



Congresso Nazionale dell'Associazione Patologi Italiani Veterinari(A.P.I.V.)

IL RUOLO DELLA PATOLOGIA COMPARATA IN MEDICINA

Messina, 27 - 28 maggio 2001

CON IL PATROCINIO DI:

Presidenza della Provincia Regionale di Messina

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MESSINA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Facoltà di Medicina Veterinaria

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI

Facoltà di Medicina Veterinaria

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia

'A. Mirri', Palermo

Scuole di Specializzazione in

Malattie infettive, profilassi e polizia veterinaria

Tecnologia e patologia delle specie avicole, del coniglio e della selvaggina

Ordine dei Medici Veterinari delle Province Siciliane

VOLUME DEGLI ATTI



Congresso Nazionale dell'Associazione Patologi Italiani Veterinari(A.P.I.V.)

IL RUOLO DELLA PATOLOGIA COMPARATA IN MEDICINA

Messina, 27 - 28 maggio 2001

VOLUME DEGLI ATTI

INDICE DEI CONTENUTI

Pagina

- 7 Sindromi paraneoplastiche in dermatologia veterinaria
F. Abramo, M. Corazza, C. Cantile, A. Poli
- 8 Indagini sulla leishmaniosi felina
A. Poli, F. Abramo, G. Guidi, S. Leva, M. Gramiccia, F. Mancianti
- 9 La citodiagnostica agoaspirativa nelle patologie epatiche del cane edel gatto. Confronto citologia/istologica in 90 casi consecutivi
G. Bettini, M. Morini, L. Mandrioli, G. Militerno
- 10 Espressioni delle Uroplachine nei tumori uroteliali di cane
G. Borzacchiello, V. Ambrosio, P. Galati, F. Roperto
- 11 Diagnosi di un caso di leucemia acuta nel gatto mediante analisi morfologica e immunofenotipica
S. Comazzi, S. Paltrinieri, A. Giordano, P. Roccabianca
- 13 Seminoma del cane: indagini istologiche ed immunohistochimiche
V. Grieco, C. Capelli, M. Finazzi
- 15 Indagine retrospettiva sulla frequenza dell'osteosarcoma in campioni biopsici e chirurgici
L. Leonardi, C. Brachelente, L. Mechelli
- 17 Osservazioni anatomo-istopatologiche su un caso di mixosarcoma valvolare cardiaco in un cane
E. Lepri, M. Sforza, F. Porciello, G. Vitellozzi
- 19 Morfometria nucleare nei carcinomi a cellule squamose del cane: correlazione con il grado di differenziazione
P. Maiolino, S. Papparella, B. Restucci
- 20 Criptococcoma cerebrale in un gatto
L. Mandrioli, G. Bettini, C. Benazzi, L. Della Salda, H.E. Jensen
- 21 Su un particolare caso di diprosopiasia in un vitello
F. Marino, A. Caruso, G. Mazzullo
- 22 Livelli residuali di sulfonamidici nel latte bovino di vari allevamenti della Calabria
D. Martino, F. Giofre, M. Calo, P. Licata, F. Naccari

- 23 Cheilo-palatoschisi in cuccioli di cane Corso
G. Mazzullo, B. Macri
- 24 Raro caso di miopatia mitocondriale nel cane
O. Paciello, P. Maiolino, S. Papparella
- 25 Recettori per gli estrogeni e il progesterone nel meningioma del cane e del gatto
M.T. Mandara, **G. Ricci**, G. Vitellozzi
- 27 Osservazioni istologiche ed immunologiche sull'uveite recidivante equina (ERU)
G. Cammarata, **M. Rondena**, P. Riccaboni, C. Kalsow
- 28 Patologia respiratoria indotta in ratti sperimentalmente infetti da megabacteria
G. Rossi, C. Tarantino, F. Martinelli, E. Taccini, G. Renzoni
- 29 Rivelazione di retrovirus endogeni JSRV-LIKE mediante in situ reverse transcriptase PCR
M.P. Sanna , **E. Sanna**, C. Loddo, M. Mura, A.M. Nieddu
- 30 Espressione della clinica D1 nelle lesioni mammarie pre-neoplastiche e neoplastiche della cagna
A. Sfacteria, G. Costantino, M. Paiardini, B. Cervasi, C. Bertani, G. De Vico

Sindromi paraneoplastiche in dermatologia veterinaria

F. Abramo, M. Corazza¹, C. Cantile, A. Poli

Dipartimento di Patologia Animale, Università di Pisa - ¹Dipartimento di Clinica Veterinaria, Università di Pisa, Pisa

Dermatologia e medicina interna sono intimamente connesse per diversi motivi: a) la cute, l'apparato più esteso del corpo è interdipendente con tutti gli altri apparati, e può rappresentare una "prima facie" di una patologia interna. Il coinvolgimento cutaneo può evidenziarsi prima, contemporaneamente o dopo i problemi interni. La facile accessibilità della cute può favorire l'esecuzione di esami mirati all'accertamento della malattia primaria, b) una errata interpretazione di una manifestazione cutanea può portare ad una scelta terapeutica inappropriata che può complicare o aggravare l'eventuale patologia interna. Le manifestazioni cutanee possono essere presenti in caso di malattie endocrine, infezioni sistemiche, malattie autoimmuni, disordini ereditari e neoplasie. Nell'ultimo caso si parla di sindromi cutanee paraneoplastiche (SCP), intendendo con questo termine l'insieme delle manifestazioni cliniche non attribuibili direttamente all'invasione o alle metastasi di un tumore, ma ai suoi effetti a distanza. Poiché le segnalazioni di SCP in medicina veterinaria sono rare, segnaliamo alcuni casi pervenuti alla nostra attenzione, di cui è stato possibile effettuare una indagine istopatologica della cute e accertare la patologia neoplastica in causa. Verranno descritti nel gatto la dermatite esfoliativa in corso di timoma e l'alopecia paraneoplastica in corso di carcinoma pancreatico, nel cane la dermatosi lineare prepuziale in corso di sertolioma ormono-produttore, la dermatofibrosi in corso di adenocarcinoma renale, la calcinosi cutanea in corso di tumore ipofisario o surrenalico ed un caso di leucotrichia diffusa in corso di condrosarcoma. Poiché molto spesso le manifestazioni cutanee si rendono palesi prima di quelle riferibili al processo neoplastico che le ha determinate, gli autori ritengono che l'accertamento e l'inquadramento nosologico della patologia cutanea è di fondamentale importanza ai fini della prognosi e della terapia.

Indagini sulla leishmaniosi felina

A. Poli¹, F. Abramo¹, G. Guidi², S. Leva³, M. Gramiccia⁴, F. Mancianti¹

¹Dipartimento di Patologia Animale - ²Dipartimento Clinico, Università di Pisa - ³Libero Professionista - ⁴Istituto Superiore Sanità Roma

Le indagini hanno preso spunto dalla diagnosi fortuita di un caso di leishmaniosi cutanea nel gatto. Questa parassitosi, ampiamente diffusa nella popolazione canina, è segnalata raramente nel gatto. La nostra prima segnalazione riguarda un gatto comune europeo femmina, di 6 anni di età, FIV e FeLV positivo che presentava una lesione nodulare ulcerata sulla palpebra sinistra. All'esame generale il soggetto mostrava mucose pallide, una linfadenopatia generalizzata, splenomegalia ed anse intestinali ispessite. L'esame citologico ha consentito di formulare il sospetto di infezione da *Leishmania sp.* e quindi l'animale è stato sottoposto ad indagini biochimiche, sierologiche ed a intervento chirurgico. Il nodulo palpebrale asportato è stato utilizzato per indagini istopatologiche, di microscopia elettronica, parassitologiche e di biologia molecolare. Istologicamente i quadri erano riconducibili ad una dermatite piogranulomatosa da nodulare a diffusa che si estendeva dalle aree subepidermiche della cute verso la mucosa palpebrale che mostrava ampie ulcerazioni. L'infiltrato cellulare era costituito da nidi di macrofagi, linfociti e scarse plasmacellule. Numerosi amastigoti, 2-4 µm in diametro, erano presenti all'interno della maggior parte dei macrofagi sia in superficie che negli strati profondi del derma. Le indagini di microscopia elettronica hanno consentito di confermare la diagnosi. Le indagini sierologiche condotte per svelare la presenza di anticorpi specifici anti-*Leishmania* hanno dato esito negativo, come pure il tentativo di isolamento del parassita su hamster. Sono in corso indagini di biologia molecolare per l'identificazione del parassita. Ulteriori indagini sierologiche condotte in Toscana e Liguria hanno consentito di osservare una bassa sieroprevalenza (circa 1%).

La citodiagnatodiagnostica agoaspirativa nelle patologie epatiche del cane e del gatto. Confronto citologia/istologia in 90 casi consecutivi

G. Bettini, M. Morini, L. Mandrioli, G. Militerno

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica - Università degli Studi di Bologna - Ozzano Emilia (BO)

È stato condotto uno studio comparativo, al fine di confrontare l'attendibilità della citologia agoaspirativa rispetto all'istologia nella diagnosi delle patologie epatiche del cane e del gatto. In 90 animali (55 cani e 35 gatti) destinati all'esame necroscopico è stato simulato un prelievo citologico dal fegato, il cui risultato è stato confrontato con quello dell'esame istologico di un campione prelevato in sede autoptica. La concordanza fra le due metodiche è stata valutata calcolando il coefficiente di confronto k di Cohen. La citologia epatica ha rivelato una soddisfacente capacità diagnostica per le più importanti patologie degenerative (lipidosi, 20 casi, $k=0.84$; colostasi, 18 casi, $k=0.81$; epatopatia steroidea, 9 casi, $k=1$; amiloidosi epatica, 3 casi, $k=1$), per le epatiti acute (8 casi, $k=1$) e per le neoplasie (23 casi, $k=0.88$). Nell'ambito di queste ultime, carcinomi e sarcomi sono risultati meglio riconoscibili dalla citologia (carcinomi, 9 casi, $k=0.88$; sarcomi, 4 casi, $k=1$) rispetto ai linfomi epatici (9 casi, $k=0.78$). In alcune condizioni invece la citologia non ha riconosciuto adeguatamente l'epatopatia principale (epatite cronica, 13 casi, $k=0.15$; cirrosi/sclerosi epatica diffusa, 5 casi, $k=0$; emosiderosi, 3 casi, $k=0.49$).

Le difficoltà interpretative erano per lo più collegate a problematiche intrinseche alla metodica, quali l'assenza di riferimenti strutturali e l'inadeguata valutazione della sclerosi organica, ed alla contaminazione ematica dei prelievi. L'esame citologico del fegato può quindi rivestire un ruolo di un certo interesse nell'ambito della diagnostica clinica, anche se la precisione della definizione nosologica è inferiore rispetto a quanto raggiungibile con l'esame istologico. In particolare, per la relativa semplicità, velocità ed economicità della metodica, la biopsia agoaspirativa potrebbe a ragione rappresentare un primo passo diagnostico nell'indagine delle sofferenze epatiche, dal quale ricavare informazioni comunque utili che, secondo i casi, potranno contribuire alla formulazione della diagnosi corretta oppure indirizzare verso ulteriori indagini di altro tipo.

Espressione delle Uroplachine nei tumori uroteliali di cane

G. Borzacchiello, V. Ambrosio, P. Galati, F. Roperto

Dipartimento di Patologia e Sanità animale, Settore Patologia Generale e Anatomia patologica - Università degli Studi di Napoli "FEDERICO II".

Abbiamo valutato, con metodica immunostochimica, l'espressione delle Uroplachine in trentasei tumori uroteliali di cane.

E' stato impiegato, su sezioni di prelievi inclusi in paraffina un anticorpo anti-AUM (Asymmetric Unit Membrane), che riconosce epitopi comuni alle quattro diverse molecole di uroplachine.

La metodica ha previsto l'impiego del complesso streptavidina-biotina-perossidasi e il cromogeno DAB.

Nella vescica normale, l'espressione delle uroplachine è chiaramente evidente soltanto sulle cellule luminali. Nei papillomi, l'espressione delle uroplachine si evidenzia sulla membrana anche in cellule degli strati più profondi.

Nei carcinomi di I° grado, l'immunoreattività è presente sulle membrane delle cellule dei diversi strati dell'urotelio. Nei carcinomi di II° grado, si nota una distribuzione irregolare delle uroplachine; in alcune cellule è presente anche una debole reattività citoplasmatica. Nei carcinomi di III° grado, oltre al pattern luminale, diverse cellule neoplastiche mostrano un'intensa immunoreattività citoplasmatica diffusa. Studi recentissimi evidenziano che le uroplachine sono considerate ottimi markers dei tumori uroteliali (Li et al., 1999) giacché la loro espressione è specifica della differenziazione dell' urotelio (Sun et al., 1999).

L'espressione delle uroplachine riportata in questo studio è simile a quella dei tumori uroteliali dell'uomo (Kaufmann et al., 2000) e dei bovini (V.Ambrosio et al., 2001). Anche in questo caso i pattern osservati potrebbero essere testimonianza delle alterazioni dei processi di differenziazione che si verificano durante l'oncogenesi uroteliale.

Diagnosi di un caso di leucemia acuta nel gatto mediante analisi morfologica e immunofenotipica

S. Comazzi, S. Paltrinieri, A. Giordano, P. Roccabianca

Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi, Milano

Un gatto comune europeo femmina di 13 anni presentava alla visita clinica anoressia, vomito e linfadenomegalia generalizzata. All'esame emocromocitometrico il soggetto non presentava alterazioni di rilievo ad eccezione di un numero rilevante di elementi atipici (5700 cell./mmc). Sui campioni di sangue sono stati eseguiti l'esame emocromocitometrico, il profilo biochimico e la sierologia per FeLV e FIV; inoltre sono stati allestiti strisci di sangue, aspirati midollari e linfonodali colorati con routinarie tecniche ematologiche (May Grunwald-Giemsa) e con colorazioni citochimiche quali mieloperossidasi (MPX), cloracetato esterasi (CAE), naftilacetato esterasi (NAE), fosfatasi acida (ACP) e fosfatasi alcalina (ALP). L'immunofenotipo è stato determinato su strisci congelati mediante il metodo avidina-biotina perossidasi (ABC), utilizzando anticorpi monoclonali prodotti dal Prof. PF Moore (Università di Davis, USA) e specifici per i seguenti antigeni di membrana felini: CD3, CD4, CD5, CD8, CD11b, CD21.

Nel sangue, nel midollo e nell'aspirato linfonodale si riscontravano cellule di dimensioni voluminose con citoplasma da moderato ad abbondante, nucleo rotondo o indentato con uno o più nucleoli evidenti. Alcuni elementi evidenziavano una più intensa basofilia citoplasmatica e un pattern cromatinico caratteristico di elementi della linea eritroide. Il profilo biochimico non presentava alterazioni di rilievo ed i test sierologici non mostravano presenza di antigeni FeLV o di anticorpi per FIV.

In funzione degli aspetti morfologici le cellule atipiche riscontrate venivano classificate come elementi mieloidi e alla luce della classificazione FAB (French American British) la patologia veniva classificata come AML6 (eritroleucemia). Le prove citochimiche confermavano il sospetto diagnostico evidenziando una intensa positività alla ACP mentre soltanto rari elementi atipici mostravano una positività a "markers" tipici della linea neutrofila (CAE, MPX). Le prove immunocitochimiche evidenziavano al contrario una intensa positività a *markers* linfocitari quali CD5, CD8 e in misura minore a CD3 accanto solo ad rarissime positività a CD21 (linfociti B) e positività a CD11b limitate unicamente agli elementi polimorfonucleati. Alla luce di questi aspetti la diagnosi morfologica iniziale veniva riformulata in leucemia linfoide acuta di probabile origine T.

La specie felina risulta frequentemente soggetta a neoplasie emopoietiche, con una moderata preponderanza di forme linfoidi (rapporto linfoidi/mieloidi = 6/5), soprattutto associate all'infezione da FeLV. Il gatto da noi esaminato non presentava antigeni FeLV nel siero. Tuttavia non si può con sicurezza escludere

il contatto col virus nonostante l'elevata specificità del test sierologico utilizzato. L'utilizzo di tecniche di biologia molecolare (PCR) potrebbe almeno in parte identificare soggetti falsi negativi al test sierologico.

La classificazione delle leucemie acute riveste, in medicina umana così come in veterinaria, una notevole importanza soprattutto alla luce della relativamente più favorevole prognosi delle forme linfoidi. La classificazione FAB, da anni utilizzata per studio di queste forme, si basa quasi esclusivamente su aspetti morfologici, solo in parte integrati da riscontri di natura citochimica. In medicina umana tuttavia, il suo utilizzo è stato in parte ridimensionato dall'avvento di tecniche immunocito- o immunoistochimiche, citofluorimetriche e citogenetiche, nonché dalla mancanza di correlazione con aspetti prognostici e di risposta alla chemioterapia. Alla luce di questi riscontri diventa quindi indispensabile determinare l'immunofenotipo ad integrazione degli aspetti puramente morfologici e citochimici, non solo per una più corretta classificazione dei numerosi casi atipici ma per trarre maggiori indicazioni di natura clinico-terapeutica. In particolar modo l'utilizzo di anticorpi diretti contro markers linfocitari si ritiene necessario per distinguere le forme linfoidi da quelle mieloidi. La scarsità di anticorpi diretti contro antigeni mieloidi ed eritroidi rende invece l'utilizzo della citochimica un valido ausilio per distinguere tra le varie forme di leucemia mieloide acuta.

Seminoma del cane: indagini istologiche ed immunoistochimiche

V. Grieco, S. Capelli, M. Finazzi

Dipartimento di Patologia animale, Igiene e Sanità pubblica Veterinaria - Sezione di Anatomia Patologica Veterinaria Patologia Aviare - Facoltà di Medicina Veterinaria di Milano

Introduzione: Tra i tumori testicolari della specie canina, il seminoma è quello che offre i maggiori spunti investigativi. Infatti, tale tumore è presente anche nella specie umana e, poiché colpisce per lo più soggetti giovani risulta argomento di numerosi studi. In particolare, nell'uomo come nel cane è noto che, nella compagine dei seminomi, istologicamente si rinvergono spesso infiltrati linfocitari. Tali infiltrati, oggetto di recenti studi di medicina umana sono stati tipizzati in relazione alle popolazioni linfocitarie coinvolte. Un altro spunto interessante riguardante i seminomi è rappresentato dal fatto che questi sembrano svilupparsi spesso da testicoli atrofici, come abbiamo avuto modo di notare in diversi anni di osservazioni istologiche.

Scopo del lavoro: valutare da un lato, la presenza di un'eventuale correlazione tra atrofia testicolare e comparsa di seminoma e, dall'altro, di tipizzare con metodi immunoistochimici le diverse popolazioni linfocitarie presenti negli infiltrati più sopra citati.

Materiali e metodi: i testicoli esaminati, riferibili a 95 cani di età compresa tra 1 e 16 anni, fissati in formalina al 10%, facevano parte della routine istologica del nostro Dipartimento. Essi erano 106 e rispettivamente 36 con atrofia (di cui 12 colpiti anche da seminoma) e 82 con seminoma (compresi quelli associati ad atrofia). Sezioni istologiche dei campioni in esame sono state colorate con Ematossilina-Eosina e con metodo immunoistochimico ABC, avvalendosi di 2 anticorpi (DAKO) diretti contro gli antigeni umani CD3 (linfociti T) e CD79 (linfociti B).

Risultati: nel 33% dei testicoli con atrofia esaminati è stata evidenziata la presenza di un seminoma di minute dimensioni, nel 90% dei casi, rilevabile solo istologicamente e quindi da considerarsi in forma iniziale. La maggioranza di essi aveva distribuzione strettamente intratubulare, con scarsa tendenza alla diffusione, riconoscibile in un solo. Nei testicoli con seminoma i linfociti erano presenti nell'88% dei casi esaminati. Essi potevano rinvenirsi singolarmente sparsi tra le cellule neoplastiche o riuniti in infiltrati più o meno estesi a forma di bande o strie nel connettivo che divide i lobuli tumorali o anche, a manicotto, in sede perivascolare. In alcuni casi gli infiltrati, stromali o perivascolari, assumevano forma decisamente similfollicolare. L'esame immunoistochimico, in accordo con i lavori di medicina umana, ha dimostrato che la popolazione linfocitaria più rappresentata era quella dei linfociti T, mentre molto più rari erano i linfociti B. Questi ultimi, quando presenti, non si evidenziavano mai singolarmente sparsi ma sempre al centro degli infiltrati similfollicolari.

Discussione: dai risultati del presente studio sembra potersi delineare una

correlazione tra atrofia testicolare e sviluppo di seminomi, Questi, rilevabili solo istologicamente, si presentavano in forma iniziale e per lo più a localizzazione intratubulare. Per ciò che riguarda gli infiltrati linfocitari, i linfociti B erano rari mentre numerosi apparivano quelli di tipo T. Questi ultimi meritano sicuramente ulteriori ricerche. Infatti, studi di medicina umana, hanno determinato che la sottopopolazione di linfociti T più rappresentata nei seminomi è quella dei T8 citotossici a scapito dei T4 helper/inducer. Si ricorda che le cellule germinali sono considerate *not self* dall'organismo e che sono in grado di originare una risposta di tipo autoimmune la quale vede sempre maggiormente impegnati i linfociti T4. Nel caso dei seminomi, contrariamente a ciò che si potrebbe pensare, sembra invece più importante la spinta citotossica al pari di quello che si rinviene in altri tumori.

Conclusioni: In futuro si desidera verificare se i sopra descritti aspetti immunoistochimici sono presenti anche nei seminomi della specie canina. Stiamo raccogliendo nuovi campioni da tagliare al criostato in quanto, gli anticorpi diretti contro gli antigeni T4e T8 del cane non possono essere applicati con successo su sezioni di campioni fissati in formalina.

Indagine retrospettiva sulla frequenza dell'osteosarcoma in campioni biotipici e chirurgici

L. Leonardi, C. Brachelente, L. Mechelli

Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie - Sezione di Patologia e Igiene Veterinaria - Facoltà di Medicina Veterinaria di Perugia

L'Osteosarcoma (OS) è un tumore maligno costituito da cellule di origine mesenchimale che tendono a differenziarsi nel senso osteoblastico producendo matrice ossea. La neoplasia, nel cane, insorge con una certa prevalenza in quelle aree in cui è più rapido il ricambio cellulare, quindi in prossimità delle regioni metafisarie delle ossa lunghe. Il suo decorso è generalmente molto rapido. L'OS è il tumore osseo maligno più frequente, con valori percentuali dell'80-85% rispetto a tutti gli altri tumori primitivi dell'osso e del 3-4% rispetto alla totalità delle neoplasie che colpiscono la specie canina. Lo scopo del presente lavoro è quello di fornire alcuni dati di prevalenza sull'OS del cane rilevati su materiale di tipo biotipico e su campioni chirurgici nel periodo di tempo compreso tra il 01.01.1991 ed il 31.12.2000. Le nostre osservazioni si riferiscono a campioni di tessuto fissati in formalina neutra tamponata al 10 % ed inviati, per accertamenti diagnostici, presso la nostra Sezione, dalle Cliniche della Facoltà e da numerosi Colleghi liberi professionisti. Il materiale è stato processato secondo le metodiche standard, dopo essere stato decalcificato con acido formico al 5% ed incluso in paraffina. Sezioni di 4-5 μ sono state poi colorate con E.E. e, talvolta, con altri metodi istochimici. Sulla base di quanto premesso abbiamo rilevato i seguenti dati: su un campione rappresentato da 12520 biopsie e pezzi chirurgici provenienti da cani di razza, sesso ed età diversi è stato possibile rilevare 5889 neoplasie (47,04%). Le lesioni di natura non neoplastica erano rappresentate da 6631 casi, con un valore percentuale del 52,96% rispetto al totale delle indagini eseguite. Le biopsie ossee esaminate sono state 127, di cui 88 (69,3%) rappresentate da tumori, 30 (23,6%) da lesioni infiammatorie e degenerative, mentre 9 (7,1) casi sono risultati non rappresentativi. I tumori ossei primitivi erano così suddivisi: 20 di natura benigna e 68 di natura maligna, con valori percentuali rispettivamente di 0,34% e 1,15% rispetto al numero totale dei tumori diagnosticati e di 22,7% e 77,3% rispetto al totale dei tumori primitivi ossei osservati. Dei 68 casi di neoplasie maligne, 59 (86,76%) erano rappresentati da osteosarcomi, per i quali è stato adottato il criterio classificativo proposto dalla WHO nel 1994. Sono stati quindi considerati 6 differenti sottotipi di OS così suddivisi: osteoblastico, condroblastico, fibroblastico, poco differenziato, telangectasico e a cellule giganti. Sul totale dei 59 casi di OS diagnosticati, il sottotipo più frequente è risultato essere quello osteoblastico con ben 39 casi (66,1%), seguito dal fibroblastico con 9 casi (15,25%), da quello a cellule giganti con 4 casi (6,78%), dal modello poco differenziato con 3 casi (5,09%) ed infine dai tipi condroblastico e telangectasico con 2 casi (3,39%). Di

tutti gli OS considerati, 28 (47,46%) appartenevano ad animali di sesso maschile, 23 (38,98%) ad animali di sesso femminile mentre, per 8 casi (13,56%), il dato riguardante il sesso era sconosciuto. L'età media di insorgenza è stata di 7,7 anni con valori compresi tra un minimo di 0,9 anni (2 soggetti) ed un massimo di 15 anni. La distribuzione del tumore secondo la razza ha evidenziato: 15 casi in cani Pastore tedesco, 6 in Setter inglesi, 4 in Boxer, 3 in Alani, 2 in Rottweiler e 2 in Schnauzer giganti. Gli altri casi erano suddivisi eterogeneamente tra soggetti di razze diverse, tutti comunque di taglia medio-grande. Le sedi più frequentemente interessate dal tumore erano rappresentate dalle ossa lunghe dello scheletro appendicolare. In particolare, 24 casi (40,7%) sono stati rilevati a livello degli arti anteriori e 12 (20,3%) coinvolgevano gli arti posteriori. Dei rimanenti 23 casi (39%), 7 erano localizzati in altri segmenti ossei, 2 in sede extra scheletrica (mammella) e per 14 non è stato possibile risalire alla sede colpita a motivo dell'incompletezza dei dati anamnestici. In riferimento a quanto fino ad ora riferito possiamo concludere che i risultati scaturiti dalle nostre indagini permettono di confermare quanto già descritto nella letteratura scientifica veterinaria e cioè che l'OS rappresenta il tumore osseo con il più alto valore di incidenza nella specie canina. Dei sei differenti sottotipi considerati nella classificazione da noi impiegata, l'OS osteoblastico è risultato quello più frequentemente diagnosticato con ben 39 casi su 59 (66,1%). Anche se, a motivo dell'eterogeneità riscontrata, non è stato possibile indicare una particolare predisposizione di razza, i nostri dati hanno permesso di confermare che i soggetti di taglia grande e gigante sono più suscettibili a sviluppare la neoplasia. In nessuno dei casi da noi considerati, infatti, il tumore interessava soggetti di razza piccola. A conferma di quanto già riferito da numerosi Autori, il tumore è stato con maggiore frequenza diagnosticato in animali adulti e l'età media è risultata essere di 7,7 anni. La distribuzione per classi di età ha visto una netta prevalenza dei casi nell'intervallo compreso tra i 5 ed i 8 anni (37,04%). Una nota degna di rilievo meritano, comunque, i casi di due cuccioli di nove mesi di età, rispettivamente di razza Boxer e Drahthaar nei quali il tumore interessava lo scheletro appendicolare. L'insorgenza dell'OS in età adulta è un dato che va considerato non solo per i cani ma anche per tutte le altre specie di animali domestici, a differenza di quanto si verifica nella specie umana dove frequenti sono i casi che interessano soggetti di giovane età.

Osservazioni anatomo-istopatologiche su un caso di mixosarcoma valvolare cardiaco in un cane

E. Lepri, M. Sforna, F. Porciello, G. Vitellozzi

*Dip. Scienze Biopatologiche Veterinarie Dip. Patologia, Diagnostica e Clinica Veterinaria
Università degli Studi di Perugia*

I tumori cardiaci primitivi sono neoplasie di raro riscontro nel cane. Tra quelli più frequentemente segnalati sono da ricordare, in ordine decrescente di frequenza, l'emangiosarcoma, i tumori della base del cuore ed i linfomi. Più raramente sono segnalati i fibromi, i fibrosarcomi, i rhabdomiosarcomi, i condrosarcomi, gli osteosarcomi ed i tumori mixoidi. Scopo del presente lavoro è illustrare gli aspetti anatomo-istopatologici di un mixosarcoma endocardico osservato in un cane meticcio maschio di 11 anni di età. Il cane è stato presentato alla visita clinica in quanto affetto da sindrome dispnoica; gli esami fisici e strumentali hanno consentito di individuare una voluminosa neoformazione nell'atrio destro. L'esame istologico di un campione biotico, prelevato tramite cateterismo cardiaco attraverso la vena giugulare, ha permesso di evidenziare la presenza di un tessuto necrotico-emorragico associato a cellule fusate scarsamente differenziate. In seguito alla prognosi infausta l'animale è stato sacrificato e sottoposto a necropsopia. Campioni prelevati dalla neoformazione cardiaca e da vari visceri ed organi sono stati fissati in formalina, processati secondo le normali tecniche di routine e colorati con Ematossilina-Eosina, P.A.S., Alcian blu e Van Gieson. In sede autoptica è stata evidenziata una voluminosa massa (7,7 x 5,2 x 3 cm) che, ancorata alla superficie dorsale del lembo settale della valvola tricuspide, occupava quasi completamente il lume atriale e protrudeva attraverso l'ostio atrioventricolare. Esternamente la neoplasia era caratterizzata da vegetazioni polipoidi periferiche traslucide od emorragiche che le conferivano un aspetto multilobulato; alla sezione di taglio il tessuto neoplastico appariva di aspetto gelatinoso, di consistenza molle, con vaste aree necrotico-emorragiche centrali, più compatto in prossimità della sua inserzione valvolare. Nel parenchima polmonare erano presenti noduli di dimensioni variabili tra 2 mm ed 1 cm, di aspetto gelatinoso e colore bianco-grigiastro. Istologicamente il tumore primitivo era costituito da grandi cellule pleomorfe fusiformi o stellate, con margini citoplasmatici indistinti, nuclei grandi, ovalari ed irregolari con cromatina finemente granulare e numerosi nucleoli, immerse in un'abbondante stroma debolmente basofilo. Sono state osservate, inoltre, rare figure mitotiche e cellule giganti multinucleate. Le cellule neoplastiche tendevano ad organizzarsi in diversi modelli di crescita. Le aree periferiche, di aspetto mixoide, erano caratterizzate da cellule allungate o stellate, disposte in fasci paralleli ed immerse in uno stroma abbondante. In alcuni punti esse formavano figure a vortice, al centro delle quali erano, a volte, evidenti strutture vascolari. Altre aree erano

caratterizzate da cellule piccole, stellate, con scarso citoplasma, disposte a formare focolai compatti con stroma scarso e necrosi centrale. Erano inoltre evidenti aree disseminate in cui lo stroma diventava compatto, omogeneamente eosinofilo e finemente fibrillare. Le cellule neoplastiche in queste sedi erano circondate da un alone otticamente vuoto e spesso binucleate, suggestive di imminente metaplasia cartilaginea. In prossimità dell'inserzione valvolare la neoformazione era più compatta, con cellule fusate disposte in fasci paralleli e abbondante stroma fibrillare eosinofilo. Le vegetazioni polipoidi erano caratterizzate da ampie cavità cistiche a contenuto ematico non chiaramente delimitate da uno strato cellulare continuo. Le metastasi polmonari presentavano aspetti istologici diversi. Alcune erano costituite da tessuto mixoide con cellule piccole, stellate o fusiformi, prive di marcati caratteri di atipia, immerse in uno stroma abbondante. Tali metastasi originavano da emboli neoplastici evidenziabili in diverse arteriole peribronchiali ed infiltravano il parenchima polmonare formando, per confluenza, noduli a crescita espansiva con esili setti connettivali, che comprimevano il parenchima circostante. Altre metastasi erano costituite da un tessuto ad elevata cellularità, con cellule fusate o poliedriche, atipiche, con aree centrali necrotiche ed una crescita di tipo infiltrativo. I tumori mixoidi, a comportamento generalmente benigno, sono le neoplasie cardiache più frequenti nella specie umana, in cui si riconoscono forme sporadiche e forme familiari (sindrome di Carney). Nonostante il limitato numero di casi finora descritti in letteratura, tra i tumori mixoidi endocardiaci nel cane sembra emergere la prevalenza delle forme maligne. Il caso da noi osservato contribuisce ad avvalorare questa ipotesi.

Morfometria nucleare nei carcinomi a cellule squamose del cane: correlazione con il grado di differenziazione

P. Maiolino, S. Papparella, B. Restucci

Dipartimento di Patologia e Sanità animale. Settore di Anatomia Patologica. Facoltà di Medicina Veterinaria di Napoli

Il grado nucleare, che è espresso dal grado di differenziazione dei nuclei delle cellule neoplastiche è stato, per lungo tempo, considerato uno dei più importanti parametri prognostici sia in oncologia umana che veterinaria. Tuttavia, fin dal 1969, Cutler e coll. hanno messo in evidenza i problemi relativi alla mancata comparabilità e riproducibilità dei risultati ottenuti suggerendo la sostituzione della valutazione visiva di tale parametro con metodi di misurazione quantitativi. Scarsissimi sono, a tale riguardo, gli studi circa l'utilità della morfometria nucleare in oncologia veterinaria. Per tale motivo abbiamo ritenuto opportuno valutare alcuni parametri morfometrici indicatori delle variazioni delle dimensioni (polimetrisimo) e della forma del nucleo (polimorfismo) e precisamente l'area e il fattore di forma, nei carcinomi squamosi della cute del cane e correlarli con il grado di differenziazione. Sono stati esaminati 15 SCC, di questi uno solo (localizzato al dito) aveva dato metastasi ai linfonodi inguinali al momento della diagnosi. I tumori sono stati classificati in SCCs di I (4), II / III (6) e IV (5) grado in base ai criteri del Broders grading system. Il valore medio dell'area nucleare, il fattore di forma nucleare e le rispettive deviazioni standard sono stati misurati, sulle sezioni colorate con ematosilina-eosina, mediante un sistema computerizzato di analisi di immagine, selezionando randomicamente e a 10x, per ogni caso, 10 aree e poi delimitando con il mouse e a 40 X, in ognuna delle 10 aree selezionate almeno 100 nuclei. I dati ottenuti sono stati, mediante analisi della varianza (ANOVA), correlati con il grado di differenziazione. I risultati ottenuti mostrano un progressivo aumento delle dimensioni nucleari nel passare dai SCCs ben differenziati (grado I: range 48,87-57,42 μm^2) a quelli moderatamente (grado II: range 60,64-70,72 μm^2 ; grado III: range 76,89-89,42 μm^2) e scarsamente differenziati (grado IV: range 87,25-107,69 μm^2), con valori medi statisticamente non significativi solo tra SCCs di grado I e II ($p=0.041$) e di grado III e IV ($p=0.058$). Stessi risultati si sono avuti per i valori medi delle rispettive deviazioni standard. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata per quanto riguarda il fattore di forma nucleare ($p>0.01$). Lo studio morfometrico sottolinea che, sul piano morfologico, esiste una stretta somiglianza dei nuclei nei SCCs di grado I e II e in quelli di grado III e IV; che il polimetrisimo nucleare è maggiormente rappresentato nei SCCs meno differenziati; che il polimetrisimo nucleare può da solo permettere di distinguere SCCs di grado I e II da quelli di grado III e IV.

Criptococcoma cerebrale in un gatto

L. Mandrioli¹, G. Bettini¹, C. Benazzi¹, L. Della Salda², H.E. Jensen³

¹Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica - Università degli Studi di Bologna; ²Dipartimento di Strutture, Funzioni e Patologie degli Animali e Biotecnologie - Sezione di Patologia Generale e Anatomia Patologica - Università degli Studi di Teramo; ³Department of Pharmacology and Pathobiology - The Royal Veterinary and Agricultural University - Denmark

Un gatto maschio intero di 4 anni con atassia locomotoria refrattaria ai trattamenti farmacologici è stato sottoposto ad eutanasia a causa del rapido peggioramento delle condizioni generali. L'esame necroscopico ha evidenziato la presenza di una massa nodulare del diametro di 1 cm a carico della parte sinistra della faccia ventrale del ponte cerebrale e di focolai miliari sulla superficie del cervelletto e nel rene destro. L'esame istologico della neoformazione cerebrale ha evidenziato i caratteri di una flogosi granulomatosa, caratterizzata dall'addensamento di macrofagi e cellule epitelioidi, frammisti a granulociti neutrofilici, linfociti e plasmacellule, intorno ad un ampio centro necrotico, nel cui contesto era rilevabile la massiccia presenza di microrganismi unicellulari lievitiiformi, liberi e fagocitati da macrofagi, rifrangenti, circondati da una capsula non colorata. Nel tessuto nervoso circostante era rilevabile uno stato degenerativo diffuso e la formazione di manicotti linfoplasmocitari perivascolari. Nel rene si rilevava una nefrite piogranulomatosa associata ad analoghi microrganismi lievitiiformi. La morfologia dei microrganismi e la reazione positiva a colorazioni speciali (PAS, Grocott, mucicarminio di Mayer e Blu di Toluidina) suggerivano l'infezione da parte di un organismo micotico, ed in particolare da *Cryptococcus*. La caratteristica morfologia ultrastrutturale dei microrganismi e la reazione positiva alla colorazione immunoistochimica con anticorpi specifici permettevano infine di identificare gli agenti come *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans*. La criptococcosi è stata più volte segnalata nel gatto, in cui l'infezione si presenta in genere con localizzazione polmonare primaria e diffusione ematogena secondaria a vari distretti, fra cui è spesso compreso il tessuto nervoso. La localizzazione cerebrale dà origine nella maggior parte dei casi ad una meningoencefalomielite diffusa, mentre nel caso qui segnalato si è verificata la formazione di un nodulo granulomatoso ricco di microrganismi (criptococcoma), che in patologia umana ed animale è segnalato molto più raramente e che macroscopicamente può essere erroneamente riconducibile ad una proliferazione tumorale.

Su un particolare caso di diprosopiasì in un vitello

F. Marino¹, A. Caruso², G. Mazzullo

¹Dip. Pat. Mal. Inf. Par. Isp. Al. O.A. - Sez. Patologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Messina - ²Libero Professionista

Scopo del presente lavoro è quello di contribuire alla conoscenza delle malformazioni degli animali descrivendo gli aspetti morfologici di un particolare caso di diprosopiasì occasionalmente riscontrato in un vitello meticcio, femmina, nato vivo e a termine da parto distocico da una vacca meticcio di anni 3 circa.

Il soggetto fu sottoposto ad eutanasia dopo circa 15 giorni di vita, durante i quali fu allattato artificialmente. Durante la necropsia, effettuata sul campo, fu asportata la testa e inviata presso la Sezione di Patologia del Dipartimento di Patologia, Malattie Infettive e Parassitarie e Ispezione degli Alimenti di O.A. della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Messina per un esame anatomico-patologico.

Il soggetto presentava evidenti anomalie a carico della testa riferibili a diprosopiasì e caratterizzate, principalmente, dalla presenza di due cavità orbitarie laterali, con i relativi globi oculari, e di un unico SNC.

Le nostre osservazioni, del tutto nuove tra quelle descritte nell'ambito delle diprosopie, non ci consentivano di associare il reperto ad alcuna delle classiche tipologie riportate in letteratura, da cui infatti si discostavano per i peculiari aspetti morfologici finora mai riscontrati, costituendo un reperto del tutto unico nel suo genere. Infatti, dalla disamina della bibliografia sull'argomento a nostra disposizione non risulta descritta una diprosopiasì con dioftalmo e, pertanto, la nostra segnalazione rappresenta la prima nel suo genere nella specie bovina.

In conclusione, gli Autori discutono delle possibili cause implicate nello sviluppo dell'alterazione e delle peculiari caratteristiche morfologiche, peraltro non frequentemente osservate e descritte nella pratica veterinaria.

Livelli residuali di sulfonamidici nel latte bovino di vari allevamenti della Calabria

D. Martino¹, F. Giofrè², N. Parisi³, M. Calò⁴, P. Licata⁴, F. Naccari¹

¹Dipartimento di Medicina e Farmacologia Veterinaria - ²ASL 8 Vibo Valentia -
³ASL 7 Catanzaro - ⁴Dipartimenti di Patologia, Mal. Parassitarie e Infettive e Ispezione
degli Alimenti di Origine Animale - Università di Messina

I sulfonamidici sono chemioterapici ad ampio spettro di azione utilizzati in Medicina Veterinaria, sia a scopo profilattico-terapeutico che ausiliario, contro germi Gram-positivi, Gram-negativi e protozoi. I sulfonamidici si distribuiscono abbastanza bene a livello tissutale, nei liquidi biologici ed anche nel latte; pertanto, è necessario rispettare i tempi di sospensione (MRL 100 ppb) prima del relativo utilizzo.

I residui farmacologici rappresentano sicuramente un problema per la salute del consumatore sia per l'insorgenza di fenomeni di resistenza batterica sia per i frequenti casi di allergie. Come conseguenza, il legislatore presta particolare attenzione alla valutazione quali-quantitativa dei residui presenti nel latte.

La ricerca dei residui di sulfonamidici nel latte può essere effettuata con vari metodi: microbiologici, HPLC, GC-MS ed immunoenzimatici. Tra quest'ultimi, l'ELISA è il metodo che presenta elevata sensibilità, rapidità e semplicità d'esecuzione.

Scopo delle presenti indagini è stato quello di valutare, mediante ELISA, l'eventuale presenza di livelli residuali di sulfonamidici in vari campioni di latte bovino provenienti da allevamenti, non sottoposti ad alcun trattamento farmacologico, di varie zone della Calabria.

Nel periodo ottobre-dicembre 2000 sono stati prelevati da vari allevamenti della Calabria 364 campioni di latte bovino e conservati a -4°C fino al momento del dosaggio. La valutazione dei livelli residuali di sulfonamidici è stata effettuata, su 110 campioni di latte estratti a "random" e portati a temperatura ambiente, mediante metodo immunoenzimatico ELISA previa centrifugazione a 3000 rpm per 3 minuti. Tale metodo prevede la simultanea titolazione di quattro sulfonamidici: sulfametazina, sulfamerazina, sulfadimetossina e sulfamonometossina.

I risultati ottenuti documentano la positività di tutti i campioni di latte per quanto riguarda la ricerca di sulfonamidici; tuttavia, solo un campione ha superato di poco (108.0 ng/ml) i MRL, mentre un altro ha mostrato concentrazioni di 89.2 ng/ml.

Le indagini da noi effettuate documentano la positività di tutti i campioni di latte esaminati per la ricerca di residui di sulfonamidici, nonostante tali concentrazioni non siano superiori ai MRL (tranne un campione). Tuttavia, se i dati ottenuti possono soddisfare le Autorità Sanitarie per quanto riguarda il rispetto dei MRL, desta perplessità la presenza di tali residui nel latte, anche se in concentrazioni trascurabili. Inoltre, tenuto conto che il latte costituisce l'alimento tipo nella dieta dell'uomo, la presenza anche di basse concentrazioni di sulfonamidici rappresenta un fattore di rischio allergico nei soggetti sensibilizzati.

Il metodo immunoenzimatico ELISA da noi impiegato per la sua sensibilità, rapidità e semplicità d'esecuzione, si può ritenere valido per lo screening di numerosi campioni di latte da sottoporre ad ulteriori indagini più specifiche (es. HPLC) in caso di positività.

Cheilo-palatoschisi in cuccioli di cane corso

G. Mazzullo, B. Macri

Dipartimento Patologia, Malattie Infettive e Parassitarie e Ispezione degli Alimenti di Origine Animale; Sezione Patologia, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Messina

Tra le anomalie della faccia, del naso e della bocca, le fenditure labio-palatine sono dovute ad un difetto di saldatura conseguente ad una ipoplasia dei processi facciali a livello del tratto labio-maxillo-nasale. Queste anomalie congenite non si osservano frequentemente negli animali domestici. Nei cani, le razze brachicefale sono tra quelle più esposte al rischio. Scopo del presente lavoro è quello di contribuire alla conoscenza delle suddette alterazioni nella specie canina, descrivendo gli aspetti morfologici riferibili a cheilo-palatoschisi osservati in due cuccioli di cane Corso. All'esame autoptico, i due soggetti, uno nato morto e uno deceduto dopo pochi giorni di vita, presentavano anomalie bucco-facciali simili, ma diversamente caratterizzate nei riguardi della localizzazione e gravità delle lesioni, riferibili a labbro leporino unilaterale completo con palatoschisi (soggetto A) e labbro leporino bilaterale completo con palatoschisi (soggetto B) rispettivamente.

Per quanto riguarda il secondo cucciolo, il quadro macroscopico veniva completato da aplasia timica e polmonite ab ingestis. Il primo aspetto risulta particolarmente interessante e suscettibile di ulteriori osservazioni, non essendo stato, a tutt'oggi, mai segnalato in altri simili casi. Il coinvolgimento polmonare rappresenta, invece, un quadro frequentemente osservato in soggetti portatori di palatoschisi, rappresentando quasi sempre la causa mortis.

I fattori supposti essere coinvolti nella patogenesi del difetto includono: fattori ereditari, deficienze nutrizionali della madre, ingestione di sostanze teratogene sostanze chimiche o piante tossiche durante la gravidanza, interferenze meccaniche con lo sviluppo embrionale, che ne regolano anche la frequenza nelle popolazioni animali (0,6 casi ogni 1000 nati).

Dalla disamina della bibliografia sull'argomento e da contatti avuti con associazioni cinofile, tale malformazione non risulta, a tutt'oggi, segnalata nei cani Corso, razza solo da poco tempo riconosciuta da parte degli enti cinofili.

Raro caso di miopatia mitocondriale nel cane

O. Paciello, P. Maiolino, S. Papparella

Dipartimento di Patologia e Sanità Animale - Settore di Patologia generale e Anatomia Patologica - Università di Napoli Federico II

Le miopatie mitocondriali sono caratterizzate dalla presenza, nella fibra muscolare, di un numero elevato di mitocondri e/o da mitocondri morfologicamente alterati. Tali miopatie dipendono da mutazioni del DNA mitocondriale o nucleare. Le segnalazioni di miopatie mitocondriali in Medicina Veterinaria sono rare, per tale motivo c'è sembrato interessante segnalare un caso di miopatia generalizzata non infiammatoria le cui lesioni suggeriscono un danno muscolare da alterazioni mitocondriali.

Un cane pastore tedesco, maschio, di 9 mesi è stato portato a visita presso il Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie della Facoltà di Medicina Veterinaria di Napoli per diffusa dolenzia muscolare e per la facile affaticabilità. Prelievi biotipici muscolari furono eseguiti dal bicipite femorale e processati per la microscopia ottica ed elettronica. L'esame istologico con l'ematosilina eosina non evidenziava infiltrati infiammatori né variazioni accentuate dei diametri fibrili, ma solo singole fibre atrofiche o alcune fibre tondeggianti con lesioni regressive-necrotiche. La tricromica di Gomori mostrava un'alta percentuale di fibre "marezzate" o "ragged red fibers" caratterizzate da depositi granulari rossi al di sotto del sarcolemma e fra le miofibrille. La NADH dimostrava una concentrazione dell'attività ossidativa alla periferia delle fibre, sia di tipo I sia di tipo II, con positività a "macchia". Anche la SDH era molto concentrata perifericamente, ma distribuita più regolarmente. L'esame ultrastrutturale ha mostrato modificazioni dei mitocondri che riguardavano il numero, le dimensioni, l'aspetto delle creste, la forma. Raccolte di mitocondri, prevalentemente in sede sub-sarcolemmale e fra le miofibrille erano presenti in numero elevato nelle fibre. Le "ragged red fibers", pur essendo osservabili soprattutto nelle miopatie mitocondriali, possono essere presenti in altri tipi di miopatie e la loro percentuale varia ampiamente nelle miopatie mitocondriali. Per questi motivi la microscopia elettronica è essenziale per rilevare il danno mitocondriale. Accumuli di mitocondri nelle fibre muscolari sono stati osservati nell'ipossia, dopo la somministrazione di sostanze che provocano disaccoppiamento, è possibile quindi che nella cellula con deficit energetico i mitocondri aumentino nel numero, nel volume, nel tentativo di compensare la funzione lesa. Tuttavia l'aspetto ultrastrutturale dei mitocondri non caratterizza e non è correlato ad uno specifico danno funzionale. Perciò solo dall'identificazione del deficit enzimatico o del tipo di danno molecolare si può giungere a formulare una diagnosi corretta. In questo caso l'alta percentuale di "ragged red fibers" potrebbe indicare mutazioni nel DNA mitocondriale poiché è noto come queste siano scarsamente presenti nelle miopatie mitocondriali dovute a mutazioni del DNA nucleare. Questo dato sarebbe confermato dalla presenza e dalla distribuzione regolare della succinico deidrogenasi, l'unico enzima della catena respiratoria che è interamente codificato dal genoma nucleare.

Recettori per estrogeni e il progesterone nel meningioma del cane e del gatto

M.T. Mandara, G. Ricci, G. Vitellozzi

Dipartimento di Scienze Biopatologiche Veterinarie - Sezione di Patologia e Igiene Veterinaria - Università degli Studi di Perugia

I meningiomi sono i tumori primari del SNC più frequenti nel cane e nel gatto, per i quali la terapia d'elezione resta attualmente quella chirurgica, talvolta associata a radio- e chemioterapia. In Oncologia Umana il meningioma viene ormai considerato un tumore a crescita ormonodipendente, in relazione alla presenza di recettori per gli ormoni steroidei sessuali e alla sua manifestazione clinica in gravidanza e in fase luteale, nonché in associazione allo sviluppo del carcinoma mammario. In letteratura Medica Veterinaria, invece, i dati riguardanti la identificazione di queste molecole recettoriali ed il ruolo da esse svolto nel comportamento biologico del meningioma sono a tutt'oggi ancora incompleti. Vengono di seguito riportati i risultati relativi alla individuazione, mediante tecniche di immunoistochimica, dei recettori per gli estrogeni (RE) e per il progesterone (RP) nel meningioma del cane e del gatto, e alla loro quantificazione mediante analisi d'immagine (AI), nel tentativo di stabilire il rapporto esistente tra la loro espressione e l'indice di proliferazione del tumore, e di individuare significative implicazioni prognostico-terapeutiche.

A questo scopo sono stati esaminati 14 meningiomi provenienti dal cane (9 casi) e dal gatto (5 casi), distinti in 12 meningiomi benigni e 2 maligni. I campioni, fissati in formalina neutra tamponata al 10% ed inclusi in paraffina secondo le metodiche standard, sono stati sottoposti ad indagine immunoistochimica secondo il metodo Biotina-Streptavidina Amplificata (LSAB+, Dako, Italia) per la individuazione dei RE (ER88 - Biogenex, USA, 1:40) e dei RP (PR88 - Biogenex, USA, 1:40), e della proteina Ki-67 (clone Mib-1 - Immunotek, Francia, 1:50) per la valutazione dell'attività mitotica del tumore. La lettura dei risultati al microscopio ottico è stata effettuata sia mediante conta diretta, limitatamente ai recettori ormonali, che mediante AI, per tutti i campioni. I dati così ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica.

I RE sono stati osservati in tutti i tumori, in sede perinucleare. Tuttavia, le cellule positive sono risultate superiori al 5% solo in 7 meningiomi, tutti di cane. La AI ha rivelato una positività d'area compresa tra lo 0,34% e il 6,26%. Anche i RP sono stati osservati in tutti i tumori, a localizzazione nucleare, ma in una percentuale di cellule sempre superiore al 5% (5,17-82,14%). Soltanto i 2 meningiomi maligni hanno mostrato valori inferiori al 10%. La AI ha fatto registrare una positività d'area compresa tra lo 0,99% e il 17,65%. La regressione lineare (RL) calcolata tra i risultati ottenuti mediante conta diretta e quelli ottenuti con AI ha fatto registrare un indice di regressione (R) pari a 0,56 ($P < 0,05$) e pari a 0,78 ($P < 0,01$) rispettivamente per i RE e per i RP. Tutti i campioni analizzati, inoltre, hanno mostrato una marcata immunoreattività

nucleare nei confronti del Ki-67. La RL calcolata tra i valori delle letture eseguite alla AI per la espressione dei RP e del Ki-67, ha fatto registrare una correlazione inversa ($R=-0,64$) statisticamente significativa ($p<0,05$).

Le nostre osservazioni confermerebbero: 1) la presenza di RE e RP nei meningiomi sia del cane che del gatto; 2) una marcata prevalenza dei RP rispetto ai RE, soprattutto nel gatto; 3) l'esistenza di una correlazione inversa tra l'espressione di RP ed l'indice di proliferazione del tumore. I dati così ottenuti, benchè relativi ad un limitato numero di casi, suggeriscono la possibilità che una terapia anti-progestinica possa essere tentata, o comunque sperimentata, nel controllo del meningioma del cane e del gatto, in alternativa o in associazione alle terapie di supporto e definitive oggi in uso.

La Bibliografia è disponibile presso gli Autori.

Osservazioni istologiche ed immunistochemiche sull'uveite recedivante equina (ERU)

G. Cammarata¹, M. Rondena¹, P. Riccaboni¹, C. Kalsow², S. Comazzi¹, S. Tagliabue³

¹Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Milano;
²University of Rochester, School of Medicine, Rochester; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Sez. di Brescia

L'uveite recidivante equina (ERU), è attualmente indagata al fine di precisarne l'eziologia ed il meccanismo patogenetico che ne condiziona l'andamento ciclico. Scopo di questo studio è la valutazione delle alterazioni morfologiche istologiche oculari in tre equini affetti da (ERU). Il materiale esaminato era costituito da biopsie uveali nel caso di due equini e dai globi oculari nel caso di un terzo equino macellato per sopravvenuta cecità. In quest'ultimo caso è stata prelevata ed esaminata anche la ghiandola pineale. Test di microagglutinazione sul cavallo macellato hanno mostrato anticorpi anti **Leptospira grippothyphosa** sia nell'umore acqueo (1:400) sia nel umore vitreo (1:1600). I campioni sono stati in parte congelati ed in parte fissati in etanolo assoluto, Davidson, Bouin e processati per le indagini istologiche ed immunistochemiche. Sezioni microtomiche sono state colorate con Ematossilina-Eosina e Congo Red e sezioni criostatiche seriate sono state immunocolorate mediante incubazione con anticorpi monoclonali (MAb) anti CD4+ (CVS4), CD8+ (CVS8), CD5+ (CVS5), complesso maggiore di istocompatibilità (MHCII) (CVS10), Human Leukocyte Antigen (HLA) (TAL. 1B5), CD20+ (L26), Linf. T (CVS6) e quindi sviluppate con metodo Avidina Biotina Perossidasi- Carbazolo. Infiltrati linfoplasmacellulari sono stati trovati, sia in disposizione sparsa, sia in aggregati similfollicolari, nei segmenti uveali anteriore e posteriore. In questi aggregati, l'espressione dei linfociti B era centrale, mentre perifericamente si sono osservate numerose cellule T. L'espressione di MHCII, è stata notevole sia da parte degli aggregati linfocitari, che delle cellule dell'epitelio ciliare non pigmentato. Cellule MHCII positive osservate nel nervo ottico e nella retina erano, presumibilmente, ascrivibili a microglia. Nella ghiandola pineale è stata rilevata espressione di MHCII da parte di cellule residenti e di pochi linfociti T e B infiltranti. La notevole espressione di MHCII è considerata il primo segnale di alterazione della condizione di immunoprivilegio, dovuto all' "Anterior Chamber Associated Immuno Deviation" (ACAID), che controlla l'ambiente endoculare. La presenza degli infiltrati linfocitari descritti ha il significato di una risposta immunitaria, soprattutto cellulo-mediata, probabilmente accompagnata da produzione locale di anticorpi. Nell'uveite spontanea, associata ad infezione leptospirale da noi esaminata, l'ipotesi della partecipazione di antigeni *self* nel perpetuare la flogosi è giustificata da una rottura di barriera emato-oculare già in atto. Un'ulteriore conferma in questo senso è data dal rilievo della concomitante pinealite in uno dei casi studiati. Non è stato però possibile stabilire se l'inizio di questa reazione autoimmune, sia ascrivibile anche a mimetismo tra antigeni oculari e *leptospirali* o solo al superamento della soglia di immunotolleranza verso antigeni oculari a seguito della flogosi.

Patologia respiratoria indotta in ratti sperimentalmente infetti da megabacteria

G. Rossi¹, C. Tarantino², Martinelli F.², E. Taccini², G. Renzoni¹

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Camerino; ²Dipartimento di Patologia Animale, Università di Pisa

L'infezione spontanea da megabatteri è descritta in specie aviari ornamentali e da produzione, in associazione a proventricolite cronica, malassorbimento e cachessia. Recentemente megabatteri sono stati evidenziati anche in preparati citologici rinosinusal di cani e gatti affetti da forme respiratorie croniche. La presente indagine riporta la prima riproduzione sperimentale di patologia respiratoria in ratti infettati per via endotracheale con un ceppo di megabatteri isolato da polli naturalmente infetti. Di trenta ratti infettati, risultati clinicamente sintomatici 24 ore post-inoculazione (P.I.), 2 ratti sono deceduti spontaneamente 48 ore P.I. con grave dispnea. Successivamente sono stati soppressi 8 ratti a 7 giorni P.I. ed i rimanenti 20, a gruppi di 10, rispettivamente ad 1 mese ed a 2 mesi P.I. unitamente ai controlli. Macroscopicamente, i polmoni dei ratti deceduti spontaneamente in fase acuta sono risultati fortemente congesti mentre nei ratti soppressi in settima giornata P.I. hanno mostrato aree epatizzate con presenza di essudato pleurico organizzato in tenaci sinechie. Microscopicamente si sono osservati in entrambe i casi aree microascessuali con bronchioli ed alveoli ripieni di essudato cellulare misto a fibrina ed accompagnato a forte flogosi peribronchiale. In questa fase, immagini al microscopio a scansione (S.E.M.) e trasmissione (T.E.M.) indicavano una massiccia presenza di batteri adesi all'epitelio bronchiolo-alveolare, in associazione a fenomeni ora degenerativi ora iperplastici dello stesso. In particolare la colonizzazione batterica è risultata associata a vaste aree in cui si osservava perdita delle ciglia vibratili. I ratti soppressi a 1 e 2 mesi P.I. hanno sviluppato una broncopolmonite cronica di grado severo con interessamento pleurico residuo di varia entità. Nessuna lesione broncopolmonare è stata osservata nei dieci ratti di controllo inoculati con soluzione salina sterile. Nei ratti infetti sia in fase acuta che cronica sono state evidenziate notevoli quantità di batteri istochimicamente ed immunoistochimicamente. Il reisolamento batterico dall'epitelio broncoalveolare è stato possibile nel 70% dei polmoni prelevati ad 1 mese e nel 20% di quelli prelevati 2 mesi P.I. Dai risultati dello studio si conferma la possibilità che l'infezione da megabatteri possa interessare anche i mammiferi e che questi sviluppino quadri respiratori in larga parte tendenti alla cronicizzazione.

Rivelazione di retrovirus endogeni JSRV-LIKE mediante *in situ* reverse transcriptase PCR

Sanna M.P., Sanna E., Loddo C., Mura M., Leoni A., Nieddu A.M.

*Istituto di Patologia Generale, Anatomia Patologica e Clinica Ostetrico-Chirurgica Veterinaria.
Università degli Studi di Sassari*

Background: Il carcinoma polmonare dell'ovino (Ovine Pulmonary Carcinoma - OPC) rappresenta un buon modello per lo studio della possibile interazione dei retrovirus endogeni con le loro controparti esogene. Il retrovirus tipo D esogeno denominato Jaagsiekte Sheep Retro-Virus (JSRV) si è dimostrato necessario e sufficiente per determinare il predetto carcinoma sia in ovini domestici che nel muflone sardo. Sia gli individui affetti che quelli indenni da JSRV ospitano un retrovirus endogeno conosciuto come Sheep Endogenous Retro-Virus (SERV), altamente correlato a JSRV ma distinto da esso per differenze nel tratto LTR del genoma virale. E' stata avanzata l'ipotesi che l'espressione durante lo sviluppo fetale di antigeni SERV possa indurre uno stato di tolleranza per il virus esogeno.

Scopo del lavoro: Valutare l'espressione di SERV su campioni di placenta ovina mediante RT-PCR *in situ*.

Materiali e metodi: Sono state impiegate sezioni di n. 2 placentate provenienti da altrettante pecore di razza sarda. L'RNA totale è stato retrotrascritto, amplificato *in situ* e successivamente idridato con n. 2 sonde specifiche per il gene GAG di SERV. Sonde antisense sono state impiegate in parallelo per monitorare il background della reazione.

Risultati: Sono stati osservati segnali specifici in tutti i campioni esaminati. Una chiara marcatura intracitoplasmatica è stata rilevata in linfociti perivascolari, linfociti interstiziali, cellule del sincizio- e cito-trofoblasto nonché su voluminosi fibroblasti di derivazione fetale.

Conclusioni: I dati ottenuti depongono per la presenza di attività trascrittive di SERV sia nell'emiplacenta materna che in quella fetale, e supportano perciò, almeno parzialmente, l'ipotesi della tolleranza per JSRV durante la vita adulta.

Espressione della ciclina D1 nelle lesioni mammarie pre-neoplastiche e neoplastiche della cagna

A. Sfacteria, G. Costantino, M. Paiardini, B. Cervasi, C. Bertani, G. De Vico

Dip. Patologia - Facoltà di Med.Veterinaria - Università di Messina.

Scopo del lavoro: Valutare l'espressione della Ciclina D1 nelle lesioni spontanee, neoplastiche e pre-neoplastiche, della mammella della cagna, al fine di definire, se possibile, il ruolo patogenetico della molecola nello sviluppo di tali tumori, anche in comparazione con quelli della donna.

Metodi utilizzati: l'espressione della Ciclina D1 è stata valutata mediante metodo immunostochimico in tessuti prelevati da catene mammarie di cagne sottoposte a mastectomia radicale in seguito a diagnosi clinica di neoplasia mammaria maligna.

Risultati: la Ciclina D1 era espressa immunostochimicamente nel 60% delle aree displastiche/ipoplastiche e neoplastiche benigne e nel 43,8% delle lesioni maligne. La reazione si esprimeva come positività nucleare (nel 90 % dei casi) e/o citoplasmatica (10 % dei casi) , con intensità variabile da debole a molto forte e percentuale di positività oscillante tra il 2 ed il 10 % delle cellule studiate. Le lesioni neoplastiche maligne in cui la Ciclina D1 era maggiormente espressa, esibivano anche un più alto tasso proliferativo valutato mediante conta mitotica e tecnica Ag-NOR. Al contrario l'espressione della Ciclina D1 non era correlabile con l'invasività del tumore, valutata mediante stadiazione clinica ed istologica.

Conclusioni: i dati in nostro possesso suggeriscono che l'espressione della Ciclina D1 nei carcinomi mammari della cagna sia fondamentale correlata all'assetto proliferativo della lesione. I dati biochimici (che saranno oggetto di ulteriore comunicazione) sono in accordo con quelli immunostochimici. Infatti anche l'espressione dei fattori di trascrizione correlati a PRAD1 e alla Ciclina D1 aumenta in relazione agli indici di proliferazione piuttosto che all'invasività del tumore.



Promoidea sas di E. Bowinkel & C:
Via delle Fiorentine a Chiaia, 9
80122 Napoli
Tel. 081 664336 - 081 665615; Fax 081 668876
e-mail: info@bwpromoidea.com <http://bwpromidea.com>

Impaginazione e grafica a cura della Promoidea sas