto controllano raramente il loro stato *ABCB1*. Sebbene la tossicità associata all'ivermectina e agli altri lattoni macrociclici sia più strettamente associata alla mutazione *ABCB1*, anche vari altri medicinali comunemente usati sono substrati di P-gp. I veterinari dovrebbero raccomandare di testare tutti i cani per determinare lo stato *ABCB1* al fine di fornire la terapia più sicura ed efficace per i loro pazienti.

Figura 1. Roxy ha sviluppato segni neurologici dopo la somministrazione di una dose "terapeutica" di loperamide. La successiva genotipizzazione ha rivelato che aveva due copie della mutazione *ABCB1*.



© Courtesy of Dr. Katrina Mealey

Tabella 3. Substrati di P-gp comunemente usati in medicina veterinaria che richiedono regolazioni della dose nel cane con mutazioni *ABCB1* (7).

Acepromazina
Butorfanolo
Apomorfina
Loperamide
Ivermectina *
Milbemicina *
Moxidectina *
Selamectina *
Agenti chemioterapici (vinblastina, vincristina, doxorubicina, paclitaxel)

* Le formulazioni approvate dalla FDA e dall'EMA per la prevenzione della filariosi cardiopolmonare sono sicure in tutti i cani indipendentemente dallo stato *ABCB1*.



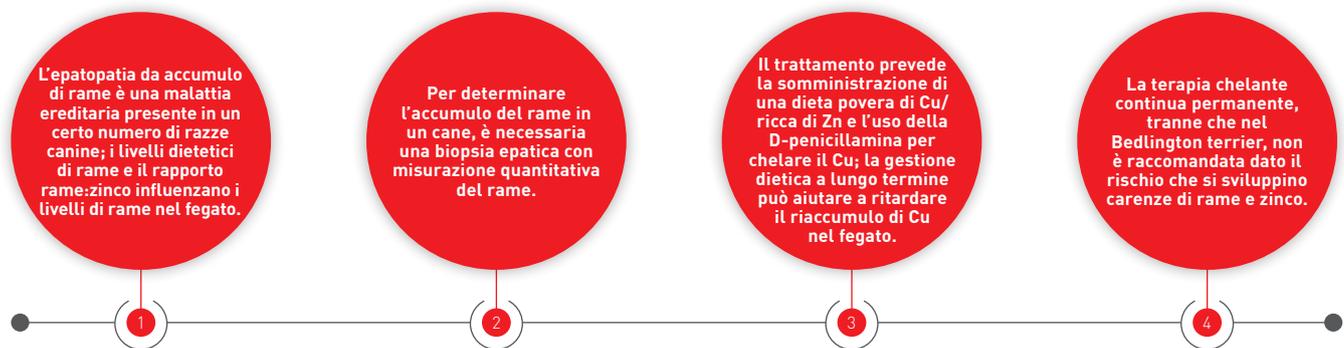
RIFERIMENTI

1. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, et al. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the *MDR1* gene. *Pharmacogenetics* 2001;11:727-733.
2. Roulet A, Puel O, Gesta S, et al. *MDR1*-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *Eur J Pharmacol* 2003;460:85-91.
3. Sartor LL, Bentjen SA, Trepanier L, et al. Loperamide toxicity in a collie with the *MDR1* mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Vet Intern Med* 2004;18:117-118.
4. Deshpande D, Hill KE, Mealey KL, et al. The effect of the canine *ABCB1-1Δ* mutation on sedation after intravenous administration of acepromazine. *J Vet Intern Med* 2016;30:636-641.
5. Mealey KL, Northrup NC, Bentjen SA. Increased toxicity of P-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the *MDR1* deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *J Am Vet Med Assoc* 2003;223:1453-1455.
6. Neff MW, Robertson KR, Wong AK, et al. Breed distribution and history of canine *MDR1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:11725-11730.
7. Washington State University, Veterinary Clinical Pharmacology Lab website. Problem Drugs. Available at: (<https://vcpl.vetmed.wsu.edu/problem-drugs>)

EPATOPATIA DA ACCUMULO DI RAME NEL CANE

L'epatopatia da accumulo di rame derivante dal sovraccarico di rame è stata ben documentata nei Bedlington terrier da molti anni e il gene difettoso è stato quasi eliminato, ma possono essere ancora a rischio altre razze, come Hille Fieten tratta nel suo articolo.

PUNTI CHIAVE



Introduzione

Il rame è un oligoelemento essenziale che svolge un ruolo vitale in un'ampia varietà di processi biologici. Tuttavia, in quantità eccessive il rame è estremamente tossico, poiché gli ioni del rame liberi possono generare specie reattive dell'ossigeno che danneggiano proteine, lipidi e DNA. Al fine di prevenirne gli effetti tossici, l'omeostasi del rame nel corpo è strettamente regolata da molte diverse proteine leganti il rame(1).

Il rame contenuto negli alimenti o nell'acqua potabile viene assorbito attraverso il tratto gastrointestinale (GI). Sul lato basolaterale degli enterociti, il trasportatore di rame ATP7A è responsabile dello spostamento del rame attraverso la membrana basolaterale nella circolazione portale (**Figura 1**). Attraverso il sistema portale, il rame raggiunge il fegato che svolge un ruolo centrale nel metabolismo, nello stoccaggio e nell'escrezione dell'elemento. All'interno degli epatociti, il rame è accompagnato da diversi organelli cellulari e incorporato nelle proteine per esercitare le sue diverse funzioni. Gli epatociti hanno inoltre una funzione di stoccaggio del rame e ne regolano la redistribuzione ad altri organi del corpo. Il rame in eccesso viene trasportato oltre la membrana apicale canalicolare degli epatociti ed escreto nella bile. Il trasportatore di rame ATP7B, che è strutturalmente correlato ad ATP7A, svolge un ruolo importante in questo processo di escrezione (**Figura 1**). Si ritiene che la proteina COMMD1 sia

importante per il corretto funzionamento di ATP7B nel processo di escrezione biliare del rame in eccesso.

L'importanza dei trasportatori ATP7A e ATP7B nell'omeostasi del rame è illustrata dagli effetti distruttivi dei difetti ereditari in ciascuna di queste proteine nei pazienti umani. I neonati e i bambini con mutazioni in *ATP7A* sviluppano la sindrome di Menke, una malattia letale caratterizzata da un fenotipo con grave deficit di rame, accompagnato da difetti neurologici (2). Le mutazioni in *ATP7B* causano la malattia di Wilson nell'uomo, dove il sovraccarico di rame nel fegato e nei tessuti neuronali provoca insufficienza epatica e/o malattia neurologica o mentale (3).



Eziologia

L'epatopatia da accumulo di rame, dovuta al sovraccarico di rame nel fegato dei cani, mostra somiglianze con la malattia di Wilson nell'uomo, salvo il fatto che i fenotipi neurologici non sono riconosciuti nei cani. Il primo esempio di epatopatia da accumulo di rame ereditaria è stato osservato nel Bedlington Terrier (**Figura 2**). In questa razza, una delezione del secondo esone del gene *COMMD1* causa la completa assenza della proteina COMMD1 nel fegato, con conseguente diminuzione dell'escrezione di rame nella bile (**Figura 1**) (4). In questa razza sono stati misurati valori di rame epatico estremi, fino a 10.000 mg/kg di peso a secco del fegato, e il rame



Hille Fietsen,

DVM, PhD, Dipl. ECVIM-CA, MSc (Epidemiologia genetica), Facoltà di Medicina Veterinaria, Utrecht University, Paesi Bassi

Dopo essersi laureata all'Utrecht University nel 2006, la Dr.ssa Fietsen ha conseguito il Master in Epidemiologia genetica presso l'Università Erasmus nel 2011, prima di prepararsi per il PhD, incentrato sull'epatopatia da accumulo di rame nel Labrador retriever. Attualmente lavora come specialista di medicina interna all'Utrecht University con particolare interesse per l'epatologia ed è presidente della Society of Comparative Hepatology. È stata recentemente nominata direttore dell'Expertise Center Genetics for Companion Animals, che punta a ridurre l'incidenza della malattia ereditaria nel cane e nel gatto.

epatico accumulato porta inevitabilmente alla cirrosi epatica. Fortunatamente, con lo sviluppo di un test del DNA, questa malattia è stata quasi eradicata dalla popolazione di Bedlington terrier.

In un certo numero di altre razze, l'epatopatia da accumulo di rame viene riconosciuta con frequenza crescente. Gli studi del pedigree eseguiti su Labrador retriever, Dobermann, West Highland White terrier, Skye terrier e Dalmata hanno confermato un

background ereditario. Uno studio sul Labrador retriever ha rilevato mutazioni nei trasportatori di rame ATP7A e ATP7B, con i rispettivi livelli di rame epatico diminuiti e aumentati [5]; è stata inoltre rilevata una predisposizione nelle femmine. Inoltre, c'era una relazione significativa tra l'assunzione di rame nella dieta e i livelli di rame epatico, che rappresenta quindi un fattore di rischio per lo sviluppo dell'epatopatia da accumulo di rame.

Figura 1. Il diagramma mostra come la captazione e l'escrezione del rame sono regolati dai trasportatori ATP7A e ATP7B. ATP7A, che è localizzato nella membrana basolaterale degli enterociti, facilita la captazione di rame dagli enterociti nella circolazione portale. Successivamente, il rame viene assorbito dagli epatociti e il rame in eccesso viene escreto attraverso la bile, un processo facilitato da ATP7B. Nei Bedlington terrier, una delezione nel gene *COMMD1* causa la completa assenza della proteina *COMMD1* nel fegato, con conseguente diminuzione dell'escrezione di rame nella bile. Nel Labrador retriever una combinazione di mutazioni nelle proteine ATP7A e ATP7B può influenzare l'omeostasi del rame [5]. L'accumulo di rame nel fegato è dovuto alla ridotta funzione della proteina ATP7B causata dalla sostituzione dell'amminoacido ATPB^{R1453Q}. Questo effetto viene attenuato se la funzione di ATP7A viene ostacolata simultaneamente dalla sostituzione dell'amminoacido ATP7A^{T327I}, che si traduce nell'accumulo di rame negli enterociti e conseguente aumento della diffusione di rame nelle feci. La presenza della sola mutazione ATP7A potrebbe teoricamente predisporre alla carenza di rame.

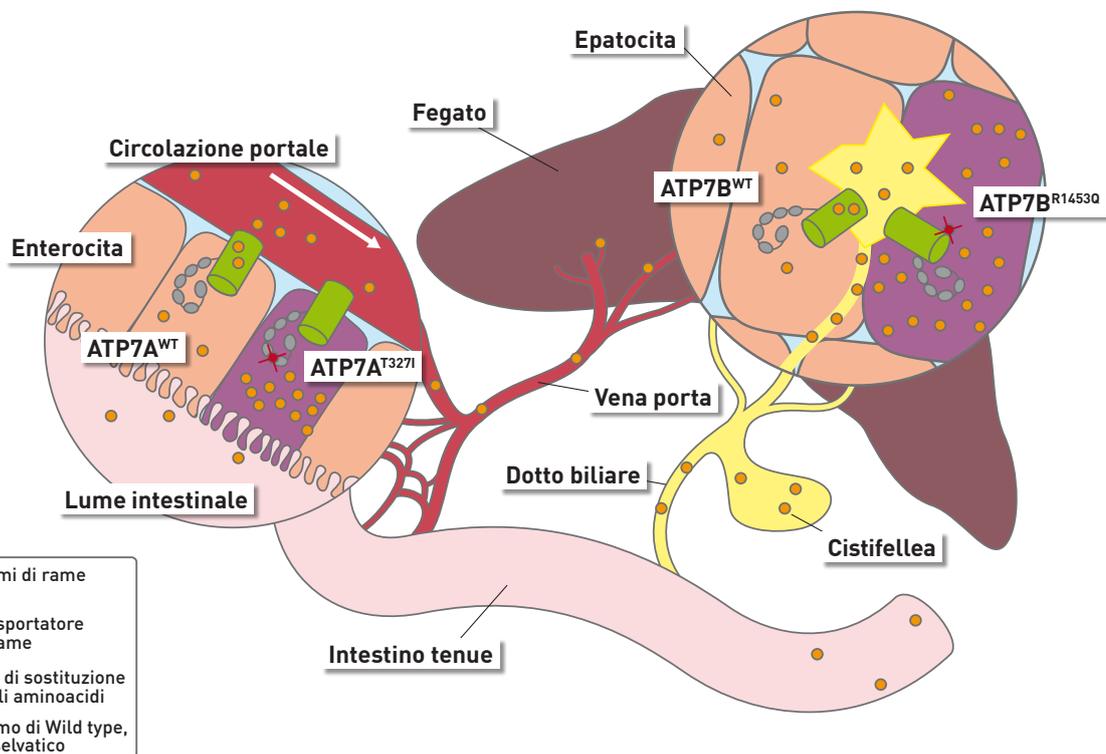




Figura 2. Il primo esempio di epatopatia da accumulo di rame ereditaria è stato osservato nel Bedlington terrier. Comunque, con lo sviluppo di un test del DNA la malattia è stata quasi eradicata dalla razza.

In altre razze canine si è sospetta un'etiologia complessa simile nello sviluppo all'epatopatia da accumulo di rame, per cui le mutazioni genetiche predispongono alla malattia, ma l'eventuale sviluppo della malattia clinica dipende da fattori ambientali, in cui l'assunzione di rame svolge un ruolo importante (6).

●●● Segni clinici

Nei cani con stadi precoci di accumulo di rame epatico senza evidenti danni epatici, i segni clinici sono generalmente assenti. Mentre il rame continua ad accumularsi danneggiando l'epatocita, l'aumento delle transaminasi, specialmente ALT, è una delle prime anomalie di laboratorio, ma può comunque essere molto leggera. Il processo è solitamente cronico, caratterizzato da cicli multipli successivi di accumulo di rame, danno dell'epatocita, fagocitosi da parte dei macrofagi degli epatociti danneggiati dal rame, avvio dell'infiammazione e formazione di fibrosi. Quando



“La valutazione istologica del tessuto epatico è l'unico modo per diagnosticare l'epatopatia da accumulo di rame nelle razze diverse dal Bedlington terrier.”

Hille Fieten

l'epatopatia diventa grave o in presenza della cirrosi epatica, compaiono i segni clinici. L'età alla prima presentazione clinica è variabile e può andare da 2 a 11 anni, sebbene la maggior parte dei cani abbia una presentazione di mezza età (6-7 anni).

Inizialmente, i segni clinici possono essere leggeri e aspecifici, tra cui diminuzione dell'attività, dell'appetito e vomito. Successivamente, il quadro clinico si sviluppa in quello tipico dell'epatopatia terminale, con segni che includono perdita di peso, ittero, ascite ed encefalopatia epatica. I segni clinici possono essere accompagnati da incrementi degli enzimi epatici, della bilirubina e degli acidi biliari, diminuzione dei livelli di albumina e dei fattori della coagulazione (specialmente fibrinogeno), accompagnati dallo sviluppo di ipertensione portale e formazione del circolo collaterale, aumento dei livelli di ammoniaca nel sangue.

Le anomalie cliniche e di laboratorio non premettono di distinguere l'epatopatia da sovraccarico di rame epatico da qualsiasi altra causa di epatite cronica. Nel Bedlington terrier, sono state descritte crisi emolitiche causate dal massiccio rilascio di rame dagli epatociti nella circolazione, ma questa condizione non è stata segnalata in altre razze. In alcuni cani, tra cui il Labrador retriever, è stata descritta la sindrome di Fanconi, causata dal concomitante accumulo di rame nei tubuli renali prossimali. Questa condizione è reversibile con la terapia chelante (7).

●●● Diagnosi

La valutazione istologica del tessuto epatico è l'unico modo per diagnosticare l'epatopatia da accumulo di rame nelle razze diverse dal Bedlington terrier. In questa razza, la malattia è monogenetica e la presenza di due copie della mutazione genetica *COMMD1* porta inevitabilmente all'epatopatia da accumulo di rame se l'elemento è presente nella dieta o nell'acqua potabile.

Nei Labrador retriever, è possibile prevedere il rischio in base al genotipo *ATP7A* e *ATP7B* se il cane ha un genotipo che rientra nelle categorie estreme. Tuttavia, lo stato reale del rame dipende dalla sua assunzione alimentare durante tutta la vita del cane, che è spesso difficile da stimare e complica l'affidabilità della previsione del rischio in ogni singolo cane basata esclusivamente sul genotipo.

Le biopsie epatiche devono essere valutate mediante colorazione di routine con ematossilina ed eosina, utilizzando il metodo di Gordon e Sweet per rilevare la reticolina e l'acido rubeanico o la rodanina per il rame. La localizzazione del rame nella regione centrolobulare del lobulo epatico è caratteristica della tossicosi primaria da rame. Un infiltrato infiammatorio mononucleare o misto accompagna gli epatociti carichi di rame. Negli stadi più avanzati della malattia, si possono riconoscere l'apoptosi e la necrosi degli epatociti colpiti e dei macrofagi carichi di rame (cellule di Kupffer) in associazione con l'accumulo centrozonale di rame nell'epatocita (**Figura 3**). Nella malattia avanzata si osservano apoptosi, necrosi, rigenerazione e la tipica fibrosi a ponte centro-centrale, che allo stadio terminale causa cirrosi epatica micronodulare o macronodulare.

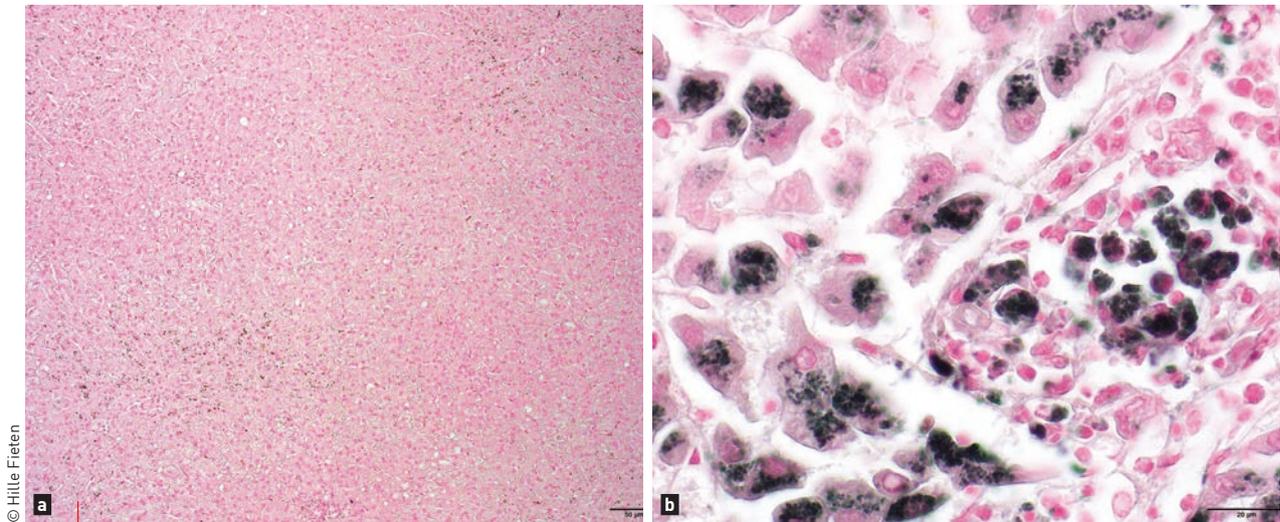


Figura 3. Immagini istologiche del fegato di un cane con tossicosi da rame (colorazione con acido rubeanico). A questo cane è stato attribuito un punteggio del rame di 3+. È chiaramente dimostrata la distribuzione zonale del rame con accumulo nelle aree centro-lobulari (a). L'ingrandimento mostra l'accumulo di rame all'interno degli epatociti, indicando un precedente danno epatocitario con conseguente fagocitosi di detriti cellulari e rame (b).

Per quantificare la quantità di rame nel fegato, viene impiegato un sistema di classificazione istologica che va da 0 (senza rame) a 5 (presenza panlobulare diffusa di epatociti con molti granuli rame-positivi, solitamente associati a macrofagi contenenti rame). Un punteggio di 2 o superiore è considerato anormale. In presenza di rame all'istologia, è giustificata la sua misurazione in un ulteriore campione epatico. La concentrazione di rame nel tessuto epatico può essere valutata quantitativamente mediante irradiazione delle biopsie e misurazione della radioattività indotta dal rame, o mediante metodi spettrofotometrici. I campioni biotipici epatici devono essere prima liofilizzati; quindi si deve trattare un campione di peso a secco del fegato (DWL, Dry Weight Liver). Una concentrazione di rame di 150-400 mg/kg di DWL è considerata normale per il cane. I Bedlington terrier possono avere concentrazioni di rame epatico superiori a 10.000 mg/kg di DWL, mentre in altre razze canine sono stati segnalati livelli fino a 4.000 mg/kg di DWL.

Alternative terapeutiche

L'approccio terapeutico per l'epatopatia da accumulo di rame consiste nel creare un bilancio di rame negativo. Ciò può essere ottenuto limitando la captazione di rame o impedendo l'assorbimento di rame con l'integrazione supplementare di zinco e promuovendo l'escrezione di rame con i chelanti del rame.

Gestione dietetica

La restrizione della captazione del rame può essere ottenuta fornendo una dieta a bassa concentrazione di rame ed evitando integratori minerali contenenti rame. Le diete bilanciate a basso contenuto di rame per cani sono disponibili in commercio come "diete di sostegno epatico". Un ulteriore vantaggio di queste diete è che sono adatte per nutrire i cani con segni di encefalopatia epatica; di solito sono anche molto appetibili, cosa che può essere utile per gli animali con calo dell'appetito.

Nei cani, l'adattamento alimentare può prevenire l'ulteriore accumulo di rame nelle prime fasi della malattia [8]; tuttavia, la risposta alla dieta varia tra un soggetto e l'altro e resta la necessità di monitorare in modo permanente la concentrazione epatica di rame. Nei Bedlington terrier con accumulo estremo di rame epatico, l'intervento dietetico non è efficace come monoterapia.

Dopo una terapia chelante efficace, una dieta a basso contenuto di rame/elevato contenuto di zinco può essere utile per la gestione a lungo termine dei pazienti, poiché ritarda il riaccumulo di rame epatico [9]. Lo zinco può ridurre l'assorbimento del rame dal tratto gastrointestinale grazie all'induzione delle metallothioneine che si legano al rame negli enterociti. In questo modo, il rame viene eliminato con le feci durante il ricambio degli enterociti. In alcuni cani, un singolo ciclo di D-penicillamina e il conseguente adattamento dietetico possono essere sufficienti per prevenire la progressione della malattia.

Terapia chelante

La D-penicillamina lega il rame al proprio gruppo SH e promuove l'escrezione urinaria di rame [10]. Forma chelati relativamente stabili con tutti gli oligoelementi

Tabella 1. Medicinali per l'epatopatia da accumulo di rame.

Farmaco	Dose	Effetti avversi	Osservazioni
D-penicillamina	10-15 mg/kg ogni 12 ore, lontano dai pasti	Anoressia, vomito	Modello di previsione più comunemente usato per la durata del trattamento disponibile nel Labrador retriever [11]
Sali di zinco; - acetato di zinco - gluconato di zinco - solfato di zinco	5-10 mg/kg di zinco elementare 2x/die	Generalmente ben tollerato, ma possono verificarsi effetti indesiderati GI	Si raccomanda di non usare come monoterapia nei casi clinici. Esordio d'azione lento. Necessità di monitorare le concentrazioni plasmatiche di zinco

metallici biologicamente attivi, tra cui ferro e zinco, e promuove inoltre l'escrezione urinaria di questi metalli. La dose raccomandata è di 10-15 mg/kg due volte al giorno e il farmaco deve essere somministrato 1-2 ore lontano dai pasti per aumentarne l'assorbimento (**Tabella 1**). La D-penicillamina viene assorbita nello stomaco e nell'intestino superiore. Gli effetti avversi che si riscontrano spesso nei cani sono anoressia e vomito, ma questi possono essere evitati partendo da una dose bassa e aumentandola gradualmente. Inoltre, anche la formulazione della compressa (capsule assemblate dal farmacista contro compresse gastroresistenti) può avere un effetto sulla comparsa degli effetti indesiderati. Il trattamento deve essere continuato fino a ottenere la normalizzazione del rame epatico; per questa ragione sono necessarie biopsie epatiche regolari per valutare la concentrazione di rame (**Figura 4**). I Bedlington terrier richiedono di solito un trattamento permanente con D-penicillamina, mentre in altre razze il trattamento continuo può causare carenza di rame e probabilmente di zinco. In questi cani è raccomandato un regime di trattamento intermittente con valutazione istopatologica annuale delle biopsie epatiche. La durata del trattamento richiesta può essere calcolata in base alla concentrazione di rame nella biopsia epatica pretrattamento [11].

Zinco

Lo zinco orale blocca la captazione di rame negli enterociti. La dose raccomandata è di 5-10 mg/kg di zinco elementare due volte al giorno (**Tabella 1**), utilizzando inizialmente il limite superiore dell'intervallo di dosaggio e riducendolo per la terapia di mantenimento [12]. Ancora una volta, si raccomanda di effettuare la somministrazione lontano di 1-2 ore dai pasti, poiché il cibo può ridurre l'efficacia del farmaco.

Lo zinco in eccesso può essere dannoso; livelli plasmatici di zinco superiori a 1000 µg/dl possono causare emolisi; quindi per garantire la sicurezza, durante il trattamento devono essere monitorate le concentrazioni plasmatiche di zinco. Possono essere necessari tre mesi prima che il dosaggio con zinco orale blocchi efficacemente la captazione di rame dall'intestino; pertanto, questa terapia non è raccomandata come unico trattamento per i casi di epatopatia da accumulo di rame clinica.

CONCLUSIONE

L'epatopatia da accumulo di rame è una malattia ereditaria in cui l'assunzione di rame alimentare è un importante fattore di rischio. La condizione pone una sfida diagnostica e anche terapeutica, poiché i segni clinici appaiono spesso quando il danno epatico è già presente, e le anomalie cliniche e clinico-patologiche non sono specifiche per l'epatopatia da accumulo di rame. Tuttavia, con una diagnosi relativamente precoce e un monitoraggio e una gestione rigorosi, i cani affetti possono avere un'aspettativa di vita normale.



© Hille Fieten

Figura 4. Per monitorare la concentrazione di rame al fine di valutare l'efficacia della terapia sono necessarie biopsie epatiche regolari (ad esempio, mediante agoaspirato ecoguidato).



RIFERIMENTI

1. Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol* 2008;4:176-185.
2. Kaler SG. ATP7A-related copper transport diseases — emerging concepts and future trends. *Nat Rev Neurol* 2011;7:15-29.
3. Roberts EA, Schilsky ML. American Association for Study of Liver Diseases (AASLD). Diagnosis and treatment of Wilson Disease: an update. *Hepatology* 2008;47:2089-2111.
4. van de Sluis B, Rothuizen J, Pearson PL, et al. Identification of a new copper metabolism gene by positional cloning in a purebred dog population. *Hum Mol Genet* 2002;11:165-173.
5. Fieten H, Gill Y, Martin AJ, et al. The Menkes and Wilson Disease genes counteract in copper toxicosis in Labrador Retrievers: a new canine model for copper metabolism disorders. *Dis Model Mech* 2016;9:25-38.
6. Fieten H, Hooijer-Nouwens BD, Biourge VC, et al. Association of dietary copper and zinc levels with hepatic copper and zinc concentration in Labrador Retrievers. *J Vet Intern Med* 2012;26:1274-1280.
7. Langlois DK, Smedley RC, Schall WD, et al. Acquired proximal renal tubular dysfunction in 9 Labrador Retrievers with copper-associated hepatitis (2006-2012). *J Vet Intern Med* 2013;27:491-499.
8. Fieten H, Biourge VC, Watson AL, et al. Dietary management of Labrador Retrievers with subclinical hepatic copper accumulation. *J Vet Intern Med* 2015;29:822-827.
9. Fieten H, Biourge V, Watson A, et al. Nutritional management of inherited copper-associated hepatitis in the Labrador Retriever. *Vet J* 2014;199:429-433.
10. Fieten H, Hugen S, van den Ingh TS, et al. Urinary excretion of copper, zinc and iron with and without D-penicillamine administration in relation to hepatic copper concentration in dogs. *Vet J* 2013;2:468-473.
11. Fieten H, Dirksen K, van den Ingh TS, et al. D-penicillamine treatment of copper associated hepatitis in Labrador Retrievers. *Vet J* 2013;196:522-527.
12. Brewer GJ, Dick RD, Schall W, et al. Use of zinc acetate to treat copper toxicosis in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1992;201:564-568.

QUALE APPROCCIO... LA FISTOLA PERIANALE NEL CANE

La fistola perianale è un problema comune e impegnativo, che viene osservato fin troppo spesso nella pratica clinica. La sua natura cronica e progressiva può renderla una vera sfida per il veterinario, ma Lindsay McKay offre alcune indicazioni per ottimizzare la terapia e controllare il rischio di recidiva.

Lindsay W. McKay,

W. McKay, DVM, Dipl. ACVD,
VCAArboretum View Animal
Hospital, Chicago, Illinois,
Stati Uniti



La Dr.ssa McKay si è laureata presso l'University of Florida nel 2003 e nel 2007 ha completato una residenza in dermatologia in una struttura privata; nello stesso anno è diventata specialista certificata in dermatologia. È coinvolta attivamente nella formazione continua e svolge anche ricerca clinica, avendo partecipato a numerosi studi clinici sulla dermatologia che indagavano nuove terapie per la dermatite atopica canina e il prurito.

PUNTI CHIAVE

1 La malattia nota come fistola perianale è una condizione in cui si formano tratti drenanti nella cute e nei tessuti più profondi dell'area perianale del cane.

2 Oltre l'80% degli animali colpiti è rappresentata dal Pastore tedesco e, sebbene l'eziologia sia multifattoriale, sembra indiscutibile una predisposizione genetica.

3 Il riconoscimento di un'eziologia immunomediata ha portato a un trattamento più efficace e una migliore comprensione della necessità di terapie di mantenimento permanenti per tenere la malattia in remissione.

4 La ciclosporina (con o senza ketoconazolo) è la terapia di maggior successo, insieme a tacrolimus per le forme lievi della malattia o come terapia di mantenimento. Per alcuni cani può essere necessaria la chirurgia, inclusa la sacculectomia della ghiandola anale.

●○○○ Introduzione

La fistola perianale, nota anche come foruncolosi anale canina, è una condizione in cui si formano tratti drenanti nella cute e nei tessuti più profondi dell'area perianale del cane. Per gli animali più colpiti è una condizione dolorosa e debilitante, con segni clinici che variano dal leccamento della zona interessata allo scolo emo-purulento maleodorante, alla difficoltà di defecare o persino alla stipsi intrattabile. Sebbene possa essere affetta da questa condizione una grande varietà di razze, il Pastore tedesco è sovrarappresentato, suggerendo una predisposizione genetica. Il riconoscimento e il trattamento precoci sono importanti, in modo che gli animali colpiti mantengano una buona qualità di vita, ed è fondamentale una comunicazione esauriente con il cliente, poiché la maggior parte dei cani richiede una

terapia di mantenimento prolungata per mantenere la malattia in remissione.

●●○○ Eziologia

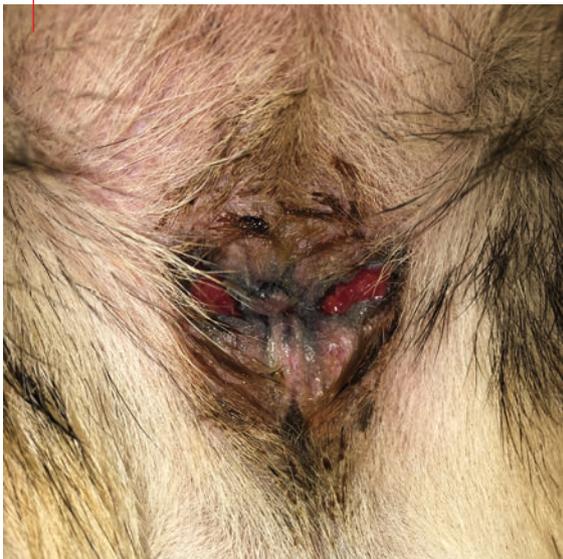
La nostra conoscenza della fistola perianale è cambiata radicalmente da quando questa malattia venne descritta la prima volta negli anni '60. Originariamente si pensava che fosse causata da fattori anatomici come (i) coda a base larga (ii) coda portata bassa e (iii) densità aumentata delle ghiandole sudoripare apocrine nella regione circostante il canale anale (1). Per decenni la malattia è stata trattata con un intervento chirurgico, che variava dall'amputazione della coda, allo sbrigliamento chirurgico con asportazione dei tratti fistolosi, fino alla rimozione del sacco anale. Sebbene in alcuni casi possa essere

necessario l'intervento chirurgico, la maggior parte dei veterinari impiega attualmente la gestione medica per trattare la fistola perianale. Questo nuovo approccio deriva dalla nostra più recente comprensione del fatto che questa malattia è dovuta, almeno in parte, a una disfunzione immunitaria. La fistola perianale canina condivide molte caratteristiche di alcune varianti del morbo di Crohn nell'uomo, inclusi i segni clinici, l'istopatologia e la risposta alla terapia con ciclosporina [2-6]. Si pensa che il morbo di Crohn sia dovuto a un attacco autoimmunitario diretto contro le cellule del tratto gastrointestinale o gli antigeni microbici associati [7]. Non è stato identificato un antigene causale specifico per la fistola perianale canina, ma è stato proposto che l'infiammazione sia dovuta a risposte immunitarie inappropriate verso la flora normale nelle feci o nella cute dell'area perineale [5]. Inoltre, come per l'uomo, è stata identificata una predisposizione genetica allo sviluppo della malattia [8,9]; oltre l'80% dei cani con diagnosi di fistola perianale è rappresentata dal Pastore tedesco [10]. La ricerca ha rivelato che il Pastore tedesco con uno specifico allele e aplotipo MHC di classe II ha una probabilità cinque volte maggiore di sviluppare fistole perianali [9]. Infine, si ritiene che nei cani esista anche una forte correlazione tra fistola perianale, colite e allergia alimentare [11]. Pertanto, la fistola perianale ha una patogenesi multifattoriale complessa che varia verosimilmente tra i cani, in particolare le razze diverse dal Pastore tedesco.

●●● Segnalamento

Sebbene la fistola perianale sia più frequente nel Pastore tedesco, con gli studi che segnalano fino all'84% dei cani affetti appartenenti a questa razza, sono state segnalate altre razze colpite tra cui Labrador retriever, Bulldog inglesi, Beagle, alcuni spaniel, Cani da pastore scozzese, Border Collie e Bobtail, così come cani di razza mista [10]. Questa malattia è più comune nei cani di mezza età, con un'età media all'esordio da quattro a sette anni, ma non è stata identificata una predisposizione di sesso definitiva [10].

Figura 1. Un caso lieve di fistola perianale, con un numero limitato di piccoli tratti fistolosi.



© Lindsay McKay

●●● Segni clinici e diagnosi

La diagnosi di fistola perianale è basata sulla correlazione tra segnalamento, anamnesi, segni clinici e riscontri all'esame obiettivo del pet. Quando un cane si presenta con fistola perianale, il proprietario riferirà molto spesso segni come defecazione dolorosa, sforzo eccessivo alla defecazione, sangue nelle feci, stipsi o stipsi intrattabile, diarrea o feci a nastro, frequenza di defecazione aumentata, scolo e/o sanguinamento perianale purulento, leccamento perianale o strofinamento del posteriore, odore sgradevole e/o perdita di peso [10]. All'esame dell'area perianale capita spesso di vedere tratti fistolosi multipli che nei casi più gravi possono coinvolgere l'intera circonferenza dell'ano, così come dermatite umida e scolo emo-purulento (**Figure 1-3**). L'esame obiettivo deve includere l'esame rettale e dato il dolore associato a questa condizione, può essere necessaria la sedazione o l'anestesia generale per ottenere una valutazione clinica accurata. È molto importante diagnosticare correttamente la fistola perianale e distinguerla da altre diagnosi differenziali, come ad esempio ascesso cronico del sacco anale con fistole secondarie, colite, tumori perianali (incluso l'adenocarcinoma dei sacchi anali), lesioni da agenti caustici e/o ferite da morso di cane non trattate [1]. Uno studio ha mostrato che il 50% dei pazienti con fistola perianale aveva anche una diagnosi istopatologica di colite [12]. Poiché sia la colite, sia le fistole perianali possono avere segni clinici molto simili, se sono presenti allo stesso tempo fistola perianale e colite, allora possono essere necessarie la colonscopia e la biopsia per delineare completamente l'estensione della malattia del paziente. Le fistole perianali possono anche estendersi a coinvolgere il sacco anale, e questo può influenzare la prognosi complessiva del cane, poiché spesso complica il trattamento delle fistole perianali, e il tasso di ricomparsa è più alto. Inoltre, l'autrice ritiene che la citologia dell'area perineale sia importante per identificare le infezioni secondarie, come ad esempio le infezioni batteriche da Staphylococcus. Se nelle cellule infiammatorie sono presenti batteri

Figura 2. Un caso moderato di fistola perianale con numerosi ampi tratti fistolosi.



© Lindsay McKay

© David Scarff



Figura 3. Un caso grave di fistola perianale con un coinvolgimento quasi totale dell'area perineale.

© David Scarff



Figura 4. Caso grave di fistola perianale con ampi tratti fistolosi che coinvolgono i tessuti perianali, l'ano e si estendono fino al retto.

intracellulari, in particolare diplococchi, questo segnala probabilmente un'infezione cutanea batterica secondaria che giustifica una terapia antibiotica.

●●●●● Trattamento

La fistola perianale è una condizione infiammatoria progressiva cronica, la cui gravità tende ad aumentare nel tempo e mostra spesso riacutizzazioni periodiche. La guarigione spontanea è estremamente rara ed è generalmente necessaria una terapia a vita per tenere la malattia in remissione (10). Viene gestita con una combinazione di terapia medica, dietetica, e (in alcuni casi) chirurgica.

Terapia chirurgica

Sebbene la fistola perianale fosse inizialmente descritta come un problema anatomico che richiedeva una correzione chirurgica, il cardine della terapia è attualmente la gestione medica. Il trattamento chirurgico veniva solitamente eseguito per rimuovere il tessuto necrotico e distruggere il rivestimento epiteliale al fine di prevenire la recidiva, ma il tasso di successo segnalato era del 48-97% in base al metodo, con tassi di recidiva prossimi al 70% (10). Erano spesso segnalate complicanze chirurgiche, con stenosi anale fino al 15% dei casi e incontinenza fecale fino al 27% dei casi (10). Tuttavia, quando sono stati combinati la gestione medica, la terapia dietetica e la chirurgia, uno studio ha rilevato la risoluzione completa o quasi completa delle fistole nell'88% dei casi; dopo un anno di follow-up, quasi l'80% dei cani non aveva segni clinici e il restante 20% aveva solo segni clinici lievi o intermittenti (13). In questo studio, 33 cani affetti sono stati inizialmente trattati con cefalessina, metronidazolo e sulfasalazina in associazione con una dieta a base di pesce bianco e patate per un massimo di 6 mesi; quindi, sono stati sottoposti all'escissione chirurgica in blocco dei tratti fistolosi e alla saccullectomia anale bilaterale. La dieta con proteine originali è stata proseguita dopo la

chirurgia. Non è stata segnalata incontinenza fecale in alcun cane, e questa combinazione di terapia medica e chirurgica è stata associata a numeri complessivi inferiori di complicanze rispetto alle precedenti segnalazioni relative alla gestione chirurgica dei casi. La gestione medica con terapie immunosoppressive o immunomodulatorie resta comunque il trattamento di prima scelta dell'autrice per la fistola perianale, considerate le attuali conoscenze della sua eziologia, nonché l'alto tasso di recidiva e le complicanze potenzialmente gravi osservate in alcuni casi gestiti con la chirurgia. Tuttavia, per i casi di fistole perianali con sacculite della ghiandola anale concomitante, o quando esiste una comunicazione tra un tratto fistoloso e il sacco anale (**Figure 4 e 5**), se la sola terapia medica non è efficace può essere necessaria la chirurgia per rimuovere il sacco anale interessato. L'autrice vede raramente questo scenario, ma è una causa importante di fistola perianale ricorrente e richiede generalmente la saccullectomia anale.

Terapia medica

La sospetta eziologia immunologica della fistola perianale e la somiglianza con la sua controparte umana, il morbo di Crohn, ha portato all'uso delle terapie immunosoppressive o immunomodulatorie come mezzo principale di trattamento. Dato che la fistola perianale è una condizione cronica permanente, la prima fase del trattamento può essere considerata la fase di induzione, dove il veterinario cerca di trattare finché la malattia non è in remissione completa o quasi completa con il controllo dei segni clinici. Esiste poi una seconda fase in cui si utilizzano medicinali di mantenimento per tenere la malattia sotto controllo a lungo termine. I medicinali più comuni utilizzati durante la fase di induzione comprendono la ciclosporina (con o senza ketoconazolo), i glucocorticoidi, l'azatioprina e il tacrolimus topico. Il prednisone, a dosi immunosoppressive (a partire da 2 mg/kg ogni 24 ore), non è la prima scelta dell'autrice come monoterapia, data l'efficacia limitata segnalata in letteratura; il prednisone ha risolto completamente



Figura 5. Gestione post-medica; sopra il sacco anale sinistro resta localizzato un tratto drenante. Questo è lo stesso cane della **Figura 2**, che ha finito per richiedere la sacculectomia della ghiandola anale.

il 33% delle fistole, con la risoluzione parziale in appena un altro 33% dei pazienti (10). Nel trattamento della fistola perianale è stata utilizzata con moderato successo anche un'altra terapia immunosoppressiva, l'azatioprina. Considerato il periodo di latenza di parecchie settimane per raggiungere i livelli ematici ottimali di azatioprina, durante la fase di induzione si raccomanda l'uso concomitante di prednisone. La dose di induzione di azatioprina è di 2 mg/kg ogni 24 ore finché non si ottiene la remissione della fistola, quindi si scende a 2 mg/kg ogni 48 ore, per poi raggiungere le dosi di mantenimento di 1 mg/kg ogni 48 ore quando possibile. Nel 64% di 14 cani trattati con azatioprina e prednisone è stata segnalata la remissione completa o parziale (14). Per monitorare la mielosoppressione e la tossicità epatica associate all'uso dell'azatioprina è necessario un monitoraggio di laboratorio, incluse conte ematiche complete ed esami biochimici su siero. Uno studio recente su un singolo cane ha esaminato



“Sebbene la fistola perianale fosse inizialmente descritta come un problema anatomico che richiedeva una correzione chirurgica, il cardine della terapia è attualmente la gestione medica.”

Lindsay W. McKay

l'uso del micofenolato mofetile per il trattamento della fistola perianale. Il micofenolato mofetile è un agente immunosoppressore che inibisce la proliferazione linfocitaria usato per trattare un'ampia varietà di malattie immunomediate, ma non è stato utile nella risoluzione della fistola perianale dopo 4 settimane di trattamento nell'unico caso segnalato (15).

La terapia medica di maggior successo per la fistola perianale, nonché il trattamento di elezione dell'autrice, è la ciclosporina. È un inibitore della calcineurina che inibisce la trascrizione di IL-2 prevenendo l'attivazione e la proliferazione dei linfociti T. Si ritiene che questa azione immunomodulatoria tratti la sospetta disfunzione immunitaria nella fistola perianale (16). Analizzando diversi studi che segnalano la risoluzione dei segni clinici e la remissione clinica completa della fistola perianale dopo trattamento con la ciclosporina, si vede che tutti i segni clinici sono stati risolti nel 69-100% dei cani, con una remissione completa nel 69-93% dei cani (17-20). Tuttavia, in alcuni di questi studi, gli autori hanno segnalato tassi di recidiva di circa il 50% dopo l'interruzione della terapia con ciclosporina (17,20). L'eziologia immunomediata sottostante e l'alto tasso di recidiva confermano la necessità della terapia di mantenimento continua per la gestione della fistola perianale. Quando si utilizza la ciclosporina come monoterapia, le dosi iniziali sono di 4-8 mg/kg ogni 24 ore fino alla remissione delle lesioni (11,21). Un miglioramento clinico marcato può essere osservato in appena due settimane dall'inizio della terapia (17). Quando tutte le lesioni sono in remissione, la ciclosporina può essere ridotta gradualmente al dosaggio di mantenimento. L'autrice preferisce mantenere la stessa dose giornaliera totale e ridurre il numero di giorni alla settimana in cui viene somministrato il medicinale. L'obiettivo finale è interrompere la ciclosporina nel giro di tre-sei mesi, con l'uso concomitante di tacrolimus come terapia di mantenimento (**Riquadro 1**). Sebbene alcuni pazienti abbiano ancora bisogno della ciclosporina, la maggior parte finisce per tollerare una riduzione del regime di dosaggio. Non è stata osservata alcuna correlazione tra concentrazioni minime di ciclosporina ed efficacia del trattamento della fistola perianale, pertanto non è attualmente raccomandato il monitoraggio di routine dei livelli di ciclosporina (16). Gli effetti indesiderati più frequenti della ciclosporina sono disturbi gastrointestinali (GI) (anoressia, vomito, feci molli o diarrea), mentre gli effetti indesiderati cronici includono iperplasia gengivale e irsutismo. Raramente, sono state segnalate papillomatosi, infezioni batteriche o fungine atipiche, e dermatite simil-psoriasiforme.

Dato che la ciclosporina è un medicinale costoso e la maggior parte dei cani affetti è di taglia grande e richiede dosi più elevate, è possibile aggiungere il ketoconazolo per ridurre la dose necessaria di ciclosporina. Il ketoconazolo inibisce in modo competitivo l'enzima del citocromo P450 3A, prolungando l'emivita serica della ciclosporina e aumentando i livelli ematici del farmaco (22). I protocolli di dosaggio raccomandati per la terapia combinata con ciclosporina e ketoconazolo includono dosi comprese tra 0,5 mg/kg ogni 12 ore e 5 mg/kg ogni 24 ore per la ciclosporina, e dosi di 5-7,5 mg/kg ogni 12-24 ore per il ketoconazolo (11,22). La terapia di induzione preferita dall'autrice è la ciclosporina a partire da 2,5 mg/kg ogni 24 ore, combinata con ketoconazolo a 7,5 mg/kg ogni 24 ore. Si stima che

questi protocolli di combinazione riducano il costo della terapia fino al 70%, senza variare l'efficacia rispetto alla sola ciclosporina [21]. Il ketoconazolo può anche causare disturbi GI e (più raramente) epatotossicità, trombocitopenia o reazioni cutanee inclusi prurito e alopecia.

Tacrolimus è un inibitore topico della calcineurina con azioni immunomodulatorie simili alla ciclosporina. Può essere usato come unico trattamento nei casi lievi di fistola perianale (**Figura 1**). Uno studio su tacrolimus come monoterapia ha segnalato la remissione clinica nel 50% dei cani trattati, con un miglioramento significativo dei segni clinici nel 90% dei cani trattati. Tuttavia, come avviene spesso nella fistola perianale, in circa il 50% dei casi è stata osservata la recidiva dopo l'interruzione della terapia [23]. Un altro studio ha esaminato l'uso di tacrolimus in associazione con prednisone, una dieta con proteine originali, e un breve ciclo di metronidazolo. Gli autori hanno segnalato la risoluzione completa nell'87% dei cani, senza alcuna ricaduta per un periodo di 2 anni [24]. Le terapie di mantenimento utilizzate in questo studio includevano il tacrolimus applicato ogni uno-sette giorni, con il 73% che proseguiva anche una dieta con

Riquadro 1. Il trattamento preferito dall'autrice con ciclosporina/ketoconazolo/tacrolimus: dalla terapia di induzione alla terapia di mantenimento.

- **Visita iniziale:** avvio della terapia di induzione. Ciclosporina (2,5 mg/kg ogni 24 ore) combinata con ketoconazolo (7,5 mg/kg ogni 24 ore). In presenza di un'infezione secondaria, aggiungere antibiotici orali, ad esempio cefalessina (22-30 mg/kg ogni 12 ore). Programmare la visita di controllo entro 30 giorni.
- **Visita di controllo 1:** aggiungere tacrolimus applicato ogni 12 ore alle aree interessate. Finché la fistola perianale è in remissione, iniziare la riduzione graduale di ciclosporina e ketoconazolo. La dose è stata mantenuta, ma la frequenza è stata ridotta a 5 giorni alla settimana (cioè, saltando il mercoledì e la domenica). Se la fistola perianale non è in remissione, mantenere l'attuale regime di dosaggio con aggiunta di tacrolimus. Programmare la visita di controllo entro 30 giorni.
- **Visita di controllo 2:** se la fistola perianale rimane in remissione, continuare la riduzione graduale dei medicinali orali riducendo la frequenza di dosaggio a una ogni 48 ore e mantenere l'applicazione di tacrolimus ogni 12 ore. Se la fistola perianale è ora completamente sotto controllo, avviare la riduzione graduale come indicato sopra. Se la fistola perianale non è ancora in remissione, considerare un aumento del 25% nella dose dei medicinali orali. Programmare la visita di controllo entro 30 giorni.
- **Visita di controllo 3:** se la fistola perianale rimane in remissione, continuare la riduzione graduale dei medicinali orali da una ogni 48 ore a due volte alla settimana e mantenere le applicazioni di tacrolimus ogni 12 ore. Programmare la visita di controllo entro 30 giorni.
- **Visita di controllo 4:** se la fistola perianale rimane in remissione, interrompere i medicinali orali e mantenere le applicazioni di tacrolimus ogni 12 ore. Programmare la visita di controllo entro 30 giorni.
- **Visita di controllo 5:** se la fistola perianale rimane in remissione, ridurre l'applicazione di tacrolimus a una ogni 24 ore. Programmare un aggiornamento entro 30 giorni. Se il pet sta ancora bene, l'applicazione di tacrolimus può essere ulteriormente ridotta fino a stabilire la minima frequenza di applicazione che mantiene le fistole in remissione: questa va spesso da un'applicazione ogni 24 ore a una alla settimana.



Figura 6. Caso moderato-grave di fistola perianale con pododermite mucocutanea concomitante.

proteine originali e il 33% che assumeva prednisone a intermittenza ogni 48 ore [24]. L'autrice ritiene che tacrolimus possa essere usato per il trattamento della fistola perianale lieve (inizialmente come trattamento due volte al giorno), ma che sia idoneo anche come terapia di mantenimento a lungo termine, applicato ogni 24-72 ore, per prevenire la riacutizzazione dei segni clinici e la recidiva della fistola. Come terapia di mantenimento, il trattamento può essere iniziato non appena le terapie immunomodulatorie orali come la ciclosporina e il ketoconazolo hanno iniziato a controllare i segni clinici e l'area perineale può essere trattata topicamente dal proprietario.

All'orizzonte si intravedono nuove terapie per il trattamento della fistola perianale. Diversi recenti studi clinici sull'uomo hanno utilizzato con risultati positivi cellule staminali mesenchimali per la gestione del morbo di Crohn fistolizzante. In un piccolo studio pilota, sei cani con fistola perianale refrattaria sono stati trattati con un'iniezione di cellule staminali mesenchimali derivate da cellule staminali embrionali umane, e tutti erano liberi da lesioni tre mesi dopo l'iniezione; tuttavia, due cani hanno avuto una ricaduta sei mesi dopo il trattamento [25]. Questa terapia è attualmente ancora nella fase sperimentale e non è clinicamente disponibile.

Terapia dietetica

Dato il sospetto legame in alcuni cani tra fistola perianale, colite e allergia alimentare, nella gestione degli animali colpiti può essere utile una dieta di eliminazione utilizzando una dieta con proteine originali o una dieta con proteine idrolizzate [11]. Uno studio retrospettivo sulle reazioni avverse agli alimenti associate a segni dermatologici ha scoperto che, mentre il 100% dei cani colpiti mostrava prurito, 3 cani su 16 avevano anche una fistola perianale. Tutti e tre i cani con fistola perianale erano di razza Pastore tedesco, quindi sebbene questi dati non possano essere estrapolati ad altre razze, potrebbe esserci un'associazione tra fistola perianale e allergia alimentare in questa razza. A ulteriore conferma di un

ruolo della reazione avversa agli alimenti nella patogenesi della fistola perianale, come discusso sopra, una dieta con proteine originali ha ridotto il tasso di recidiva dopo l'escissione chirurgica del tessuto malato e la saccullectomia anale bilaterale (13). La minore incidenza di recidiva è stata attribuita alla dieta con proteine originali. Dato che i medicinali come la ciclosporina possono causare disturbi GI, l'autrice raccomanda generalmente di passare a una dieta con proteine originali durante la fase di mantenimento della terapia medica, quando il pet prende dosi inferiori dei medicinali orali. In particolare, l'autrice incoraggia il proprietario ad effettuare una prova con dieta di eliminazione se il cane presenta anche altri segni di allergie alimentari come il prurito, se sviluppa una recidiva delle lesioni man mano che si riduce gradualmente la dose dei medicinali orali, o in caso di riaccutizzazione alle dosi inferiori dei medicinali di mantenimento. Quando l'autrice effettua prove con dieta di eliminazione, raccomanda di utilizzare le diete con proteine originali o le diete idrolizzate per almeno 8 settimane.

Terapia antibatterica

Le infezioni cutanee batteriche secondarie possono essere una conseguenza comune della fistola perianale (Figura 6). La terapia topica per mantenere pulita l'area perineale è utile per trattare e/o prevenire l'infezione cutanea batterica. Questa può includere la rasatura dei peli in eccesso e l'uso di antisettici topici per detergere l'area, insieme all'applicazione di una terapia antibiotica topica. A seconda dell'entità dell'infezione, possono essere necessari anche antibiotici orali. Come terapia antibiotica empirica, l'autrice preferisce la cefalessina (22-30 mg/kg ogni 12 ore) o la cefpodoxima (5-10 mg/kg ogni 24 ore), ma sono scelte valide anche il metronidazolo (10-15 mg/kg ogni 12 ore) o l'amoxicillina-clavulanato (14,5-22 mg/kg ogni 12 ore). Se l'infezione è refrattaria agli antibiotici empirici, si

raccomanda di eseguire la coltura e l'antibiogramma. Inoltre, l'autrice ritiene che possa anche essere utile una terapia antibiotica topica aggiuntiva con mupirocina o argento sulfadiazina, purché il paziente sia in grado tollerare l'applicazione.



RIFERIMENTI

- DeNovo RC, Bright RM. Recto-anal Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds.) *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 5th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2000;1264-1266.
- Day MJ, Weaver BM. Pathology of surgically resected tissue from 305 cases of anal furunculosis in the dog. *J Small Anim Pract* 1992;33: 583-589.
- House A, Gregory SO, Catchpole B. Expression of cytokine mRNA in canine anal furunculosis lesions. *Vet Rec* 2003;153:354-358.
- Mullin GE, Lazenby AJ, Harris ML, et al. Increased interleukin-2 messenger RNA in the intestinal mucosal lesions of Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Gastroenterology* 1992;102:1620-1627.
- Tivers MS, Catchpole B, Gregory S, et al. Interleukin-2 and interferon-gamma mRNA expression in canine anal furunculosis lesions and the effects of cyclosporine therapy. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;125:31-35.
- Matthews KA, Sukhiani HR. Randomized controlled trial of cyclosporine for treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 1997;211:1249-1253.
- Boyapati R, Satsangi J, Ho GT. Pathogenesis of Crohn's disease. *F1000Prime Rep* 2015;7:44.
- Massey J, Short AD, Catchpole B, et al. Genetics of canine anal furunculosis. *Immunogenetics* 2014;66:311-324.
- Kennedy LJ, O'Neill T, House A, et al. Risk of anal furunculosis in German Shepherd dogs is associated with the major histocompatibility complex. *Tissue Antigens* 2007;71:51-56.
- Patterson AP and Campbell KL. Managing anal furunculosis in dogs. *Comp Cont Educ Practicing Vet* 2005;27:339-355.
- Proverbio D, Perego R, Spada E, et al. Prevalence of adverse food reactions in 130 dogs in Italy with dermatological signs: a retrospective study. *J Small Anim Pract* 2010;51:370-374.
- Jamieson PM, Simpson JW, Kirby BM, et al. Association between anal furunculosis and colitis in the dog: preliminary observations. *J Small Anim Pract* 2002;43:109-114.
- Lombardi RL and Marino DJ. Long-term evaluation of canine perianal fistula disease treated with exclusive fish and potato diet and surgical excision. *J Am Anim Hosp Assoc* 2008;44:302-307.
- Harkin KR, Phillips D, Wilkerson M. Evaluation of azathioprine on lesion severity and lymphocyte blastogenesis in dogs with perianal fistulas. *J Am Anim Hosp Assoc* 2007;43:21-26.
- Ackermann AL, May ER, Frank LA. Use of mycophenolate mofetil to treat immune-mediated skin diseases in 14 dogs. *Vet Dermatol* 2017;28:195-199.
- Guagère E, Steffan J, Olivry T. Cyclosporine A: a new drug in the field of canine dermatology. *Vet Dermatol* 2004;15:61-74.
- Klein A, Deneuche A, Fayolle P, et al. Preoperative immunosuppressive therapy and surgery as a treatment for anal furunculosis. *Vet Surg* 2006;35:759-768.
- Mouatt JG. Cyclosporine and ketoconazole interaction for treatment of perianal fistulas in dogs. *Aust Vet J* 2002;80:207-211.
- Patricelli AJ, Hardie RJ, McAnulty JF. Cyclosporine and ketoconazole for the treatment of perianal fistulas in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2002;220:1009-1016.
- Doust R, Griffith LK, Sullivan M. Evaluation of once-daily treatment with cyclosporine for anal furunculosis in dogs. *Vet Rec* 2003;152:225-229.
- Hardie RJ, Gregory SP, Tomlin J, et al. Cyclosporine treatment of anal furunculosis in 26 dogs. *J Small Anim Pract* 2005;46:3-9.
- O'Neill T, Edwards GA, Holloway S. Efficacy of combined cyclosporine A and ketoconazole treatment of anal furunculosis. *J Small Anim Pract* 2004;45:238-243.
- Misseghers BS, Binnington AG, Mathews KA. Clinical observations of the treatment of canine perianal fistulas with topical tacrolimus in 10 dogs. *Can Vet J* 2000;41:623-627.
- Stanley B and Hauptman J. Long-term prospective evaluation of topically applied 0.1% tacrolimus ointment for treatment of perianal sinuses in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 2009;235:397-404.
- Ferrer L, Kimbrel EA, Lam A, et al. Treatment of perianal fistulas with human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells: a canine model of human fistulizing Crohn's disease. *Regen Med* 2016;11:33-43.



CONCLUSIONE

La fistola perianale è una malattia cronica, potenzialmente debilitante, che era storicamente difficile da gestire e mostrava un tasso di recidiva elevato, dando spesso origine a una prognosi riservata. Tuttavia, la nostra più recente comprensione della sua eziologia immunomediata ha portato a terapie più efficaci e ha fatto capire che erano necessari regimi di mantenimento cronici per tenere la malattia in remissione. Il trattamento di elezione dell'autrice è la ciclosporina, solitamente assieme a ketoconazolo, aggiungendo successivamente tacrolimus come terapia di mantenimento a lungo termine, per contribuire a prevenire la recidiva della malattia. In presenza di un coinvolgimento persistente del sacco anale, dopo le terapie immunosoppressive o immunomodulatorie iniziali potrebbe essere necessaria la saccullectomia della ghiandola anale, ma occorre anche considerare il ruolo delle allergie alimentari e la necessità di prove con dieta di eliminazione come parte della gestione.

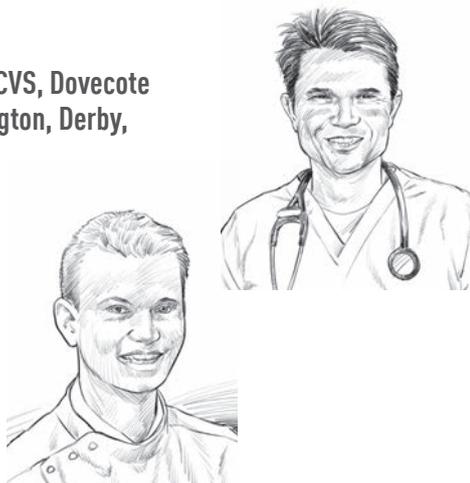
LA SINDROME DI TOM E JERRY

L'attuale approccio alle crisi epilettiche feline si basa in gran parte sulla nostra conoscenza dell'epilessia canina, ma le recenti evidenze suggeriscono che potrebbe essere un metodo semplicistico e probabilmente fuorviante, come evidenziato in questo lavoro di Mark Lowrie e Laurent Garosi su uno specifico disturbo felino.

Mark Lowrie,

MA, VetMB, MVM, Dipl. ECVN, MRCVS, Dovecote Veterinary Hospital, Castle Donington, Derby, Regno Unito

Il Dr. Lowrie si è laureato presso l'University of Cambridge ed è RCVS e specialista europeo in Neurologia veterinaria. Ha un master sulla meningite-arterite rispondente agli steroidi nei cani e un particolare interesse per le contrazioni muscolari involontarie, l'epilessia riflessa, la malattia infiammatoria del sistema nervoso centrale e la neurologia felina. Attualmente è direttore clinico presso una struttura specializzata privata.



Laurent Garosi,

DVM, Dipl. ECVN, MRCVS, Davies Veterinary Specialists, Higham Gobion, Hitchin, Regno Unito

Il Dr. Garosi si è laureato alla Toulouse Veterinary School nel 1996 ed è accreditato presso RCVS ed esperto europeo in Neurologia veterinaria. Attualmente dirige il servizio di Neurologia e neurochirurgia presso una clinica specializzata privata, dove nel 2012 ha istituito un servizio dedicato di neurologia felina, il primo del suo genere in Europa. I suoi interessi di ricerca clinica principali sono le malattie cerebrovascolari, le procedure neurochirurgiche complesse, il neuroimaging e la neurologia felina.

PUNTI CHIAVE



Introduzione

Le informazioni riguardanti i disturbi felini sono state spesso ottenute estrapolando le conoscenze acquisite da cani con malattie simili. Non si può trovare un esempio migliore per i disordini epilettici felini, dove il trattamento e la gestione hanno rispecchiato quanto era considerato appropriato nei cani con epilessia. Tuttavia, l'ultimo decennio ha dato maggiore attenzione a specifici disturbi epilettici felini, e le epilessie riflesse audiogeniche feline (FARS), chiamate anche talvolta colloquialmente "sindrome di Tom e Jerry" dopo l'uscita della serie di cartoni animati per

bambini, è uno di quei disturbi il cui riconoscimento potrà cambiare in futuro la nostra gestione di alcuni aspetti dell'epilessia degli animali da compagnia. Questo articolo descrive le FARS e la loro posizione nell'ambito dell'epilessia felina.

Classificazione della crisi epilettica

Per epilessia s'intende la presenza di crisi epilettiche ricorrenti croniche; quindi, non è una singola malattia

ma un gruppo di disturbi eterogenei (1). Storicamente, le crisi epilettiche sono state suddivise secondo l'eziologia o il tipo clinico (semiologia).

Secondo l'eziologia

Le tre classificazioni eziologiche per le crisi epilettiche sono l'epilessia idiopatica (o primaria), l'epilessia sintomatica (o secondaria) e le crisi epilettiche reattive (2). Epilessia sintomatica è un termine usato per descrivere crisi epilettiche causate da una lesione strutturale intracranica identificabile (ad es., un tumore cerebrale [Figura 1], una malattia cerebrale infiammatoria o infettiva e malformazioni intracraniche congenite come l'idrocefalo). Le crisi epilettiche reattive sono la reazione del cervello normale a un evento metabolico o tossico sistemico. Quando si risolve l'evento metabolico o tossico, il gatto non ha crisi epilettiche ricorrenti e pertanto le crisi epilettiche reattive non sono considerate una forma di epilessia. L'epilessia idiopatica (o primaria) è un termine riservato ai pazienti con crisi epilettiche ricorrenti croniche, senza un'anomalia sottostante identificabile. I primi studi hanno segnalato che una causa identificabile per l'epilessia veniva diagnosticata al massimo nell'87% dei gatti con crisi epilettiche ricorrenti, sebbene i criteri di inclusione in questi studi avessero escluso i gatti con crisi epilettiche parziali correlate all'epilessia primaria (3). Questa cifra è attualmente in discussione, dato che studi successivi più ampi hanno dimostrato che la proporzione di gatti epilettici con crisi epilettiche strutturali o reattive è molto inferiore, intorno al 10% (4).

Secondo la semiologia

La classificazione semiologica si basa sul concetto ampiamente accettato secondo cui le crisi epilettiche possono essere generalizzate o focali (5).

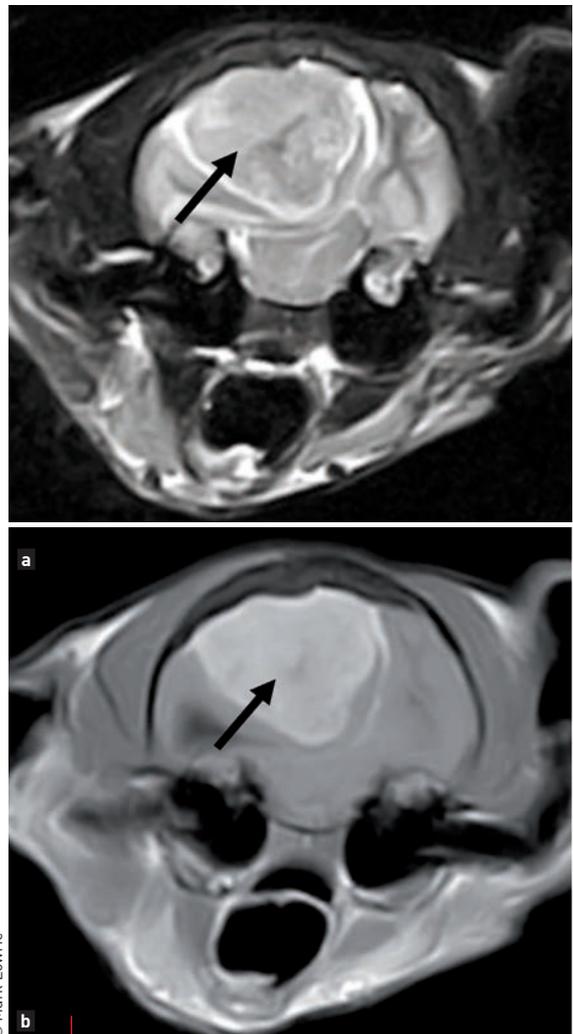
i) Si ritiene che una crisi epilettica generalizzata nasca dall'interno di entrambi gli emisferi del prosencefalo (sebbene non coinvolgendo necessariamente l'intera corteccia).



“Le epilessie riflesse audiogeniche feline (FARS) sono oggi un disturbo riconosciuto che potrebbe cambiare in futuro la nostra gestione di alcuni aspetti dell'epilessia degli animali da compagnia.”

Mark Lowrie

- Le crisi epilettiche tonico-cloniche generalizzate (Generalized Tonic-Clonic Seizures, GTCS) sono la forma più comune di crisi epilettica generalizzata e il loro riconoscimento clinico è relativamente semplice. Il gatto cade improvvisamente a terra e perde conoscenza, mentre mostra movimenti masticatori delle mascelle, schiuma alla bocca, pedalamento delle zampe e, talvolta, espulsione di urina o feci. In genere, le crisi epilettiche durano non più di pochi minuti.
- Le crisi epilettiche miocloniche generalizzate sono crisi epilettiche generalizzate per definizione, poiché coinvolgono entrambi gli emisferi cerebrali e comportano una perdita di conoscenza. Tuttavia, sono



© Mark Lowrie

Figura 1. I tumori cerebrali possono causare spesso crisi epilettiche nel gatto. Qui si vedono le immagini trasversali post-contrasto prese in T2 (a) e in T1 (b) del cervello, acquisite a livello delle bolle timpaniche in un gatto di 12 anni, che dimostrano un'ampia massa extradurale (indicata dalla freccia) nel prosencefalo. La massa tumorale è isointensa rispetto alla sostanza grigia su T2, ma iperintensa su T1, con intensificazione del contrasto omogenea. Le caratteristiche dell'imaging sono compatibili con un meningioma.

spesso di natura così breve da rendere impossibile una misurazione oggettiva dello stato di coscienza e l'osservazione di un episodio può non mostrare alcuna perdita di consapevolezza evidente. Le crisi epilettiche miocloniche sono contrazioni involontarie simili a scosse, improvvise, brevi, che ricordano l'effetto osservato in risposta a una scossa elettrica (6).

- Le crisi epilettiche di assenza generalizzate descrivono episodi dove un gatto perde la consapevolezza di ciò che lo circonda per un periodo di tempo transitorio, restando con lo sguardo fisso senza rispondere agli stimoli, come ad esempio quando il proprietario lo chiama per nome (7). Queste sono anche note come crisi epilettiche di "piccolo male".
- ii) Si ritiene che una crisi epilettica focale nasca all'interno di un'area specifica del prosencefalo e sia confinata a un emisfero. Le crisi epilettiche focali possono diffondersi all'interno dello stesso emisfero, o in aree dell'altro emisfero, ed evolvere in una crisi epilettica tonico-clonica generalizzata. Un'ulteriore classificazione descrive una forma di crisi epilettica parziale "semplice" e una "complessa", in cui è richiesta una valutazione soggettiva dello stato di coscienza:
- Le crisi epilettiche parziali semplici descrivono uno stato di coscienza non alterato, con segni motori localizzati asimmetrici, ad es. contrazioni facciali.
 - Le crisi epilettiche parziali complesse si distinguono per il fatto di comportare un certo grado di stato mentale alterato. Nei gatti si riconoscono due tipi. Le prime sono chiamate crisi epilettiche orofacciali, con le caratteristiche distintive di una malattia dell'ippocampo visibili alla RM e l'evidenza sierologica di anticorpi diretti contro il complesso del canale del potassio voltaggio-dipendente (8). Questa forma appare simile per molti aspetti all'encefalite limbica umana. Il secondo tipo riguarda le crisi epilettiche psicomotorie, che sono crisi epilettiche "comportamentali" coinvolgenti il sistema limbico e possono manifestarsi sotto forma di rabbia, aggressività senza provocazione, caccia a mosche inesistenti, movimenti di maneggio, leccamento del pavimento, vocalizzazione, inseguimento della propria coda, sguardo fisso, e così via (9). La sindrome dell'iperestesia felina è stata considerata talvolta inclusa in questa categoria. Le crisi epilettiche psicomotorie sono un argomento controverso, nel senso che potrebbero rappresentare una forma di disturbo ossessivo-compulsivo, ma non esiste una robusta evidenza per corroborare o confutare questa opinione.

●●● Epilessia riflessa

L'epilessia riflessa è una condizione in cui le crisi epilettiche possono essere provocate da stimoli come luci, suoni o contatti fisici (10). I soggetti con epilessia riflessa pura hanno crisi epilettiche quasi esclusivamente in risposta a stimoli specifici, sebbene possano anche verificarsi crisi epilettiche spontanee (11). Epilessie audiogeniche e fotosensibili sono state documentate sia nei cani che nei gatti (7,12-14). Sono ancora relativamente rare, ma quando le si osserva è



“Il tipo più comune di crisi epilettica identificato con le FARS è una crisi epilettica mioclonica generalizzata; i sintomi sono frequenti, con molti gatti che hanno dieci o più crisi al giorno.”

Laurent Garosi

importante riconoscerle come tali perché le epilessie riflesse richiedono spesso un medicinale antiepilettico diverso e la gestione delle crisi epilettiche spontanee. Le FARS sono sempre più riconosciute e potrebbero essere più comuni di quanto si pensasse in passato (7).



Caratteristiche delle FARS

Le FARS rappresentano una condizione dei gatti anziani associata a crisi epilettiche miocloniche, con occasionali crisi epilettiche tonico-cloniche generalizzate. Esistono criteri chiave che formano il fenotipo delle FARS e quindi una combinazione di queste caratteristiche consente di formulare una diagnosi.

Tipo di crisi epilettica

Il tipo più comune di crisi epilettica identificato con le FARS è una crisi epilettica mioclonica generalizzata. La segnalazione tipica indica che i sintomi sono frequenti, con molti gatti che hanno dieci o più crisi al giorno. Sebbene la maggior parte degli episodi sia indotta dal rumore, non è un criterio rigoroso per la diagnosi. Meno spesso si possono osservare crisi epilettiche tonico-cloniche generalizzate (GTCS). Queste possono essere il risultato di una serie di crisi epilettiche miocloniche indotte dal rumore che culmina in una GTCS; in alternativa, può trattarsi di una GTCS distinta, spontanea, che si verifica in assenza di un fattore scatenante evidente. Una crisi epilettica meno comune osservata con le FARS è una crisi epilettica di assenza generalizzata, con una prevalenza del 6% nella popolazione con FARS documentata (7).

Segnalamento

Le FARS tendono a manifestarsi in gatti molto anziani nella seconda decade di vita, con un esordio in media di 15 anni (7). Questo esordio geriatrico è quindi importante, poiché riflette la probabile natura degenerativa di questa condizione. Sebbene qualsiasi razza felina possa ricevere una diagnosi di FARS, i gatti Birmani sembrano avere una predisposizione

© Mark Lowrie

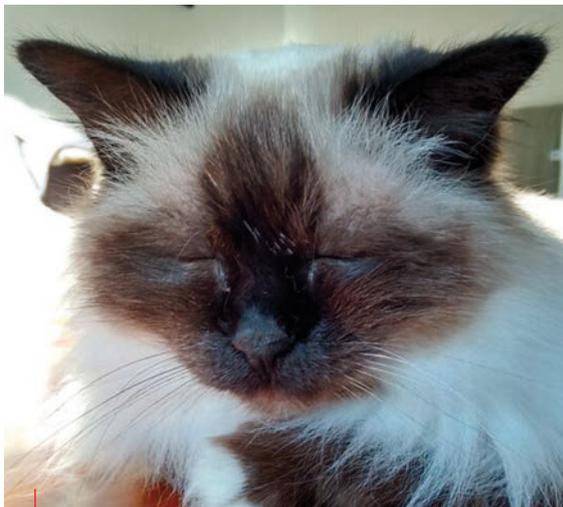


Figura 2. Le FARS colpiscono sia gatti con pedigree, sia senza pedigree, ma tra i primi il Birmano è sovrarappresentato. Le FARS sono soprattutto un problema dei gatti anziani, con esordio della crisi epilettica segnalato all'età media di 15 anni, con un intervallo compreso tra 10 e 19 anni.

© Mark Lowrie



Figura 3. Un gatto domestico a pelo corto che soffre di crisi epilettiche miocloniche frequenti (quotidiane) e occasionali crisi epilettiche tonico-cloniche generalizzate causate dalle FARS. Tutte le crisi epilettiche sono indotte dal rumore; evitare di produrre suoni contribuisce a ridurre gli episodi ma non li elimina completamente data la sensibilità generale di questo gatto per i rumori.

per questa condizione, poiché un gatto su tre di questa razza è affetto da FARS (**Figura 2**). Inoltre, tutti i Birmani in cui è stata segnalata finora questa condizione, appartenevano alla varietà blu-point o seal-point. Non si osserva alcuna predisposizione di sesso.

Segni clinici

Con le FARS sono stati segnalati anche segni clinici diversi dalle crisi epilettiche, sebbene tali segni tendano a presentarsi due anni o più dopo le prime crisi epilettiche osservate.

I segni includono paresi, atassia, depressione, perdita di peso, riluttanza a compiere salti, perdita del comportamento appreso e pressione della testa contro oggetti. Un'altra caratteristica degna di nota della FARS è che in un massimo del 50% dei gatti con questa condizione viene segnalata la sordità [7]. Questo paradosso non ha attualmente alcuna spiegazione.

Fattori scatenanti uditivi

I rumori che provocano la FARS tendono a essere suoni acuti, di volume relativamente basso, come ad es. il ticchettio della tastiera del computer o i clic del mouse; piegare o appallottolare sacchetti di carta o plastica; il suono delle posate su un piatto di ceramica quando si mangia o si prepara il cibo; appallottolare fogli di alluminio; il tintinnio delle chiavi. Sono stati segnalati anche alcuni fattori scatenanti più insoliti, come camminare su un pavimento di legno a piedi nudi o con scarpe che scricchiolano e il breve grido acuto di un bambino piccolo. Se il volume del suono aumenta, si è visto che aumenta la gravità delle crisi epilettiche. Se il suono è persistente, può causare crisi epilettiche miocloniche ripetute, che a volte si concludono con le GTCS (**Figura 3**). Questo fenomeno è noto come kindling ("accensione") audiogenico, in cui numerosi piccoli stimoli sonori finiscono per produrre una risposta più ampia, in questo caso una

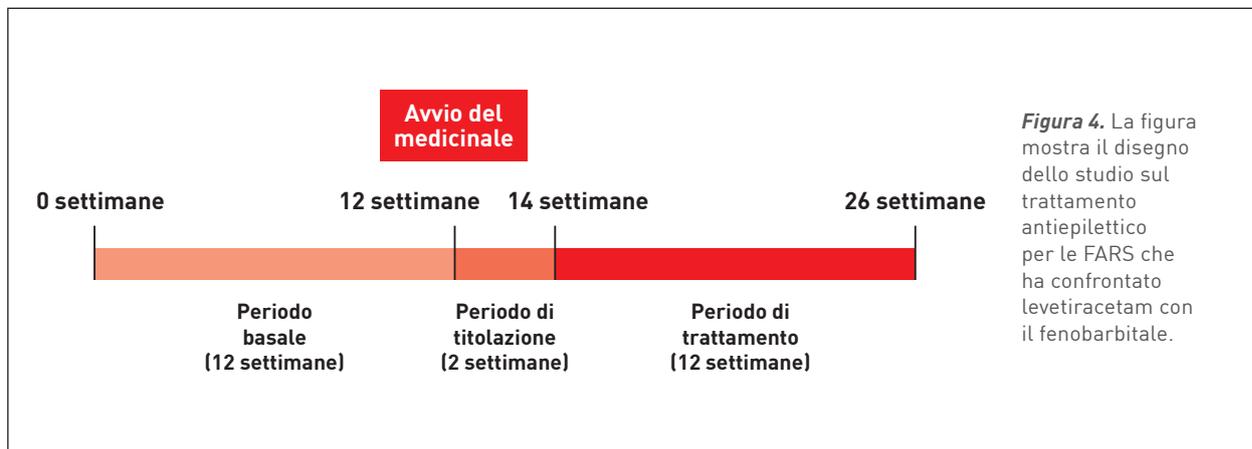


Figura 4. La figura mostra il disegno dello studio sul trattamento antiepilettico per le FARS che ha confrontato levetiracetam con il fenobarbitale.

© Mark Lowrie

Tabella 1. Efficacia di levetiracetam e fenobarbitale nella gestione delle crisi epilettiche miocloniche riflesse audiogeniche feline (15).

	Gruppo con levetiracetam	Gruppo con fenobarbitale	Valore P
Numero di gatti che hanno ottenuto una riduzione \geq 50% nel numero di giorni con crisi epilettica mioclonica alla settimana	28 (100%)	1 (3%)	<0,001
Riduzione% media nel numero di giorni con crisi epilettica mioclonica alla settimana	98,8 \pm 4,7	2,8 \pm 23,3	<0,001
Numero di gatti che sono diventati liberi da crisi epilettica mioclonica	14 (50%)	0 (0)	<0,001
Aumento% medio nei giorni liberi da crisi epilettica mioclonica	95,7 \pm 8,8	-57 (\pm 54,5)	<0,001

GTCS. Le crisi epilettiche ripetitive indotte dal suono (cioè il kindling audiogenico) inducono gradualmente il trasferimento dell'attività epilettica dal tronco cerebrale (crisi epilettiche miocloniche) alle strutture del prosencefalo (crisi epilettiche tonico-cloniche generalizzate), e questo può accompagnare le alterazioni comportamentali in questi gatti (7). Per descrivere le crisi epilettiche che iniziano nel tronco cerebrale e si propagano lungo le strutture limbiche esitando nelle crisi epilettiche del prosencefalo più classiche, familiari alla maggior parte dei veterinari, si utilizza quindi il termine "crisi epilettica del tronco cerebrale" (7).



Trattamento

Dai pochi studi disponibili nei pazienti veterinari, il successo del trattamento del mioclono appare limitato, una constatazione che rispecchia la condizione nell'uomo. Uno studio recente ha dimostrato che levetiracetam riduce la frequenza della crisi epilettica mioclonica di oltre il 50%, mentre il fenobarbitale ha un



CONCLUSIONE

La crisi epilettica mioclonica nei gatti anziani può essere facilmente archiviata come riscontro senile e non sottoposta ad alcun trattamento. Il lavoro svolto sulle FARS suggerisce che questa condizione sia facilmente trattabile con levetiracetam, sebbene la prognosi a lungo termine sia riservata, poiché la condizione di solito progredisce lentamente per diversi anni, esitando nello sviluppo dei segni di una malattia del prosencefalo. La speranza è che ulteriori ricerche aumentino la consapevolezza tra i veterinari per quanto riguarda questa sindrome e il relativo trattamento.

effetto trascurabile nella gestione delle crisi epilettiche miocloniche nei gatti con FARS (15). Cinquantasette gatti con FARS sono stati trattati con fenobarbitale (n = 29) alla dose di 3-5 mg/kg ogni 12 ore oppure levetiracetam (n = 28) alla dose di 20-25 mg/kg ogni 8 ore. I criteri di inclusione prevedevano che tutti i gatti dovevano aver avuto almeno 12 giorni di crisi epilettica mioclonica in un periodo basale di 12 settimane prima di iniziare con il nuovo medicinale antiepilettico. I gatti sono stati monitorati per 12 settimane di trattamento con il medicinale antiepilettico (Figura 4) e la Tabella 1 illustra i risultati. È stato riscontrato che il 100% dei gatti trattati con levetiracetam ha avuto una riduzione di almeno il 50% nel numero di giorni con crisi epilettica mioclonica, mentre solo il 3% dei gatti nel gruppo con fenobarbitale ha mostrato una risposta simile. Metà dei gatti trattati con levetiracetam non ha avuto ulteriori crisi epilettiche miocloniche, mentre il gruppo con fenobarbitale ha continuato ad avere crisi epilettiche miocloniche. Questo studio sostiene fortemente l'uso di levetiracetam nelle crisi epilettiche miocloniche e questo risultato riecheggia studi simili condotti su pazienti umani con epilessia mioclonica. Esiste inoltre la possibilità che il trattamento con levetiracetam prevenga il kindling audiogenico e, come tale, possa ritardare o addirittura impedire la progressione della condizione. Sono tuttavia necessari altri studi per dimostrare tale tesi (15).



RIFERIMENTI

- Blume WT, Lüders HO, Mizrahi E, et al. Glossary of descriptive terminology for ictal semiology: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001;42:1212-1218.
- Engel J Jr. Introduction to temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res* 1996;26:141-150.
- Quesnel AD, Parent JM, McDonell W, et al. Diagnostic evaluation of cats with seizure disorders: 30 cases (1991-1993). *J Am Vet Med Assoc* 1997;210:65-71.
- Raimondi F, Shihab N, Gutierrez-Quintana R, et al. Magnetic resonance imaging findings in epileptic cats with a normal interictal neurological examination: 188 cases. *Vet Rec* 2017. doi: 10.1136/vr.104142.
- Parent JM, Quesnel AD. Seizures in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996;26: 811-825.
- Lowrie M, Garosi L. Classification of involuntary movements in dogs: myoclonus and myotonia. *J Vet Int Med* 2017;31(4):979-987.
- Lowrie M, Bessant C, Harvey RJ, et al. Audiogenic reflex seizures in cats. *J Feline Med Surg* 2016;18:328-336.
- Pakozdy A, Halasz P, Klang A, et al. Suspected limbic encephalitis and seizure in cats associated with voltage-gated potassium channel (VGKC) complex antibody. *J Vet Intern Med* 2013;27:212-214.
- Berendt M, Gredal H, Alving J, et al. Characteristics and phenomenology of epileptic partial seizures in dogs: similarities with human seizure semiology. *Epilepsy Res* 2004;61:167-173.
- Engel J Jr. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: report of the ILAE task force on classification and terminology. *Epilepsia* 2001;42:796-803.
- Panayiotopoulos CP. Reflex seizures and reflex epilepsies. In: *The Epilepsies: Seizures, Syndromes and Management*. Oxford, Bladon Medical Publishing 2005;497-532.
- Lohi H, Young EJ, Fitzmaurice SN, et al. Expanded repeat in canine epilepsy. *Science* 2005;307:81.
- Shell L, Scariano R, Rishniw M. Features of stimulus-specific seizures in dogs with reflex epilepsy: 43 cases (2000-2014). *J Am Vet Med Assoc* 2017;250:75-78.
- Wielander F, Sarviaho R, James F, et al. Generalized myoclonic epilepsy with photosensitivity in juvenile dogs caused by a defective DIRAS family GTPase 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114:2669-2674.
- Lowrie M, Thomson S, Bessant C, et al. Levetiracetam in the management of feline audiogenic reflex seizures: a randomised, controlled, open-label study. *J Feline Med Surg* 2017;19:200-206.

DISTURBI ERITROCITARI EREDITARI

Sia nel cane che nel gatto, sono stati scoperti numerosi difetti eritrocitari ereditari e recenti ricerche hanno prodotto una grande quantità di nuove informazioni. Urs Giger presenta una panoramica della situazione attuale e offre alcuni suggerimenti per la diagnosi e la gestione di queste condizioni.

PUNTI CHIAVE



Introduzione

L'anemia è uno dei segni clinici più comuni negli animali da compagnia ed è un riscontro frequente nei test ematologici di laboratorio. Sebbene le condizioni acquisite (come infezioni, disturbi immunitari, tossicità, perdita ematica e insufficienza organica cronica) rappresentino le cause principali di anemia, i difetti eritrocitari ereditari che causano anemia stanno diventando sempre più importanti nella pratica clinica. Negli animali da compagnia sono stati segnalati clinicamente numerosi difetti eritrocitari ereditari e sono emerse informazioni molto più recenti, incluse le basi molecolari di alcuni disturbi, che consentono facilmente di emettere diagnosi cliniche specifiche (1,2). Spesso, queste cause vengono prese in considerazione solo dopo il fallimento dei trattamenti per le malattie immunitarie e infettive, o se l'anemia è ricorrente o persistente, nonostante il fatto che in alcune razze tali condizioni siano relativamente comuni e ben riconosciute. Questa breve rassegna si concentra sulle peculiarità degli eritrociti e sui principali aspetti clinici diagnostici e gestionali dei difetti eritrocitari ereditari nel cane e nel gatto.

Gli eritrociti del cane e del gatto

Sebbene le principali caratteristiche strutturali e le funzioni degli eritrociti siano simili tra tutti i mammiferi, esistono alcune differenze evidenti tra gli eritrociti canini e quelli felini. Gli eritrociti felini sono molto più piccoli di quelli canini ed è quindi impossibile riconoscere gli sferociti nei gatti. Tuttavia, le

concentrazioni di emoglobina eritrocitaria (concentrazione corpuscolare media di emoglobina, MCHC) sono identiche per entrambe le specie. È interessante notare che sono riconosciute alcune variazioni normali; per esempio, in molti Akita si osserva la microcitosi eritrocitaria, mentre nel Barbone miniatura la macrocitosi eritrocitaria è un possibile riscontro. La durata della vita normale degli eritrociti nei cani e nell'uomo è simile (100-120 giorni), ma è solo di 70-75 giorni nei gatti.

Privi di nucleo e mitocondri, gli eritrociti hanno un metabolismo limitato e specializzato che consente loro di sopravvivere nella circolazione e trasportare adeguatamente l'ossigeno. L'energia è generata quasi esclusivamente attraverso la glicolisi anaerobica (via di Embden-Meyerhof). Lo shunt dell'esoso monofosfato riduce i nucleotidi piridinici e il glutatione, che sono necessari per la degradazione da parte degli ossidanti, prevenendo così il danneggiamento della membrana e la denaturazione dell'emoglobina (ossidazione). Inoltre, il sistema della metemoglobina-reduttasi o della citocromo b5-reduttasi riduce il ferroeeme dalla forma ferrica (Fe⁺⁺⁺) a quella ferrosa (Fe⁺⁺); solo l'emoglobina ridotta può legarsi e trasportare ossigeno. La via di Luebering-Rapoport è responsabile per la sintesi del 2,3-difosfoglicerato (DPG), che influenza l'affinità per l'ossigeno dell'emoglobina canina, ma non di quella felina. Infatti, la concentrazione di DPG eritrocitario è simile nei cani e nell'uomo, ma molto bassa nei gatti.

Sembra che i cani e i gatti abbiano l'emoglobina embrionale, ma non quella fetale. Ad eccezione di alcune razze giapponesi che hanno due emoglobine (HbA e HbB), nei cani è stata trovata una sola emoglobina nell'adulto. Sono tuttavia necessari altri studi per caratterizzare



Urs Giger,

Dr. med. vet., MS, PD, Dipl. ACVIM-SA, Dipl. ECVIM-CA, Dipl. ECVCP, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, Stati Uniti

Il Professor Giger ha conseguito la laurea in Medicina veterinaria presso l'University of Zürich, ha completato una residenza presso l'University of Florida, per poi entrare all'University of Pennsylvania dove ha rilevato la cattedra della Prof.ssa Charlotte Newton Sheppard. Ha il diploma dell'American and European College of the Veterinary Internal Medicine, nonché dell'European College of Clinical Pathology. È presidente del Comitato per le malattie ereditarie della WSAVA. Tra gli altri riconoscimenti, ha ricevuto l'International Scientific Lifetime Achievement Award della WSAVA, l'International Bourgelat Award sempre della BSAVA e l'Excellence in Feline Research Award dell'AVMA.

l'emoglobina canina. È interessante osservare che i gatti hanno una α -globina e almeno sei β -globine diverse, e per ogni gatto che ha da una a quattro β -globine diverse, sono riconosciuti molti modelli di emoglobina.

La membrana eritrocitaria è costituita da un doppio strato lipidico, attaccato a uno scheletro membranoso, che determina la forma discoidale delle cellule e consente a queste ultime di deformarsi facilmente al passaggio attraverso i capillari. Varie glicoproteine transmembrana funzionano come recettori o trasportatori. Gli eritrociti canini e felini perdono la loro Na^+ e K^+ ATPasi durante la maturazione tardiva nel midollo osseo, a causa della proteolisi (ad eccezione degli eritrociti di alcune razze giapponesi). Pertanto, le concentrazioni elevate di sodio e basse di potassio degli eritrociti sono simili a quelle degli elettroliti sierici. Di conseguenza, dopo l'emolisi intravascolare o quando si conserva sangue coagulato non separato, non si verifica generalmente iperkaliemia a meno che non vengano lisati reticolociti da stress o eritrociti ricchi di potassio prelevati da cani giapponesi. Infatti, gli eritrociti degli Akita sono "permeabili" *in vitro* e nei campioni di siero che non sono stati separati immediatamente dal coagulo (**Riquadro 1**) si può osservare una pseudoiperkaliemia, che non è clinicamente significativa. Infine, è stato osservato che gli eritrociti canini sono eccezionalmente fragili negli ambienti alcalini, rispetto agli eritrociti dei gatti e di altre specie, forse a causa dell'ingresso facilitato di calcio in queste condizioni. Questa sensibilità al pH potrebbe spiegare la tendenza degli eritrociti canini a lisare nelle provette tenute in laboratorio non tappate ed è alla base delle crisi emolitiche osservate nei cani con deficit di fosfofruttochinasi.

●●● Gruppi sanguigni

Le membrane eritrocitarie contengono anche diversi antigeni del gruppo sanguigno e sono attualmente disponibili vari kit di tipizzazione rapidi e di laboratorio (3). I cani privi di un certo antigene del gruppo sanguigno possono sviluppare alloanticorpi, dopo la sensibilizzazione prodotta da una

Riquadro 1. Gli Akita hanno eritrociti "permeabili" *in vitro* e un campione di sangue potrebbe mostrare microcitosi e pseudoiperkaliemia, come nei risultati del campione qui riportati. Il fenomeno si verifica se il siero non viene separato immediatamente al momento del prelievo, ma è irrilevante dal punto di vista clinico.

Parametro	Valore	Intervallo di riferimento normale
Ematocrito	48%	37-55%
Hb	16 g/dl	12-18 g/dl
MCV	52 fl	60-77 fl
MCHC	33%	32-36%
Sodio	148 mmol/l	146-156 mmol/l
Potassio	9 mmol/L	3,8-5,6 mmol/l

trasfusione, che potrebbero causare reazioni trasfusionali emolitiche acute. I cani hanno più di dodici sistemi di gruppi sanguigni e di questi il più importante è il gruppo sanguigno DEA 1. I cani sono DEA 1- oppure da debolmente a fortemente DEA 1+. Per quanto riguarda la trasfusione di sangue, i donatori DEA 1- sono i preferiti poiché non sensibilizzano un paziente DEA 1-, ma il sangue dei donatori DEA 1+ può essere prontamente somministrato ai pazienti con DEA 1+. Esistono altri tipi di sangue canino di importanza clinica, come DEA 4 (il 99,9% dei cani è DEA 4+) e Dal (osservato nel Dalmata, ma anche nel Dobermann pinscher; Shih Tzu e Lhasa Apso possono essere Dal -) (4-6). Se sono necessarie ulteriori trasfusioni, si raccomanda di tipizzare qualsiasi paziente canino e cane donatore per DEA 1, ed eseguire test di abbinamento donatore-ricevente in qualsiasi paziente canino quattro giorni dopo la prima trasfusione. Sebbene sia stato scoperto un marcatore genetico per DEA 1, non sono attualmente disponibili test del DNA.

Il sistema di gruppi sanguigni felino AB, con i tipi A, B e AB, è ben noto essendo associato ad alloanticorpi naturali, reazioni trasfusionali emolitiche acute e isoeritrolisi neonatale (gattini di tipo A e AB nati da gatte di tipo B) senza precedente sensibilizzazione. Pertanto, qualsiasi paziente e donatore (o, eventualmente, le gatte destinate alla riproduzione) deve essere sottoposto a tipizzazione del sangue. I tipi B e AB devono essere confermati mediante ritipizzazione e tipizzazione inversa (per confermare la presenza di potenti anticorpi anti-A nel plasma/siero di qualsiasi gatto di tipo B di età superiore a 3 mesi). Inoltre, sono attualmente riconosciuti altri gruppi sanguigni felini, l'ultimo dei quali è un antigene eritrocitario noto come Mik. Tali antigeni possono produrre alloanticorpi che causano risultati di incompatibilità al test di abbinamento donatore-ricevente e reazioni trasfusionali emolitiche acute senza precedente sensibilizzazione. Oltre a eseguire la tipizzazione AB, sarebbe quindi ragionevole eseguire test di abbinamento donatore-ricevente nei gatti che devono ricevere una trasfusione. Il tipo AB è relativamente raro, ma si trova spesso nei Ragdoll e recentemente sono stati sviluppati test del DNA per differenziare i gruppi A, B e AB.

●●● Classificazione dei difetti eritrocitari

I difetti eritrocitari ereditari formano un gruppo di malattie ampio e clinicamente eterogeneo. Ogni disturbo eritrocitario viene osservato solo raramente,

Tabella 1. Classificazione dei principali difetti eritrocitari.

Anomalie correlate all'emoglobina	
Deficit di metemoglobina riduttasi	Varie razze canine. Gatti domestici a pelo lungo e gatti di razza pura di varie razze: i riscontri clinici principali sono cianosi ed eritrocitosi invece che l'anemia
Porfirie	Gatti domestici a pelo corto e gatti di razza pura di varie razze: si osserva eritrodonzia
Anomalie della membrana	
Microcitosi	Akita e Shiba Inu: non clinicamente importanti
Macroscitosi	Barbone nano: non clinicamente importanti
Sferocitosi	Golden retriever e talvolta altre razze: si sviluppa un'anemia lieve
Stomatocitosi	Alaskan malamute (con condrodysplasia) e Schnauzer nano e standard: si sviluppa un'anemia lieve
Ellittocitosi	Raramente osservata nei cani: si sviluppa un'anemia lieve
Fragilità osmotica	Gatti domestici a pelo corto e gatti di razza pura di varie razze; raramente osservata nei cani. Si sviluppa anemia intermittente con splenomegalia
Eritroenzimopatie	
Deficit di piruvato chinasi (PK)	Molte razze canine: si sviluppa anemia cronica con osteosclerosi. Abissino e altre razze: si sviluppa anemia intermittente
Deficit di fosfofruttochinasi (PFK)	Springer spaniel inglese e, raramente, Cocker spaniel, Whippet, Wachtelhund e razze miste: si può sviluppare anemia intermittente, con pigmenturia dopo esercizio fisico, esposizione al calore, respirazione affannosa, emissione di latrati
Eritropoiesi ridotta	
Malassorbimento ereditario di cobalamina	Australian shepherd, Beagle, Border Collie, Schnauzer gigante, Komondor: i segni includono pancitopenia, mancata crescita, aciduria metilmalonica per deficit di cobalamina
Anemia da carenza di ferro resistente al ferro (IRIDA)	Cocker spaniel: si sviluppano eritrociti microcitici, sebbene i cani non siano necessariamente anemici

sebbene alcuni deficit enzimatici appaiano spesso nell'ambito di alcune razze (**Tabella 1**). La modalità di ereditarietà per ogni disturbo è autosomica recessiva, con l'eccezione della porfiria e della sferocitosi felina, che possono essere ereditate con un tratto dominante o recessivo. Sebbene il grado di caratterizzazione sia variabile, molti disturbi sembrano essere omologhi alle malattie ereditarie nell'uomo. Questi disturbi eritrocitari sono stati classificati in quattro gruppi: **(i)** difetti dell'eme ed emoglobinopatie, **(ii)** anomalie della membrana, **(iii)** deficit enzimatici glicolitici, e forse **(iv)** difetti di produzione e maturazione; alcuni disturbi specifici sono discussi in maggior dettaglio di seguito. Tipicamente, i difetti eritrocitari causano anemia emolitica che è associata a tutti i gruppi ad eccezione dei difetti di produzione e maturazione.

Sebbene il segnalamento, il tipo e la gravità dell'anemia, e gli effetti pleiotropici osservati possano fornire indizi su un difetto eritrocitario ereditario (**Tabella 2**), è essenziale una valutazione di laboratorio completa per convalidare la diagnosi o scoprire nuovi disturbi ereditari. In alcune razze, è stato riconosciuto più di un disturbo eritrocitario. Per identificare le anomalie ematologiche ed escludere le anemie acquisite, si utilizzano i test di laboratorio ematologici di routine, tra cui l'esame emocromocitometrico completo con conta reticolocitaria,

l'analisi microscopica di uno striscio di sangue, la biochimica sierica e l'analisi dell'urina. Negli animali con anemia emolitica Coombs-negativa (7), nessuna esposizione a tossine o infezioni e funzione renale ed epatica adeguata deve essere considerato un difetto eritrocitario ereditario. L'esame accurato di uno striscio di sangue periferico è fondamentale per il riconoscimento di una poichilocitosi, come ad esempio ellittocitosi, sferocitosi e stomatocitosi, sebbene quasi tutti i difetti eritrocitari non causino alterazioni nella forma delle cellule e siano storicamente noti come anemie emolitiche non sferocitiche. Il grado di reticolocitosi è spesso marcato, persino se l'anemia è lieve, ed è generalmente proporzionale alla ridotta sopravvivenza degli eritrociti difettosi. Pertanto, in caso di difetti eritrocitari l'esame del midollo osseo fornisce raramente nuove informazioni. I segni di emolisi possono essere lievi a causa della cronicità, della forte compensazione e dell'emolisi di basso grado, e gli animali colpiti possono adattarsi molto bene all'anemia cronica. Si osservano generalmente iperbilirubinuria e iperbilirubinemia, sebbene possano essere lievi a causa dell'adattamento. Sono state segnalate basse concentrazioni di aptoglobina sierica, emoglobinemia o emoglobinuria, tutte indicative di emolisi intravascolare, ma tali riscontri devono essere valutati con cautela, poiché possono verificarsi artificialmente. Alcuni eritrociti difettosi appaiono estremamente fragili *in vitro*, con conseguente lisi artificiale nelle provette di sangue. Gli animali con metemoglobinemia mostrano cianosi (anche quando ricevono ossigeno) e possono sviluppare un'eritrocitosi secondaria. Inoltre, i gatti con porfiria mostrano eritrodonzia e pigmenturia a causa dell'accumulo di porfirina.

I test di laboratorio speciali per la definizione della natura di un difetto eritrocitario intrinseco possono essere suddivisi in test di screening generali, utilizzati per caratterizzare i disturbi eritrocitari sconosciuti, e i test di

Tabella 2. Caratteristiche cliniche tipiche dei difetti eritrocitari che causano anemia.

- Animali giovani
- Predisposizione di razza, o animali apparentati affetti da anemia inspiegabile
- Anemie croniche o ricorrenti
- Screening negativo per malattia infettiva
- Screening negativo per tossine/farmaci ed esposizione ambientale
- Test di Coombs negativo
- Scarsa risposta al trattamento o recidiva

screening specifici, per definire i difetti noti in alcune razze. Entrambi vengono eseguiti solo in laboratori specializzati. Per specifiche razze canine sono stati sviluppati alcuni test a pannelli per il DNA che coprono la maggior parte dei disturbi del DNA finora segnalati *.

L'emolisi derivante dai difetti eritrocitari può essere ben compensata da un'eritropoiesi marcata, causando quindi segni clinici minimi o nulli (eccetto durante una crisi) e consentendo all'animale di avere un'aspettativa di vita normale. Inoltre, gli animali colpiti potrebbero essersi adattati bene all'anemia cronica. Al contrario, alcuni disturbi sono associati a crisi emolitiche gravi per cui gli animali possono dover ricevere una terapia di supporto, comprese trasfusioni con sangue tipizzato e, se precedentemente trasfusi, trasfusioni compatibili ai test di abbinamento donatore-ricevente. I gatti con alcuni difetti eritrocitari sviluppano una splenomegalia marcata e possono essere aiutati con la splenectomia che rimuove una sede importante di distruzione degli eritrociti; sembra che i cani con difetti eritrocitari non traggano beneficio da questa procedura. Infine, si raccomanda di non utilizzare per la riproduzione gli animali colpiti, al fine di prevenire l'ulteriore diffusione di questi disturbi. Tuttavia, per mantenere la diversità del pool genico, i portatori asintomatici con tratti desiderabili possono essere fatti riprodurre in modo sicuro con un animale non affetto, purché anche tutta la prole considerata per la riproduzione sia sottoposta a screening con test del DNA specifici per la mutazione.



Difetti dell'emoglobina

A differenza della frequente comparsa di talassemia e anemia falciforme nell'uomo, nel cane e nel gatto non sono state documentate emoglobinopatie. Tra varie razze canine e gatti domestici a pelo corto, sono stati riscontrati casi isolati di metemoglobinemia associati a deficit della citocromo b5 reduttasi. Quando una goccia di sangue posta su una carta da filtro rimane scura, è lecito sospettare una metemoglobinemia ereditaria o congenita. Si noti che le metemoglobinopatie ereditarie sono spesso associate a cianosi ed eritrocitosi secondaria invece che all'anemia, ma i soggetti affetti da questa condizione sono a rischio di emolisi massiva se esposti ad agenti ossidanti (come alcuni farmaci, metalli pesanti, cipolle o aglio). Nel gene del citocromo b5 reduttasi della metemoglobina degli animali colpiti sono state identificate mutazioni (8).

Le porfirie sono un gruppo di errori congeniti derivanti dall'accumulo di porfirine causato dalle ipoattività di specifici enzimi nella biosintesi dell'eme, finora osservate nei gatti ma non nei cani. Nell'uomo, sono clinicamente classificate come eritroidi, con interessamento cutaneo, o epatiche, con attacchi neuro-viscerali acuti. È stato segnalato che i gatti porfirici affetti presentano eritrodonzia (denti scoloriti di colore marrone con fluorescenza rosa), porfirinuria e disturbi emolitici lievi, ma nessuna evidenza di attacchi neuro-viscerali acuti potenzialmente mortali o di lesioni cutanee; questi animali hanno un'aspettativa di vita quasi normale (9). Le concentrazioni di porfirina urinaria sono aumentate nei gatti affetti e a secondo del pattern della porfirina urinaria e del deficit enzimatico possono essere classificate come porfiria acuta intermittente (PAI, dominante) o porfiria eritroide congenita (PEC, recessiva). Nel gene dell'idrossimetilbilano sintasi (HMBS) o dell'uroporfirinogeno III sintasi (URO3) sono state identificate numerose mutazioni tra cui duplicazioni,

delezioni e mutazioni missenso, cosa che lo rende il gene più mutato scoperto finora nei gatti. I gatti con denti scoloriti ed emolisi normale o lieve possono quindi avere deficit di HMBS o attività di URO3 e la caratterizzazione biochimica e molecolare in laboratori specializzati facilita lo screening dei gatti affetti *.



Difetti della membrana

L'ellittocitosi e la sferocitosi risultanti da un deficit della banda proteica 4.1 e della spettina del citoscheletro sono state caratterizzate a livello clinico e molecolare in cani di razza mista. Altre presunte anomalie della membrana includono la stomatocitosi in Alaskan malamute e Schnauzer nano e standard/medio, la sferocitosi nel Golden retriever con gastrite, l'anemia non sferocitica nel Beagle e gli eritrociti con fragilità osmotica aumentata nel gatto Abissino e in altri gatti domestici di razza pura e senza pedigree. Fatta eccezione per la fragilità osmotica aumentata nei gatti, questi difetti della membrana sono rari e sporadici (Figura 1) (10).

La fragilità osmotica eritrocitaria aumentata suggerisce un difetto della membrana e/o del trasporto ionico. Gli Alaskan Malamute con nanismo condrodisplastico e stomatocitosi sono stati i primi cani in cui sono stati descritti eritrociti fragili (11), ma l'esatto meccanismo è ancora sconosciuto. È stato segnalato che gli Schnauzer nani e standard/medi con stomatocitosi non hanno anomalie dello scheletro della membrana; è interessante notare che, sebbene la macrocitosi sia grave, l'anemia basata sulle misurazioni dell'emoglobina è appena lieve (12) (Figura 2).

Una fragilità osmotica eritrocitaria molto aumentata associata ad anemia intermittente, splenomegalia grave e iperglobulinemia è stata osservata nel gatto Abissino e in altri gatti di razza pura e non. Questi eritrociti sono macrociti, estremamente fragili *in vitro* e possono semplicemente lisare se conservati per una notte in frigorifero. Sebbene non sia stata identificata la causa, si sospetta un difetto della membrana. I gatti affetti con splenomegalia marcata possono trarre beneficio da dosi antinfiammatorie di prednisolone. Se l'anemia è grave e spesso ricorrente, e in presenza di splenomegalia massiva, può essere utile la splenectomia. Tuttavia, gli animali splenectomizzati hanno particolare tendenza a



“I difetti eritrocitari ereditari formano un gruppo ampio e clinicamente eterogeneo di malattie, e sebbene non comuni, alcuni disturbi sono relativamente frequenti in alcune razze.”

Urs Giger

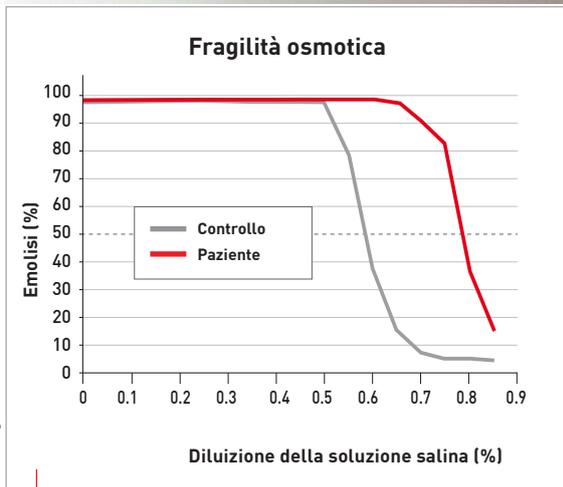
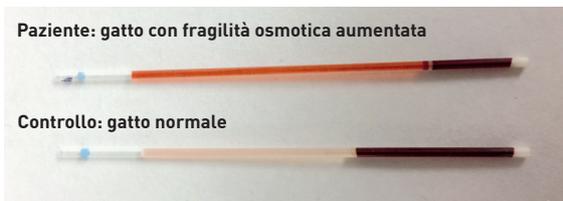
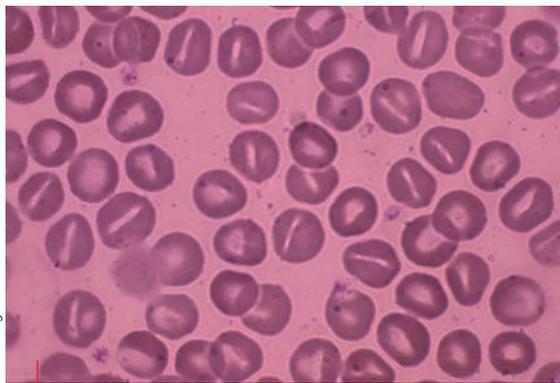


Figura 1. Eritrociti con fragilità osmotica aumentata sono stati segnalati in varie razze feline, tra cui l'Abissino. Questa condizione è illustrata nell'immagine sopra, dove un campione di sangue prelevato da un gatto affetto è stato conservato in frigorifero valutando il microematocrito (PCV) 24 ore dopo. Si notino il plasma di colore rosso e il valore inferiore di PCV rispetto al campione di un gatto sano. La fragilità degli eritrociti è stata valutata mediante il test di fragilità osmotica, misurando il grado di emolisi rispetto a una concentrazione crescente di soluzione salina, come mostrato nel grafico. Gli eritrociti normali lisano *in vitro* al 50% a una concentrazione di soluzione salina quasi dimezzata (0,6%), mentre gli eritrociti colpiti lisano a una concentrazione di soluzione salina quasi fisiologica (0,8%).

sviluppare sepsi nel primo mese del postoperatorio. Alcuni laboratori offrono test della fragilità osmotica*.

Eritroenzimopatie

I deficit di fosfofruttochinasi (PFK) e piruvato chinasi (PK), i due enzimi glicolitici regolatori chiave, determinano forme nettamente distinte di



© Urs Giger

Figura 2. Stomatocitosi in uno Schnauzer nano; gli stomatociti sono eritrociti con un'area pallida centrale a forma di fessura, che li fa sembrare "chicchi di caffè".

anemie emolitiche in diverse razze canine, mentre è stato osservato che solo la carenza di piruvato chinasi (PK) causa anemia intermittente in molte razze felina (**Tabella 3**). Sebbene il deficit di PK sia stato caratterizzato per la prima volta nella razza Basenji circa cinquanta anni fa, le tipiche caratteristiche cliniche e anomalie biochimiche sembrano identiche in altre razze canine e uniche per i cani. Al contrario, i gatti con deficit di PK sembrano avere un'anemia intermittente che è più simile al deficit di PFK nei cani. Molti animali sono presumibilmente trattati per l'anemia emolitica immunomediata per mesi o anni prima della diagnosi e quindi sottoposti a test diagnostici inutili e trattamenti potenzialmente dannosi.

Deficit di fosfofruttochinasi (PFK)

Nonostante la sua scoperta avvenuta più di trent'anni fa e la disponibilità di test di screening enzimatici e del DNA, questo deficit enzimatico glicolitico viene ancora osservato nello Springer spaniel inglese da lavoro/caccia negli Stati Uniti e in Europa, ma è stata anche segnalata in alcune razze da mostre canine, inclusi Cocker spaniel, Whippet, Wachtelhund e cani di razza mista. Il deficit di PFK è causato da una singola mutazione missenso della PFK di tipo muscolare, con conseguente troncamento e instabilità della proteina dell'enzima PFK in tutte le razze segnalate (diverse dal Wachtelhund, che ha una mutazione di PFK diversa [13]).

Il disturbo è caratterizzato da crisi emolitiche e miopatia da sforzo. La pigmenturia scura sporadica risultante

Tabella 3. Confronto del deficit ereditario di PK e PFK nel cane e nel gatto.

Parametro	Deficit di piruvato chinasi (PK)		Deficit di fosfofruttochinasi (PFK)
	Cane	Gatto	Cane
Anemia	Cronica grave	Intermittente	Intermittente
Fattori scatenanti	Sconosciuti: qualsiasi malattia o stress	Sconosciuti: qualsiasi malattia o stress	Respirazione affannosa, emissione di latrati e calore eccessivo; esercizio fisico strenuo
Risposta eritroide rigenerativa	Molto forte	Lieve	Forte anche in assenza di anemia
Radiografia delle ossa lunghe	Osteosclerosi dall'età di 1 anno	Normale	Normale
Risposta alla splenectomia	Nessuna	Buona	Nessuna
Aspettativa di vita	A seconda della razza, 1-10 anni	1-12 anni	Se si evitano le crisi, fino a 12 anni



Figura 3. Uno Springer Spaniel inglese itterico con deficit di PFK.

dalle forme gravi di emoglobinuria e iperbilirubinuria è una caratteristica chiave e si sviluppa comunemente dopo episodi di respirazione affannosa eccessiva ed emissione di latrati, esercizio fisico intenso e febbre o temperatura ambientale elevata. Di conseguenza, l'alcemia indotta dall'iperventilazione provoca lisi intravascolare degli eritrociti carenti di PFK. Durante una crisi, un cane affetto può diventare gravemente anemico e itterico (**Figura 3**) e mostrare febbre, letargia e anoressia, che si risolvono di solito in pochi giorni. Tra una crisi e l'altra, il cane avrà una forte risposta eritroide rigenerativa. Inoltre, i cani affetti sono totalmente privi di attività PFK nei muscoli; pertanto, hanno una miopatia metabolica caratterizzata da intolleranza all'esercizio fisico, crampi muscolari occasionali e attività della creatin chinasi sierica da lievemente a moderatamente aumentata. Dato che non possono correre a lungo e velocemente per qualsiasi periodo di tempo, hanno risultati scadenti come cani da lavoro/caccia.

Molti laboratori offrono semplici test mutazione-specifici per diagnosticare con precisione i cani con deficit di PFK e i cani portatori *. Per le razze senza una mutazione di PFK nota, possono essere indicativi un risultato basso al test dell'attività enzimatica e/o un risultato elevato al test della curva di dissociazione dell'ossiemoglobina. Si raccomanda di evitare le situazioni che scatenano le crisi emolitiche, come ad esempio respirazione affannosa, emissione di latrati, esercizio fisico e calore eccessivi. Quando un cane sta avendo una crisi, il riposo aiuta, ma gli animali colpiti possono richiedere una terapia di supporto e, talvolta, trasfusioni di sangue. I cani con deficit di PFK possono avere una durata della vita normale, ma iperbilirubinuria e reticolocitosi persistono nonostante un ematocrito quasi normale, data l'elevata affinità dell'ossiemoglobina degli eritrociti con deficit di PFK.

Deficit di piruvato chinasi (PK)

Nonostante la gravità e la persistenza dell'anemia nei cani con deficit di PK, i segni clinici, ad eccezione del pallore, sono lievi, ma la crisi emolitica innescata può verificarsi a qualsiasi età e può essere fatale. L'anemia è fortemente rigenerativa, con numerosi normoblasti circolanti (eritrociti nucleati) e le conte reticolocitarie possono raggiungere il 90%. Si possono sviluppare mielofibrosi progressiva inspiegabile e osteosclerosi del midollo osseo (**Figura 4**), nonché emosiderosi/emocromatosi

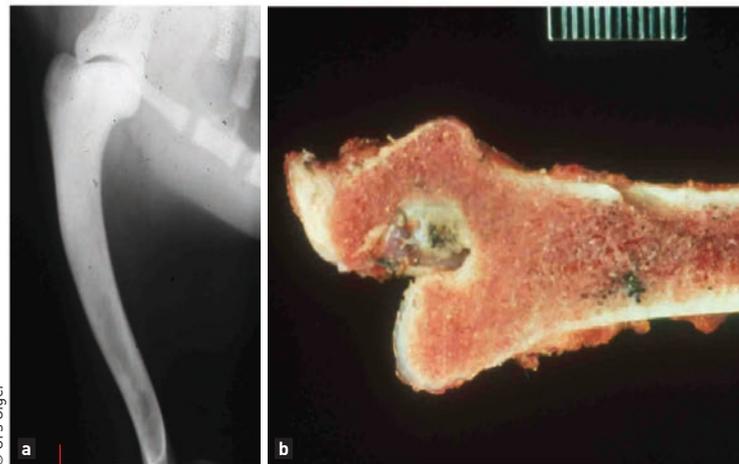


Figura 4. Osteosclerosi associata a deficit di PK in un West Highland White terrier. È evidente la densità aumentata delle corticali alla radiografia (a) e all'autopsia (b).

generalizzata con insufficienza epatica associata [14], esitando nel decesso, generalmente prima dei 6 anni di età, sebbene alcuni West Highland White terrier, West Highland Cairn terrier e Beagle con deficit di PK abbiano raggiunto i 10 anni. La base genetica molecolare del deficit di PK è stata identificata in Basenji, Beagle, Labrador retriever, Carlino, Cairn terrier e West Highland White terrier [15,16], e per queste razze, ma non per altre, sono disponibili test del DNA specifici per la mutazione *. Il deficit di PK è stato segnalato anche in Barbone nano, Cane esquimese toy, Bassotto e Chihuahua, e sembra probabile che l'anemia emolitica non sferocitica e l'osteosclerosi precedentemente descritte nel Barbone fossero causate da un deficit di PK [17]. In queste razze è necessario uno scomodo test dell'enzima PK con caratterizzazione dell'isoenzima per definire il deficit di PK, e la differenziazione tra portatori e cani normali omozigoti in base all'attività enzimatica eritrocitaria può essere difficile. I segni clinici nei cani affetti sono lievi, probabilmente a causa dell'adattamento cronico all'anemia grave e delle concentrazioni elevate di DPG eritrocitario che facilitano il rilascio di ossigeno (bassa affinità per l'ossiemoglobina). L'epatomegalia e la splenomegalia possono derivare da emolisi extravascolare grave, emopoiesi extramidollare ed emosiderosi/emocromatosi. Come trattamento è stata proposta la chelazione del ferro ma non ha ancora mostrato di essere efficace e sicura, mentre la splenectomia ha mostrato di essere inefficace.

Il trapianto di midollo osseo ha dimostrato sperimentalmente di essere efficace per entrambe le enzimopatie nei cani, ma data la probabile mancanza di un donatore compatibile per il complesso maggiore di istocompatibilità e la necessità di una mielosoppressione marcata, questo trattamento non viene offerto clinicamente.

Deficit di PK nel gatto

Nei gatti, il deficit di PK causa un'anemia intermittente, invece che un'anemia cronica, con una risposta eritroide rigenerativa da lieve a moderata; i gatti non sviluppano osteosclerosi. I gatti affetti possono sviluppare calcoli di bilirubina nella cistifellea, insufficienza epatica e splenomegalia lieve. Le dosi antinfiammatorie di prednisolone (e la splenectomia nei casi gravi) sembrano

migliorare i segni clinici dell'anemia intermittente, con il gatto più anziano che ha raggiunto gli 11 anni di età (3). L'attività del PK eritrocitario è fortemente ridotta e non esiste un'espressione di PK tipo M, cosa che semplifica la diagnosi biochimica. Sin dalla fine degli anni '90, è stato riconosciuto che il deficit di PK è causato da un singolo difetto di splicing (rottura e risaldatura) risultante in una delezione a 13 basi (18); il disturbo è stato segnalato nei gatti di razza Abissino, Somalo e molte altre razze con pedigree, nonché nei gatti domestici a pelo corto in diversi continenti e molti laboratori offrono oggi un test di screening del DNA. In qualsiasi gatto con anemia persistente o ricorrente inspiegabile in seguito a screening per cause tossiche, infettive e immunomediate deve essere valutato il deficit di PK, poiché questa è una causa molto più probabile di anemia rispetto all'anemia emolitica immunomediata.

all'integrazione con ferro per via orale. Si è visto che questa anemia da deficit di ferro resistente al ferro (IRIDA) è dovuta a un difetto nel gene *TMPRSS6* (matriptasi-2), che regola la produzione di epcidina e controlla infine l'assorbimento e la biodisponibilità del ferro.

* ad es., il sito Web PennGen ospita anche la banca dati delle malattie ereditarie della WSAVA che elenca tutti i test del DNA per ogni specifica malattia e razza. Inoltre, i PennGen Laboratories offrono test specializzati per identificare e caratterizzare i disturbi eritrocitari e altre malattie ereditarie.

Ringraziamenti: la ricerca clinica dell'autore è sostenuta in parte da una sovvenzione del National Institute of Health degli Stati Uniti OD 010939.



Eritropoiesi ridotta

Mentre i difetti precedenti hanno causato ridotta sopravvivenza degli eritrociti, emolisi e anemie rigenerative, i disturbi della produzione e maturazione eritroide non sono tipicamente inclusi quando ci si riferisce ai difetti eritrocitari. Queste condizioni si riflettono, non solo in un'anemia non rigenerativa, ma anche in alterazioni di altre cellule derivate dal midollo osseo.

In diverse razze canine è stato segnalato il malassorbimento selettivo della cobalamina (vitamina B12), noto anche come sindrome di Imlerslund-Gräsbeck, derivante da un difetto nel recettore ileale del complesso fattore intrinseco-cobalamina (19,20). Schnauzer gigante e Australian Shepherd hanno mutazioni nel gene *AMN*, mentre Beagle, Border collie e Komondor hanno mutazioni nel gene *CUBN*. Gli animali colpiti non riescono a crescere e hanno vari gradi di cachessia, segni neurologici, leucopenia, trombocitopenia, anemia, bassi livelli sierici di cobalamina e aciduria metilmalonica. Tuttavia, dopo la diagnosi la prognosi è buona; i cani rispondono completamente alla somministrazione di cobalamina parenterale ogni 2-4 settimane.

In un Cocker spaniel e pochi altri cani (21) è stata osservata un'anemia gravemente microcitica-ipocromica con basso livello sierico di ferro che non ha risposto



CONCLUSIONE

Nella medicina veterinaria sono attualmente riconosciuti e caratterizzati numerosi disturbi ereditari. Spesso legati a una specifica razza canina o felina, tali difetti possono causare un'ampia varietà di segni clinici e se si sospetta un disturbo è essenziale eseguire esami del sangue e dell'urina completi; per facilitare la diagnosi sono stati sviluppati test di screening del DNA specifici per la mutazione. Il quadro clinico può variare fortemente nel caso dei disturbi eritrocitari, dall'anemia grave a quella asintomatica. In molti casi evitare le terapie immunosoppressive e le situazioni che inducono crisi può consentire agli animali affetti di avere una buona qualità di vita e, talvolta, un'aspettativa di vita quasi normale.



RIFERIMENTI

- Slutsky J, Raj K, Yuhnke ST, et al. A web resource on DNA tests for canine and feline hereditary diseases. *Vet J* 2013;197:182-187.
- Donnor J, Kaukonen M, Anderson H. Genetic panel screening of nearly 100 mutations reveals new insights into the breed distribution of risk variants for canine hereditary disorders. *PLoS One* 2016;11(8):e0161005.
- Giger U. Blood typing and crossmatching: Assuring blood compatibility. *Kirk's Current Vet Therapy* 2014 (online edition) section IV, 260-265 www.kestrel.ws/erasmus/docs/Kirks_Current_Veterinary_Therapy_XIV.pdf
- Polak K, Acierno MM, Raj K, et al. Dog erythrocyte antigen 1: mode of inheritance and initial characterization. *Vet Clin Pathol* 2015;44:369-379.
- Goulet S, Giger U, Arsenault J, et al. Prevalence and mode of inheritance of the *Dal* blood group in dogs in North America. *J Vet Intern Med* 2017;31:751-758.
- Euler CC, Mizukami K, Raj K, et al. Survey of two new (*Kai 1* and *Kai 2*) and other blood groups in dogs of North America. *J Vet Intern Med* 2016;30:1642-1647.
- Caviezel LL, Raj K, Giger U. Comparison of 4 direct Coombs' test methods with polyclonal antiglobulins in anemic and non-anemic dogs for in-clinic or laboratory use. *J Vet Intern Med* 2014;28:583-591.
- Jaffey JA, Harmon MR, Villani NA, et al. Long-term treatment with oral methylene blue in a dog with hereditary methemoglobinemia due to cytochrome b5 reductase deficiency. *J Vet Intern Med* 2017;31:1860-1865.
- Clavero S, Ahuja Y, Bishop DF, et al. Diagnosis of feline acute intermittent porphyria presenting with erythrodonia requires metabolic and molecular analyses. *Vet J* 2013;198:720-722.
- Tritschler C, Mizukami K, Raj K, et al. Increased erythrocytic osmotic fragility in anemic domestic shorthair and purebred cats. *J Feline Med Surg* 2016;18:462-470.
- Fletch S, Pinkerton P. An inherited anaemia associated with hereditary chondrodysplasia in the Alaskan malamute. *Can Vet J* 1972;13(11):270-271.
- Bonfanti U1, Comazzi S, Paltrinieri S, et al. Stomatocytosis in 7 related Standard Schnauzers. *Vet Clin Pathol* 2004;33(4):234-239.
- Inal Gultekin G, Raj K, Lehman S, et al. Missense point mutation in *PFKM* associated with muscle-type phosphofructokinase deficiency in the Wachtelhund. *Mol Cell Prob* 2012;26:243-247.
- Inal Gultekin G, Raj K, Foureman P, et al. Erythrocytic pyruvate kinase mutations causing hemolytic anemia, osteosclerosis and secondary hemochromatosis in dogs. *J Vet Intern Med* 2012;26:935-944.
- Hlavac NRC, Lacerda LA, Conrado FO, et al. Hemolytic anemia caused by hereditary pyruvate kinase deficiency in the West Highland White Terrier dog. *Arch Med Vet* 2012;44:195-200.
- Juvel F, Giger U, Battersby I, et al. Erythrocyte pyruvate kinase deficiency in three West Highland White Terriers in Ireland and the UK. *Irish Vet J* 2013;66;12 (epub).
- Randolph JF, Center SA, Kallfelz FA, et al. Familial non-spherocytic hemolytic anemia in poodles. *Am J Vet Res* 1986;47(3):687-695.
- Kushida K, Giger U, Inaba M, et al. Real-time PCR Genotyping assay for feline erythrocyte pyruvate kinase deficiency and mutant allele frequency in purebred cats in Japan. *Vet Med Sci* 2015;77:743-746.
- Fyfe JC, Hemker LS, Venta JP. An exon 53 frameshift mutation in *CUBN* abrogates cubam function and causes Imlerslund-Gräsbeck syndrome in dogs. *Mol Gen Metabol* 2013;109:390-396.
- Fyfe JC, Hempkar SL, Stebbing B, et al. Selective intestinal cobalamin malabsorption with proteinuria (Imlerslund-Gräsbeck syndrome) in juvenile beagles. *J Vet Intern Med* 2014;28:356-362.
- Naigamwalla DZ, Webb J, Giger U. Iron deficiency anemia. *Can Vet J* 2012;53:250-256.

BIOPSIA LIQUIDA: IL FUTURO DELLA DIAGNOSTICA ONCOLOGICA?

Gli agoaspirati e le biopsie tissutali sono comuni nella medicina veterinaria, ma hanno i loro svantaggi nella diagnosi oncologica. In questo articolo, il Prof. Breen e la Dr.ssa Wiley descrivono una nuova tecnica per la diagnosi precoce del cancro vescicale nel cane e discutono il possibile futuro delle procedure di biopsia liquida.

Matthew Breen,

PhD, C.Biol, FRBSB, College of Veterinary Medicine, North Carolina State University (NCSU), Raleigh, NC, Stati Uniti

Dopo aver conseguito il PhD in Genetica animale nel 1990, il Dr. Breen è diventato ricercatore post-dottorale nell'ambito del Progetto Genoma Umano. Dopo diversi anni trascorsi in Australia e nel Regno Unito, il Dr. Breen è passato alla NCSU nel 2002, dove occupa il posto di professore emerito della cattedra Oscar J. Fletcher di Genetica oncologica comparativa. Ha trascorso gli ultimi 15 anni concentrando la sua ricerca sulla genomica, la mappatura del genoma e gli aspetti comparativi del cancro canino e il suo team di laboratorio ha sviluppato nuovi dosaggi molecolari per l'uso diagnostico e prognostico in medicina veterinaria.

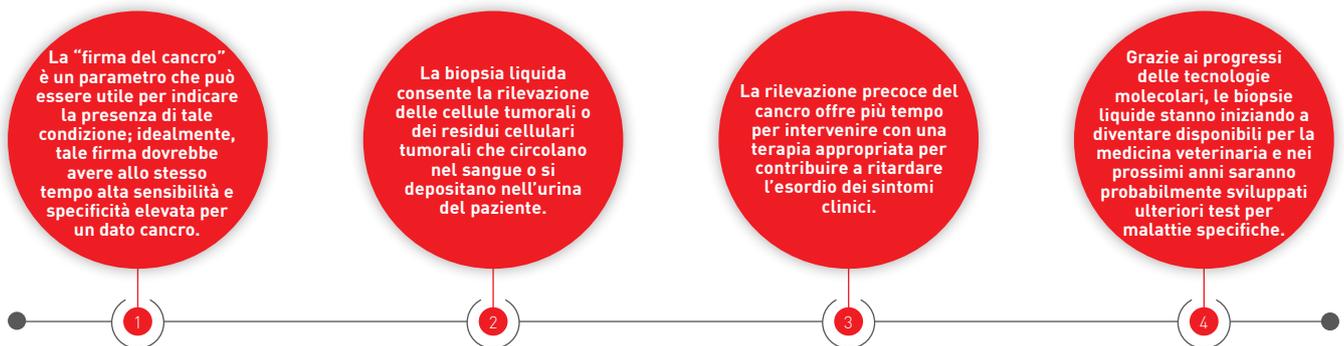


Claire Wiley,

VMD, dipl. ACVIM (SAIM), College of Veterinary Medicine, North Carolina State University (NCSU), Raleigh, NC, Stati Uniti

La Dr.ssa Wiley ha conseguito la laurea in Medicina veterinaria e ha svolto un internato a rotazione presso l'University of Pennsylvania. Dopo aver completato una residenza di Medicina interna dei piccoli animali presso la NCSU, la sua attenzione attuale si concentra sulla diagnosi e il trattamento delle malattie delle vie urinarie inferiori. Attualmente è iscritta a un programma di PhD per valutare le aberrazioni genetiche nei carcinomi uroteliali e prostatici, oltre ad avere un forte interesse per le applicazioni veterinarie delle biopsie liquide.

PUNTI CHIAVE



Introduzione

Per molti cancri, la valutazione istopatologica della biopsia di una massa sospetta è stata per molti anni lo standard di riferimento per la diagnosi. Tuttavia, la procedura bioptica stessa può essere invasiva, costosa e associata a complicanze per il paziente. Per alcuni cancri, ottenere una biopsia solida può anche aumentare il rischio di disseminare le cellule tumorali,

determinando ulteriori preoccupazioni. In un contesto clinico, può essere difficile identificare la presenza di un tumore specifico in un paziente. A completamento delle procedure invasive convenzionali, i clinici erano da tempo ansiosi di trovare alternative meno invasive, più sicure e più economiche per ottenere materiali adatti alla valutazione diagnostica. Il termine "firma del cancro" serve a descrivere un indicatore della presenza di un tumore; c'è una ricerca spasmodica

per metodi capaci di rilevare tale “firma” e tali metodi dovrebbero essere idealmente dotati di sensibilità e specificità elevate. La biopsia liquida incarna queste caratteristiche desiderabili, offrendo un metodo non invasivo per rilevare le alterazioni genetiche nei tumori attraverso l’analisi delle cellule tumorali e del DNA tumorale senza cellule (cfDNA) nel plasma e nell’urina. Questo approccio offre opportunità per migliorare la rilevazione e l’identificazione del cancro, nonché per monitorare l’impatto della terapia sui pazienti nel corso del tempo. Grazie ai rapidi progressi nella medicina umana, la biopsia liquida viene incorporata in numerosi programmi per lo sviluppo dei farmaci ed è probabile che sia rapidamente integrata nell’assistenza clinica dei pazienti umani.

●●○ Cos’è una biopsia liquida?

I tumori rilasciano cellule e DNA nei tessuti e nei fluidi circostanti, offrendo così l’opportunità di valutare la composizione genetica di un tumore solido prelevando fluidi corporei. L’uso di tali fluidi viene chiamato “biopsia liquida” (1). Sebbene la presenza di acidi nucleici senza cellule (cfNA) circolanti sia stata descritta per la prima volta quasi 70 anni fa, il significato non è stato riconosciuto fino al 1994, quando nel sangue di pazienti con cancro sono stati identificati frammenti di un oncogene pilota (un gene *RAS* mutante) (1). È ormai riconosciuto che le concentrazioni di DNA tumorale senza cellule (cfDNA) circolanti sono più elevate nei pazienti con cancro, rispetto ai soggetti di controllo normali e che la presenza di metastasi è generalmente associata a livelli ancora più elevati (2). Si ritiene che il meccanismo di rilascio degli acidi nucleici nei tessuti circostanti sia associato al rapido ricambio delle cellule e alla conseguente apoptosi (1). Tradizionalmente, il termine “biopsia liquida” era considerato associato all’identificazione di materiali biologici neoplastici (ad es., cellule tumorali circolanti o cfDNA) nel flusso ematico periferico (3). Più recentemente, la definizione si è ampliata fino a comprendere tutti i fluidi corporei, tra cui urina, fluido cerebrospinale (FCS), versamenti cavitari, e così via (3).



“Il nuovo dosaggio può rilevare anche solo dieci cellule portatrici di mutazione in un campione di urina, cosa che rende possibile identificare i casi di cancro vescicale negli stadi preclinici della malattia.”

Matthew Breen

La genotipizzazione del tumore nella medicina umana sta diventando una componente di routine degli accertamenti diagnostici dei casi. La conoscenza del carico mutazionale di una massa può contribuire a stabilire il tipo e lo stadio del cancro e l’aggressività della malattia; inoltre, può guidare la scelta del trattamento. La genotipizzazione del DNA e del cfDNA tumorali ottenuti mediante biopsia liquida offre il vantaggio di un accesso facile, rapido e sicuro al tumore, a differenza delle biopsie tradizionali o degli agoaspirati con ago sottile. Le biopsie liquide sono sempre più utilizzate per monitorare la malattia residua dei pazienti. Monitorando le alterazioni nel DNA e nel cfDNA tumorali, le terapie possono essere regolate in base alle variazioni dinamiche del profilo di mutazione. Rispetto ai metodi convenzionali, le biopsie liquide consentono di rilevare prima le recidive o le metastasi (4,5).

Sebbene la genotipizzazione del tumore sia comune, e l’uso della biopsia liquida sia in aumento nella medicina umana, entrambi gli approcci sono ancora alle fasi iniziali negli animali. Tuttavia, nella medicina veterinaria sono state descritte diverse tecniche che potrebbero essere definite di “biopsia liquida”. Queste sono: il dosaggio della mutazione *BRAF* CADETSM per la diagnosi e il monitoraggio del carcinoma a cellule transizionali (CCT) canino o del carcinoma uroteliale (CU); la preparazione del blocco di cellule per una varietà di cancri (**Figura 1**); la reazione a catena della polimerasi per il riarrangiamento del recettore per l’antigene (PARR); la citometria di flusso per le malignità linfoidi; il dosaggio HM CADETSM per la diagnosi delle malignità istiocitarie canine. Questo documento si concentrerà sul nuovo dosaggio della mutazione CADET per il CCT/CU, sebbene la **Tabella 1** fornisca brevi dettagli sulle altre tecniche.

●●● Biopsia liquida per la rilevazione dei tumori vescicali nel cane

Recentemente è stata sviluppata una nuova tecnica, il dosaggio di rilevazione della mutazione *BRAF* CADETSM, per contribuire a identificare i carcinomi a cellule transizionali e i carcinomi uroteliali nel cane, nonché il successivo monitoraggio dei tumori *BRAF* positivi. È la prima biopsia liquida al mondo per la rilevazione e il monitoraggio del cancro nella medicina veterinaria e una breve discussione sulla neoplasia vescicale canina contribuirà a chiarire il volto mutevole della diagnosi di tali tumori.

Come viene diagnosticato attualmente il CCT/CU?

Un approccio comune alla diagnosi di CCT/CU prevede che un cane con segni delle vie urinarie inferiori venga inizialmente gestito con cicli ripetuti di antimicrobici e, talvolta, con farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS), partendo dal presupposto che la causa non sia maligna. Questo approccio può durare diversi mesi, durante i quali un CCT/CU può raggiungere uno stato più avanzato, ingrandirsi, invadere eventualmente la parete muscolare e aumentare anche il rischio di metastasi. Quando trattamenti ripetuti per i segni clinici non hanno successo, il cane viene quindi valutato per la presenza di CCT/CU, generalmente tramite citologia urinaria, ecografia addominale e/o cistoscopia.

Tabella 1. Anche numerosi altri dosaggi veterinari possono essere considerati biopsie liquide, come descritto di seguito.

Blocchi di cellule

È possibile convertire un campione liquido in un blocco di cellule fissato in formalina usando varie tecniche. Queste includono l'inclusione dei campioni con HistoGel™ (15), gelfoam chirurgico (16) o agarosio (17), o prevedono l'uso di campioni liquidi inclusi in paraffina e fissati in formalina (18,19). Questo metodo ha numerosi vantaggi rispetto alla citologia tradizionale, tra cui il mantenimento dell'architettura del cluster di cellule, la potenziale applicazione dell'immunoistochimica o di altre tecniche e la conservazione dei campioni. Tuttavia i tempi per l'ottenimento dei risultati sono più lunghi rispetto alla citologia tradizionale o ad altre tecniche di biopsia liquida.

Un metodo di preparazione del blocco di cellule, il blocco di cellule da tubo capillare (CTB, Cell Tube Block), potrebbe essere applicato su scala più ampia e può essere facilmente preparato utilizzando materiali e dispositivi semplici (**Figura 1**). In breve, un semplice tubo capillare viene riempito con un campione liquido e centrifugato. Il tubo viene quindi rotto all'interfaccia liquido-solido e fissato in formalina per 24 ore. I blocchi di cellule da tubo capillare fissati in formalina vengono quindi inclusi in paraffina e possono essere successivamente trattati con varie colorazioni o con l'immunoistochimica (20).

Questo metodo si basa sul fatto che la centrifugazione provoca lo sviluppo di strati cellulari nel tubo capillare, con le cellule neoplastiche concentrate che sono incuneate tra gli eritrociti sul fondo, e i neutrofili, i macrofagi e le cellule mesoteliali all'interfaccia liquido-solido. L'assenza di cellule infiammatorie o di eritrociti nella popolazione cellulare neoplastica riduce la colorazione di fondo con l'immunoistochimica (21). Si noti che questo metodo di isolamento delle cellule neoplastiche potrebbe anche facilitare la caratterizzazione molecolare.

PARR

La reazione a catena della polimerasi per il dosaggio del riarrangiamento del recettore per l'antigene (PARR) è attualmente utilizzata per la diagnosi del linfoma o della leucemia in campioni con morfologia citologica o istologica ambigua. Può anche essere utile per la fenotipizzazione del linfoma determinando se sia a cellule B oppure a cellule T, una distinzione con implicazioni prognostiche. Questo dosaggio utilizza la PCR per valutare la clonalità dei linfociti analizzando la lunghezza dei geni dell'immunoglobulina nelle cellule B, o dei geni del recettore per le cellule T nelle cellule T (21). Sebbene la sensibilità e la specificità cambino a seconda del laboratorio, il dosaggio PARR è capace di rilevare 1 cellula neoplastica su 100 (21). Alcune malattie infettive, come ad esempio *Ehrlichia spp.*, possono anche determinare una popolazione clonale di linfociti (21) e diminuire la specificità di PARR. In uno studio recente condotto su 271 pazienti, la sensibilità e la specificità della PARR nella diagnosi del linfoma canino erano dell'86,5% e del 98,7%, rispettivamente (22).

Questo dosaggio comporta l'isolamento del DNA da cellule neoplastiche ottenute tramite campione di sangue, citologia o campione istologico. La PCR viene quindi eseguita utilizzando primer per amplificare la regione variabile del recettore per le cellule T o i geni dell'immunoglobulina. I prodotti PCR sono separati in base alle dimensioni con una varietà di metodi; la rilevazione di un prodotto PCR con dimensione omogenea suggerisce la clonalità, mentre la rilevazione di prodotti PCR multipli corrobora un processo reattivo.

Citometria di flusso

La citometria di flusso offre un altro dosaggio molecolare per diagnosticare e immunofenotipizzare il linfoma o la leucemia utilizzando campioni liquidi ottenuti da sangue, versamenti, o agoaspirati con ago sottile iniettati in terreni per coltura cellulare. A differenza della PARR, la citometria di flusso richiede una sospensione cellulare; non è possibile utilizzare vetrini per citologia o campioni fissati in formalina e inclusi in paraffina. Utilizzando specifiche lunghezze d'onda luminose per eccitare anticorpi/proteine coniugati con un fluoroforo, assieme a sofisticati dispositivi di imaging per rilevare le emissioni della fluorescenza, il dosaggio può determinare varie caratteristiche cellulari. Per valutare l'espressione della proteina cellulare di superficie, le cellule sono colorate con anticorpi coniugati a proteine fluorescenti e la classificazione delle cellule si basa sulla loro relativa fluorescenza. Mentre alcune proteine, come ad esempio CD45, sono espresse sulla superficie di tutte le cellule linfoidi, altre sono tipicamente limitate a sottopopolazioni di cellule T (ad es., CD3) e di cellule B (ad es., CD79a, CD20). L'uso di questi reagenti più specifici consente di identificare la proporzione di ogni sottotipo in una popolazione di cellule.

Uno studio ha confrontato la PARR con la citometria di flusso per la diagnosi del linfoma, come pure l'immunofenotipo, come determinato dall'immunoistochimica di biopsie linfonodali estese (23). In questo studio, sia la PARR, sia la citometria di flusso avevano specificità del 100%, ma la citometria di flusso aveva una sensibilità maggiore rispetto alla PARR (98% contro 74%). Questo studio suggerisce che la citometria di flusso potrebbe essere superiore alla PARR per la diagnosi del linfoma nei linfonodi ingrossati, ma poiché la citometria di flusso richiede un campione fresco, la PARR ha un'ovvia utilità nel caso di campioni non adatti alla citometria di flusso.

Dosaggio HM CADETSM

Il dosaggio HM CADETSM è un nuovo test molecolare per distinguere le malignità istiocitarie (HM, Histiocytic Malignancies) da altre simili neoplasie rotondocellulari. Alcuni studi hanno mostrato che ben il 70% dei casi inizialmente identificati come HM potrebbe aver ricevuto una classificazione errata (24, 25). La distinzione tra HM e tumori plasmacellulari può essere particolarmente difficile e questa difficoltà potrebbe riguardare anche il linfoma nei preparati citologici di routine. Per il dosaggio possono essere utilizzati piccoli campioni con arricchimento per le cellule tumorali, ad esempio versamenti o agoaspirati con ago sottile, oppure campioni istologici. Il dosaggio determina le quantità di copie di una specifica sequenza di DNA presenti nelle cellule tumorali dei casi di HM, dove una riduzione nel numero di copie presenti è coerente con una diagnosi di HM.

Il dosaggio è stato convalidato su campioni provenienti da oltre 500 casi unici, con malattia verificata, di cancro canino da HM e molti altri tipi di tumore che possono assomigliare a HM, tra cui linfoma, tumori plasmacellulari, emangiosarcoma, melanoma amelanotico e mastocitoma. I risultati dimostrano che questa firma genetica è un marcatore molto sensibile e preciso per la distinzione tra HM canino e questi altri tipi di tumore, con una sensibilità del 78% e una specificità del 95%.

Figura 1. Panoramica schematica della tecnica del blocco di cellule da tubo capillare (CTB).



Quando viene rilevata una massa, si raccomanda una biopsia per la valutazione istopatologica al fine di confermare la diagnosi di CCT/CU ed eventualmente indicare l'invasione muscolare.

Per valutare le metastasi possono essere eseguite ulteriori tecniche di imaging e valutazioni dei linfonodi locali. Al momento della diagnosi, oltre il 90% dei cani presenta un CCT/CU canino invasivo di grado medio-alto e in circa il 20% dei casi la malattia si è già diffusa ad altre parti del corpo (6,7). La predominanza elevata dei tumori avanzati potrebbe riflettere il lungo tempo impiegato per emettere la diagnosi nella maggior parte dei casi.

Come viene attualmente trattato il CCT/CU?

Una volta che venga finalmente diagnosticato, il trattamento del CCT/CU canino comprende più comunemente l'uso della chemioterapia. Quando si utilizza la monoterapia, la proporzione di cani che entra in remissione è generalmente bassa (< 20%), sebbene questo valore aumenti al 35-50% associando la chemioterapia agli inibitori della cicloossigenasi. I cani trattati con FANS in monoterapia hanno un tempo di sopravvivenza medio di circa 6-7 mesi, mentre una combinazione della chemioterapia citotossica (tipicamente mitoxantrone) e un FANS fornisce tempi di sopravvivenza medi più vicini ai 10 mesi. Mentre, meno spesso dell'intervento farmacologico, vengono utilizzati anche la chirurgia e la radioterapia. Dati recenti suggeriscono che l'aggiunta di un ciclo completo di radioterapia a intensità modulata e guidata dall'imaging è associata a un tasso di risposta del 60% e un tempo di sopravvivenza medio > 21 mesi (8).

Qual è la sfida nella diagnosi di CCT/CU?

Per confermare la diagnosi di CCT/CU canino, si utilizzano le cellule epiteliali anormali presenti nel sedimento urinario, o in campioni ottenuti mediante cateterizzazione traumatica, lavaggio prostatico e/o agoaspirazione con ago sottile (9). Tuttavia, l'analisi citologica delle cellule epiteliali può essere fuorviante. Ad esempio, le cellule epiteliali benigne possono assomigliare alle cellule maligne, date le loro variazioni nella dimensione cellulare (10). L'agoaspirazione con ago sottile del tessuto tumorale comporta il rischio di disseminare cellule tumorali lungo il tragitto dell'ago (11). Attualmente, la diagnosi clinica del CCT/CU canino richiede accertamenti diagnostici completi, tra cui conte ematiche complete, profilo biochimico serico, analisi dell'urina, imaging diagnostico, esame da parte di un patologo clinico delle cellule tumorali e istopatologia di un campione biotico.

Dato che la maggior parte dei CCT/CU rimane senza diagnosi fino a uno stadio clinico avanzato, la diagnosi è accompagnata da una prognosi riservata o sfavorevole. La rilevazione precoce del tumore nel decorso della malattia consentirebbe un intervento appropriato anticipato, cosa che dovrebbe migliorare la qualità di vita e prolungare la sopravvivenza. Secondo un sondaggio condotto su 400 tirocinanti e specialisti riconosciuti dell'American College of Veterinary Internal Medicine, una necessità insoddisfatta comunemente evidenziata era la disponibilità di un test diagnostico affidabile e non invasivo per la rilevazione del CCT/CU canino (articolo in preparazione).

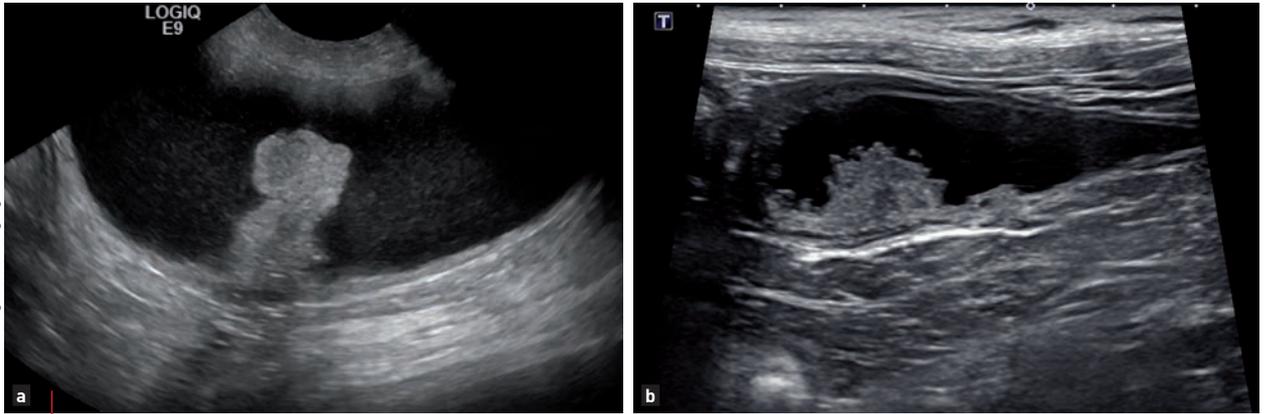


Figura 2. Sia la cistite polipoide, sia il CCT/CU possono avere aspetti ecografici simili. Le **Figure 2a e 2b** illustrano le masse vescicali ottenute da due cagne anziane sterilizzate con disuria, ematuria, piuria e batteriuria. Entrambe le immagini mostrano masse lobulate vicino all'apice della vescica. **(a)** Nell'urina di questo cane non è stata rilevata la mutazione *BRAF* e la successiva istopatologia della massa è stata coerente con un polipo benigno. Nel secondo cane **(b)**, l'urina è risultata positiva per la mutazione *BRAF* e la citologia è stata coerente con il CCT/CU. Se si rileva una massa nelle vie urinarie, si raccomandano tecniche diagnostiche avanzate come l'istopatologia o il dosaggio di rilevazione della mutazione *BRAF* CADETSM per distinguere le lesioni benigne dal carcinoma.

Quali sono le nuove opportunità per la rilevazione precoce del CCT/CU canino?

In due recenti studi indipendenti, condotti da gruppi di ricerca presso NCSU (12) e National Institutes of Health (NIH) (13), è stata rilevata una singola mutazione nell'esone 15 del gene *BRAF* canino in campioni biotipici tumorali di CCT/CU canino con malattia verificata. Questa singola mutazione provoca una variazione aminoacidica (sostituzione della valina con acido glutammico) nella proteina *BRAF* delle cellule tumorali. Tale variazione, situata nel segmento di attivazione del dominio della chinasi del gene, si traduce in una proteina mutata con attività chinasi aumentata che segnala la proliferazione cellulare, portando allo sviluppo di un tumore. La mutazione *BRAF* non è stata rilevata nei tessuti vescicali non neoplastici, compresi tessuti infiammatori e polipi della vescica (12). Quando un cane ha un CCT/CU, le cellule della massa, che vanno dalle primissime alle ultime fasi nel corso della malattia, vengono disperse nell'urina (**Figura 2**). Il team del NCSU ha sviluppato un test rapido e molto sensibile per rilevare la presenza di questa mutazione in queste cellule (14), che ha portato a sua volta al miglioramento e alla commercializzazione della prima biopsia liquida al mondo per un cancro veterinario, ovvero il dosaggio di rilevazione della mutazione *BRAF* CADET^{SM*}, come descritto nella **Figura 3**.

La sensibilità complessiva del dosaggio per rilevare il CCT/CU canino in un campione di urina per minzione spontanea è dell'85%. Mentre altri cancri canini hanno la stessa mutazione *BRAF* con una frequenza molto bassa (12), questi non sono ancora stati rilevati nei campioni di urina di tali pazienti. La specificità per rilevare un CCT/CU canino è attualmente > 99%. È importante sottolineare che il dosaggio non è influenzato dalla presenza di batteriuria o ematuria,

quindi fornisce un mezzo molto efficace per rilevare la presenza di cellule maligne di CCT/CU dove altri dosaggi non hanno successo.



Come può aiutare i veterinari la biopsia liquida?

Ausilio alla diagnosi

Grazie ai livelli elevati di sensibilità e specificità, questa nuova biopsia liquida è stata ampiamente adottata negli Stati Uniti come ausilio alla diagnosi del CCT/CU canino. Il dosaggio si basa sull'identificazione e la quantificazione degli alleli *BRAF* wild-type e mutati recuperati dalle cellule esfoliate nell'urina durante la minzione. Un confronto tra i livelli degli alleli *BRAF* wild-type e mutati ha fornito una misura quantitativa delle cellule recuperate dai campioni di urina. È importante sottolineare che, in tutti i casi che



“Man mano che aumenta la mole dei dati disponibili, i dosaggi con biopsia liquida, specialmente quelli con specificità e sensibilità elevate, potrebbero finire per superare le biopsie tissutali convenzionali.”

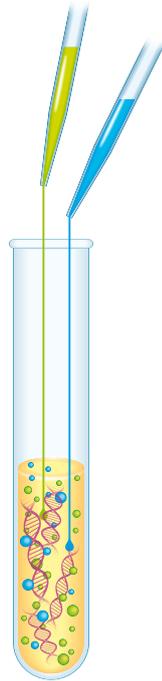
Claire Wiley

* Le serie di dosaggi CADETSM è stata sviluppata e commercializzata da Sentinel Biomedical (www.SentinelBiomedical.com).

Passaggio 1.
Isolamento
del DNA dalle
cellule presenti
nell'urina.



Passaggio 2. Aggiunta di due
marcatori fluorescenti al campione
di DNA urinario. Un marcatore,
marcato con un colorante
fluorescente verde, corrisponde
alla sequenza genica *BRAF*
"wild-type" (normale non
mutante). L'altro, contrassegnato
con un colorante blu, corrisponde
solo alla sequenza *BRAF* mutante.



Passaggio 3. Questa miscela
viene quindi suddivisa in ~
20.000 goccioline e il DNA
urinario in ogni goccia può
legarsi a uno dei marcatori
fluorescenti. Le goccioline
contenenti DNA urinario che si
lega alla sequenza genica *BRAF*
wild-type assumeranno una
colorazione verde, mentre
quelle contenenti DNA *BRAF*
mutante appaiono di colore blu.



Passaggio 4. Una volta completato il legame,
ogni gocciolina viene rimossa dalla miscela e
classificata in modo indipendente in base al
colore; le goccioline verdi sono classificate come
wild-type, mentre le goccioline blu sono valutate
come *BRAF* mutanti. I risultati servono per
calcolare la soglia di rilevazione e determinare
se nell'urina è presente un *BRAF* mutante. Se si
rileva una mutazione, è possibile calcolare la
proporzione relativa delle cellule mutate
disperse nell'urina.

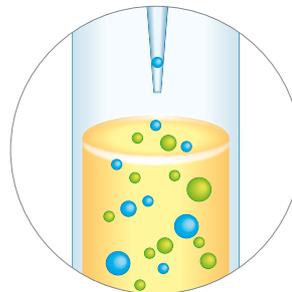


Figura 3. Rappresentazione schematica dei passaggi coinvolti, dal prelievo del campione fino ai risultati del dosaggio di rilevazione della mutazione *BRAF* CADETSM. Le cellule disperse nell'urina vengono valutate per la presenza e le proporzioni delle cellule che ospitano l'alterazione di una singola base nell'esone 15 del gene *BRAF* canino. Dato che questa mutazione è presente nell'85% dei cani con CCT/CU confermato, e non è stata rilevata nell'urina dei cani con lesioni non maligne delle vie urinarie, il dosaggio ha una specificità > 99% per la presenza di un CCT/CU.

hanno ricevuto la biopsia di una massa visibile per la valutazione patologica, esiste una correlazione del 100% tra la presenza di una mutazione *BRAF* rilevata nell'urina per minzione spontanea e la successiva conferma del CCT/CU tramite biopsia. Al contrario, questo test non ha dato falsi positivi; in studi coinvolgenti centinaia di soggetti di controllo, nei campioni dei cani dei quali era stata dimostrata l'assenza di CCT/CU non è stata rilevata alcuna mutazione *BRAF*. Tuttavia, il test non indica la sede del CCT/CU; l'imaging della regione contribuirà a identificare la sede tumorale e potrebbe contribuire alle decisioni relative al trattamento.

Monitoraggio mediante biopsie liquide seriali

Una volta che un cane ha ricevuto una diagnosi di CCT/CU canino *BRAF* positivo, il dosaggio può anche essere utile per monitorare nel corso del tempo i livelli

mutevoli del carico mutazionale durante il trattamento. I primi dati provvisori hanno mostrato che, mentre i FANS come il piroxicam possono avere un impatto minore nel ridurre il livello della mutazione *BRAF* diffusa nell'urina, gli agenti chemioterapici convenzionali, come ad esempio il mitoxantrone, potrebbero essere associati a una riduzione progressiva e considerevole nei livelli della mutazione *BRAF* nel corso del trattamento (articolo in preparazione). L'ecografia eseguita in tempi predefiniti di dozzine di casi ha rivelato una riduzione progressiva nelle dimensioni della massa vescicale/dello spessore parietale, con attenuazione dei segni clinici. Questi dati indicano che le grandi variazioni nel livello mutazionale *BRAF* rilevate nell'urina con il passare del tempo possono essere utili come indicatore di variazione delle dimensioni e della proliferazione del tumore. Viceversa, un marcato aumento nei livelli della mutazione *BRAF* durante il trattamento potrebbe suggerire che la proliferazione del tumore non viene influenzata dal

trattamento. Per i pazienti dove il livello della mutazione *BRAF* è stato inizialmente ridotto in modo considerevole durante il trattamento, per poi mostrare un aumento successivo, ciò può suggerire un incremento della proliferazione, indicativo di ricaduta. Sebbene siano necessarie ulteriori ricerche per confermare questi riscontri, questi dati combinati forniscono una visione iniziale dell'uso di questa biopsia liquida come mezzo per monitorare la malattia residua nel paziente, sia durante il trattamento, sia nella remissione.

Screening delle razze ad alto rischio

Il nuovo dosaggio può rilevare anche solo dieci cellule portatrici di mutazione in un campione di urina, cosa che rende possibile identificare i casi di CCT/CU negli stadi molto iniziali e preclinici della malattia. Questa è la caratteristica tipica di un dosaggio di screening precoce efficace; in altre parole, rilevare la presenza di un cancro emergente il più presto possibile nel corso della malattia fornisce più tempo per trovare l'intervento più idoneo a combattere la malattia. Il dosaggio viene ora utilizzato per sottoporre a screening l'urina dei cani delle razze a rischio aumentato di sviluppare un CCT/CU (ad es., Beagle, Scottish terrier, Cane da pastore scozzese Shetland, West Highland White terrier). Ciò spinge i proprietari dei cani positivi con livelli molto bassi a rivolgersi ai veterinari e cercare il trattamento più appropriato all'inizio del decorso della malattia, nella speranza di migliorare sia la qualità, sia la durata della vita dei loro cani.

Gli autori desiderano ringraziare i seguenti autori

che hanno contribuito: Shelly Vaden DVM, PhD, Dipl. ACVIM, Professor of Internal Medicine, College of Veterinary Medicine, NCSU, Raleigh, NC e Cindy Cole DVM, PhD, Dipl. ACVCP, General Manager, Wisdom Health™, Vancouver, WA

CONCLUSIONE

Grazie ai nuovi progressi nelle tecnologie molecolari, le biopsie liquide stanno iniziando a diventare disponibili per la medicina veterinaria. Tali metodi sono progettati per essere complementari ad altri strumenti diagnostici; tuttavia, man mano che aumenta la mole dei dati disponibili, è possibile che i dosaggi con biopsia liquida, specialmente quelli con specificità e sensibilità particolarmente elevate, possano finire per superare le biopsie tissutali convenzionali. La biopsia liquida viene anche utilizzata come strumento di monitoraggio per valutare le variazioni nel livello delle cellule maligne, che possono essere un indicatore dell'efficacia della terapia, nonché un mezzo per identificare la ricaduta imminente. Oltre a facilitare la diagnosi, si prevede che, come nella medicina umana, questi nuovi test molecolari saranno presto disponibili per guidare le scelte terapeutiche in medicina veterinaria.



RIFERIMENTI

1. Siravegna G and Bardelli A. Genotyping cell-free tumor DNA in the blood to detect residual disease and drug resistance. *Genome Biol* 2014;15(8):449.
2. Diaz LA Jr. and Bardelli A. Liquid biopsies: genotyping circulating tumor DNA. *J Clin Oncol* 2014;32(6):579-586.
3. Neoh KH, Hassan AA, Chen A, et al. Rethinking liquid biopsy: microfluidic assays for mobile tumor cells in human body fluids. *Biomaterials* 2018;150:112-124.
4. Wimberger P, Roth C, Pantel K, et al. Impact of platinum-based chemotherapy on circulating nucleic acid levels, protease activities in blood and disseminated tumor cells in bone marrow of ovarian cancer patients. *Int J Cancer* 2011;128(11):2572-2580.
5. Beaver JA, Jelovac D, Balukrishna S, et al. Detection of cancer DNA in plasma of patients with early-stage breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(10):2643-2650.
6. Knapp DW, Glickman NW, Denicola DB, et al. Naturally occurring canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder; a relevant model of human invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 2000;5(2):47-59.
7. Patrick D, Fitzgerald S, Sesterhenn A, et al. Classification of canine urinary bladder urothelial tumours based on the World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification. *J Comp Pathol* 2006;135:190-199.
8. Nolan MW, Kogan L, Griffin LR, et al. Intensity-modulated and image-guided radiation therapy for treatment of genitourinary carcinomas in dogs. *J Vet Intern Med* 2012;26(4):987-995.
9. Knapp D, McMillan S. Tumors of the urinary system. In; *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Withrow SJ (ed). St. Louis, Elsevier-Saunders 5th ed. 2013:572-582.
10. Zinkl J. Examination of the urinary sediment. In; *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. Cowell R, Meinkoth J, Denicola D (eds). Maryland Heights, MO, Mosby 2007;350-368.
11. Higuchi T, Burcham GN, Childress MO, et al. Characterization and treatment of transitional cell carcinoma of the abdominal wall in dogs: 24 cases (1985-2010). *J Am Vet Med Assoc* 2013;242(4):499-506.
12. Mochizuki H, Kennedy K, Shapiro SG, et al. *BRAF* mutations in canine cancers. *PLoS One* 2015;10(6):e0129534.
13. Decker B, Parker HG, Dhawan D, et al. Homologous mutation to human *BRAF* V600E is common in naturally occurring canine bladder cancer - evidence for a relevant model system and urine-based diagnostic test. *Mol Cancer Res* 2015;13(6):993-1002.
14. Mochizuki H, Shapiro SG, Breen M. Detection of *BRAF* mutation in urine DNA as a molecular diagnostic for canine urothelial and prostatic carcinoma. *PLoS One* 2015;10(12):e0144170.
15. Joiner KS, Spangler EA. Evaluation of HistoGel-embedded specimens for use in veterinary diagnostic pathology. *J Vet Diagn Invest* 2012;24(4):710-715.
16. Wallace KA, Goldschmidt MH, Patel RT. Converting fluid-based cytologic specimens to histologic specimens for immunohistochemistry. *Vet Clin Pathol* 2015;44(2):303-309.
17. Zannoni DS, Grandi F, Cagnini DQ, et al. Agarose cell block technique as a complementary method in the diagnosis of fungal osteomyelitis in a dog. *Open Vet J* 2012;2(1):19-22.
18. Fernandes PJ, Modiano JF, Wojcieszyn J, et al. Use of the Cell-Dyn 3500 to predict leukemic cell lineage in peripheral blood of dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2002;31(4):167-182.
19. Taylor BE, Leibman NF, Luong R, et al. Detection of carcinoma micrometastases in bone marrow of dogs and cats using conventional and cell block cytology. *Vet Clin Pathol* 2013;42(1):85-91.
20. Marcos R, Santos M, Marrinhas C, et al. Cell tube block: a new technique to produce cell blocks from fluid cytology samples. *Vet Clin Pathol* 2017;46(1):195-201.
21. Burnett RC, Vernau W, Modiano JF, et al. Diagnosis of canine lymphoid neoplasia using clonal rearrangements of antigen receptor genes. *Vet Pathol* 2003;40(1):32-41.
22. Waugh EM, Gallagher A, Haining H, et al. Optimisation and validation of a PCR for antigen receptor rearrangement (PARR) assay to detect clonality in canine lymphoid malignancies. *Vet Immunol Immunopathol* 2016;182:115-124.
23. Thalheim L, Williams LE, Borst LB, et al. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. *J Vet Intern Med* 2013;27(6):1509-1516.
24. Pazdzior-Czapula K, Otrocka-Domagala I, Rotkiewicz T, et al. Cytomorphometry of canine cutaneous histiocytoma. *Pol J Vet Sci* 2014;17(3):413-420.
25. Dervisis NG, Kiupel M, Qin Q, et al. Clinical prognostic factors in canine histiocytic sarcoma. *Vet Comp Oncol* 2017;15(4):1171-1180.

PREDISPOSIZIONI DI RAZZA PER L'UROLITIASI

Gli uroliti sono un problema relativamente comune nei gatti e nei cani con malattia delle vie urinarie inferiori. Comprendere la prevalenza dei diversi tipi di uroliti, così come le predisposizioni di razza e di sesso, può aiutare i veterinari a prendere le decisioni e fornire le raccomandazioni cliniche più appropriate quando gestiscono i loro pazienti.

Questo breve rapporto riassume i riscontri chiave ricavati dai dati associati a tutti i calcoli vescicali del cane e del gatto analizzati presso il Canadian Veterinary Urolith Center tra il 1° febbraio 1998 e il 30 novembre 2014. Dei 95.857 uroliti analizzati, le presentazioni nel cane rappresentavano il 78,9% (75.674), mentre nel gatto erano il 21,1% (20.183). La composizione dell'urolita è stata determinata utilizzando un metodo analitico quantitativo. Di seguito sono segnalati i riscontri significativi, tra cui la prevalenza dei vari tipi di uroliti, le tendenze nella proporzione di ogni tipo di urolita e le predisposizioni di razza e di sesso (1,2). Lo studio ha

identificato le razze a rischio aumentato rispetto a una popolazione di riferimento, invece che l'associazione tra razza e urolitiasi. La percentuale accanto a ogni razza è la proporzione di uroliti di questo tipo di minerale tra gli uroliti presentati da questa razza.

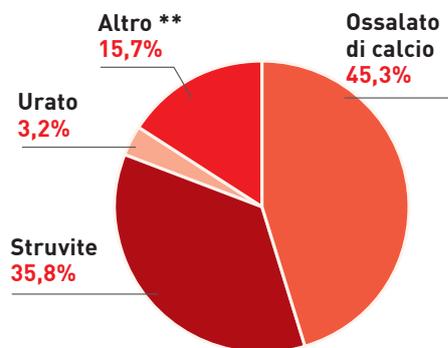
In molte razze canine sono state identificate mutazioni genetiche associate all'urolitiasi da cistina, urato e xantina, il che spiega alcune delle predisposizioni di razza osservate (3-5). Negli Schnauzer nani è stato identificato un potenziale gene di predisposizione all'ossalato di calcio e fattori genetici simili potrebbero spiegare le predisposizioni all'ossalato di calcio in altre razze (6). Recentemente sono state identificate varianti genetiche che causano cistinuria nei gatti (7) e in questa specie si sospettano determinanti genetici (non ancora identificati) che predispongono ad altri tipi di uroliti; in questo settore sono quindi necessarie ulteriori ricerche.



Tendenze identificate nella composizione dell'urolita nel periodo 1998-2014:

- Ossalato di calcio: ↑
- Struvite: ↓
- Urato: ↓
- Cistina: ↑
- Misto: ↑
- Silice: ↓
- Fosfato di calcio carbonato: ↓

(Nota: sin dal 2014, la cistina ha superato le presentazioni di urato nel cane).



Il grafico mostra la percentuale media per ogni tipo di urolita analizzato tra il 1998 e il 2014.

Lo studio ha identificato associazioni di sesso con determinati tipi di uroliti, come segue:

- **Maschi:** ossalato di calcio, urato, cistina, silice, fosfato di calcio apatite.
- **Femmine:** struvite, fosfato di calcio carbonato, composto.

Il 65% delle presentazioni di uroliti canini proveniva dalle seguenti razze:

- Razza mista
- Shih tzu
- Schnauzer nano
- Bichon Frisé

Razze canine a rischio aumentato di urolitiasi da cistina *:

- Scottish deerhound 88%
- Terranova 56%
- Mastino 52%
- Basenji 47%
- Whippet 44%
- Bulldog francese 32%
- Alano 27%
- Pit Bull 26%
- Bulldog 24%
- Bull Mastiff 24%
- Bulldog inglese 21%
- Zwergpinscher 6,3%
- Bassotto 4%
- Chihuahua 3,5%
- Rispetto alla razza mista ... 0,32%

Doreen M. Houston,

DVM, DVSc, Dipl. ACVIM (Internal Medicine),
Doreen Houston Consulting,
Guelph, Ontario, Canada

La Dr.ssa Houston si è laureata presso l'Ontario Veterinary College nel 1980 e dopo aver trascorso parecchi anni in vari settori della professione, struttura privata, università e industria di pet food, è andata in pensione nel 2011. Da allora continua a tenere conferenze e fornire consulenze di medicina interna attraverso la sua società di consulenza.



Anne-Marie Germain,

BSc, DVM, Royal Canin Canada,
Guelph, Ontario, Canada

La Dr.ssa Germain si è laureata presso l'Ontario Veterinary College nel 1999 ed è entrata in Royal Canin nel 2008 dopo 9 anni di lavoro in una struttura privata. Nel suo ruolo di veterinaria responsabile dell'assistenza tecnica, lavora a stretto contatto con il Canadian Veterinary Urolith Centre e una delle sue passioni è la gestione della malattia delle vie urinarie inferiori nel cane e nel gatto.

Razze canine a rischio aumentato di urolitiasi da struvite *:

L'84% delle razze identificate a rischio è costituito da cani di taglia da media a gigante.

(Nota: gli uroliti di struvite nei cani sono più spesso di origine infettiva)

• Cane di San Bernardo	92%	• Pastore tedesco	67%
• Labrador retriever	81%	• Bovaro del Bernese	64%
• Golden retriever	77%	• Border collie	64%
• Rottweiler	72%	• Australian shepherd	62%
• Chow-Chow	69%	• Beagle	57%
• Scottish terrier	69%	• Carlino	55%
• Corgi	68%	• Pechinese	54%
• Boxer	68%	• Shih tzu	46%
• Cocker spaniel	67%	Rispetto alla razza mista....	42%

Razze canine a rischio aumentato di urolitiasi da ossalato di calcio *:

Il 74% delle razze identificate a rischio è costituito da cani di piccola taglia

• Wire Fox terrier	81%
• Fox terrier	79%
• Zwergpinscher	73%
• Volpino di Pomerania	72%
• Schnauzer	71%
• Maltese	71%
• Cairn terrier	71%
• Chihuahua	68%
• Càò de agua	69%
• Papillon	69%
• Kerry Blue terrier	69%
• Schnauzer nano	65%
• Dobermann pinscher	64%
• Lhasa Apso	62%
• Yorkshire terrier	62%
• Jack Russell terrier	60%
• Barbone standard	59%
• Barbone nano	57%
• Boston terrier	54%
• Keeshond	54%
• Bichon havanais	50%
• Cavalier King Charles spaniel	47%
• Bichon Frisé	43,4%
Rispetto alla razza mista ..	41%

Razze canine a rischio aumentato di urolitiasi da urati *:

• Dalmata	94%	• Carlino	3,4%
• Bulldog americano	72%	• Chihuahua	3,2%
• Terrier nero russo	62%	• Jack Russell terrier	3,2%
• Schnauzer gigante	43%	• Pechinese	3,1%
• Bulldog inglese	37%	• Shih tzu	2,5%
• Bulldog	37%	• Bassotto	2,2%
• Pit bull	34%	• Schnauzer nano	1,8%
• Yorkshire terrier	6,0%	Rispetto alla razza mista..	1,2%
• Bichon havanais	4,2%		



L'87% delle presentazioni di uroliti felini proveniva dalle seguenti razze:

- Domestico a pelo corto
- Domestico a pelo medio
- Domestico a pelo lungo

Lo studio ha identificato associazioni di sesso con determinati tipi di uroliti, come segue:

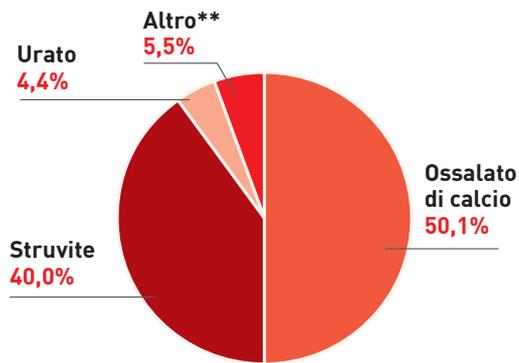
- **Maschi:** ossalato di calcio, urato, fosfato di calcio apatite, calcoli di sangue secco solidificato.
- **Femmine:** struvite.

Tendenze identificate nella composizione dell'urolita nel periodo 1998-2014:

- Ossalato di calcio: stabile
- Struvite: ↓
- Urato: ↓
- Composto e misto: ↑

Razze feline a rischio aumentato di urolitiasi da ossalato di calcio*:

• Tonkinese	83%
• Burmese	80%
• Himalayano	69%
• Devon Rex	69%
• Persiano	68%
• Siamese	59%
Rispetto al Domestico a pelo corto	49%



Il grafico mostra la percentuale media per ogni tipo di urolita analizzato tra il 1998 e il 2014.

Razze feline a rischio aumentato di urolitiasi da urati*:

• Egyptian Mau	80%
• Ocicat	44%
• Birmano	29%
• Siamese	16%
Rispetto al Domestico a pelo corto ...	4,2%

Razze feline a rischio aumentato di urolitiasi da struvite (fosfato ammoniomagnesiaco esaidrato)*:

• Domestico a pelo lungo	48%
Rispetto al Domestico a pelo corto.....	41%



RIFERIMENTI

* La % accanto a ogni razza è la % di uroliti di questo tipo di minerale tra gli uroliti presentati da questa razza.

** La voce Altro include: cistina, xantina, silice, fosfato di calcio, potassio magnesio pirofosfato, calcoli di sangue secco solidificato, composto, misto.

1. Houston DM, Vanstone NP, Moore AEP, *et al.* Evaluation of 21,426 feline bladder urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre (1998-2014). *Can Vet J* 2016;57:196-201. Open access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713001/>
2. Houston DM, Weese HE, Vanstone NP, *et al.* Analysis of canine urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre, 1998-2014. *Can Vet J* 2017;58:45-50. Open access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5157737/>
3. Furrow E, Tate N, Minor K, *et al.* Three diverse mutations underlying canine xanthine urolithiasis. *J Vet Intern Med* 2016;30(4):1537.
4. Brons A-K, Henthorn PS, Raj K, *et al.* *SLC3A1* and *SLC7A9* mutations in autosomal recessive or dominant canine cystinuria: A new classification system. *J Vet Intern Med* 2013;27(6):1400-1408.
5. Bannasch D, Safra N, Young A, *et al.* Mutations in the *SLC2A9* gene cause hyperuricosuria and hyperuricemia in the dog. *PLoS Genet* 2008;4(11):e1000246.
6. Furrow E, Lulich JP, Mickelson JP, *et al.* Metabolic and genetic determinants of calcium oxalate urolithiasis in dogs. *J Vet Intern Med* 2014;28(4):1365.
7. Mizukami K, Raj K, Osborne C, *et al.* Cystinuria associated with different *SLC7A9* gene variants in the cat. *PLoS One* 2016;11(7):e0159247.

L'APPROCCIO NUTRIZIONALE INNOVATIVO PER LA DIAGNOSI DI REAZIONE AVVERSA AL CIBO IN CANI E GATTI

Più basso è il potenziale allergenico
dell'alimento prescritto,
più affidabile sarà la diagnosi.¹
ROYAL CANIN® Anallergenic è ideale
nella dieta ad eliminazione
e nei recidivanti.^{2,3}



INCREDIBILE IN OGNI DETTAGLIO

NEL 97% DEI CASI^{1,2*} UNA RIDUZIONE DEL PESO CORPOREO

INIZIA CON UNA CONVERSAZIONE SULLA RICHIESTA INSISTENTE DI CIBO DELL'ANIMALE

Resistere a un animale domestico che richiede insistentemente cibo è certamente difficile e il pericolo di sovralimentazione è sempre in agguato.^{3,4}

Il consiglio è quello di confrontarsi con i proprietari sulla tendenza degli animali a richiedere cibo extra, incoraggiandoli ad attuare un programma alimentare mirato e nuove strategie di ricompensa.

SATIETY di ROYAL CANIN aiuta a controllare** le richieste insistenti di cibo da parte degli animali nell'82% dei casi durante il programma di perdita di peso, aumentando il senso di sazietà e la soddisfazione generale del proprietario. Il 97% degli animali ha perso peso nell'arco di 3 mesi.^{1,2}



INCREDIBILE IN OGNI DETTAGLIO

*A completamento di un programma di perdita di peso della durata di 3 mesi.

**Diminuzione o stabilizzazione delle richieste di cibo extra (frequenza).

Bibliografia: 1. Flanagan J *et al.* Success of a weight loss plan for overweight dogs: the results of an international weight loss study. PLoS One 2017;12(9):e0184199. 2. Hours MA *et al.* Factors affecting weight loss in client owned cats and dogs: data from an international weight loss study. Proc of 16th Annual AAVN Clinical Nutrition and Research Symposium; Denver (USA); June 8, 2016. 3. Murphy M. Obesity treatment. Environment and behaviour modification. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2016;44:883-898. 4. Kienzle *et al.* Human-animal relationship of owners of normal and overweight cats. J Nutr 2006;136:1947S-1950S.

© ROYAL CANIN® SAS 2018. All rights reserved.