

ANDAMENTO DELLA PROTEINA C-REATTIVA E DELL'APTOGLOBINA IN CANI AFFETTI DA LINFOMA PRIMA E DURANTE CHEMIOTERAPIA "CHOP-BASED"

Fabio Valentini DVM, Costantino Melis DVM

*Abstract presentato al 62° Congresso Internazionale SCIVAC –
Rimini 29-31 maggio 2009*



www.oncovet.it

Introduzione

Infiammazione e danno tissutale evocano nell'organismo una risposta cosiddetta di "fase acuta" tramite il rilascio di citochine specifiche che determinano un aumento della concentrazione di alcune proteine plasmatiche come la proteina C-reattiva (PCR), la siero amiloide A, l'alfa-1-glicoproteina acida, la ceruloplasmina e l'aptoglobina oppure una riduzione di altre proteine (dette, appunto, "negative") come la transferrina e l'albumina.

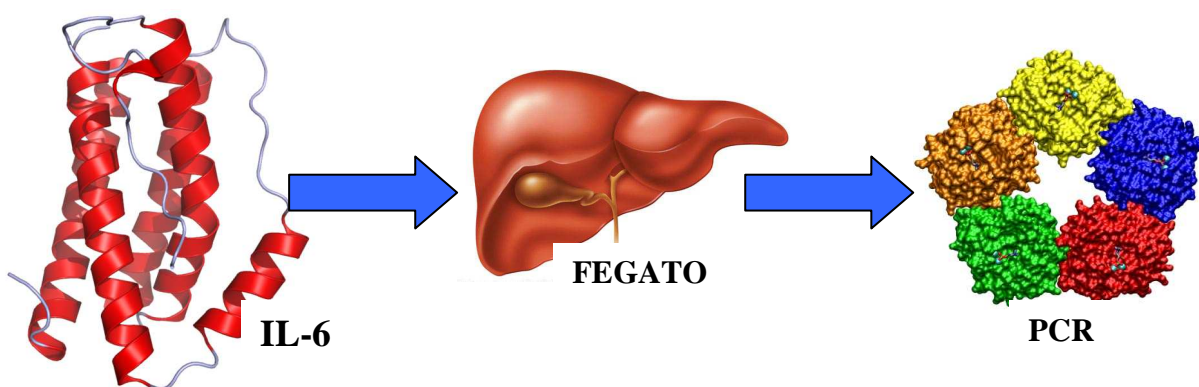
L'origine della risposta di fase acuta può essere attribuita ad infezioni, traumi, neoplasie, disturbi immunologici e l'obiettivo finale dell'organismo è sempre quello di riportare l'omeostasi e rimuovere la causa del danno. La risposta di fase acuta si può manifestare attraverso diversi meccanismi come febbre, leucocitosi, aumento del cortisolo sierico e riduzione dei livelli di tiroxina; a questi si aggiungono i cambiamenti nella concentrazione di proteine plasmatiche dette proteine di fase acuta. La maggior parte di queste proteine è di origine epatica ma sembra che anche altri tessuti siano deputati a produrne; si ritiene, per esempio, che i linfociti producano alfa-1-glicoproteina acida; la siero amiloide viene prodotta anche da intestino, reni, midollo osseo e adipociti. L'aptoglobina viene prodotta anche dai polmoni, tessuto adiposo, milza e reni.

Da un punto di vista clinico la risposta di fase acuta ha tre grandi caratteristiche:

1. E' una risposta estremamente precoce, si manifesta prima della risposta immune e prima dell'insorgenza di segni clinici.
2. E' una risposta estremamente aspecifica.
3. E' una risposta specie-specifica.

Proteina C Reattiva

La proteina C-reattiva è una glicoproteina a struttura pentamerica con peso molecolare pari a 100 kD ed ognuna delle cinque sub-unità pesa 20 kD. E' sintetizzata dal fegato in seguito alla modulazione trascrizionale di geni epato-specifici operata dall'interleuchina-6 (IL-6). Si è visto, infatti, che anticorpi monoclonali diretti contro IL-6 determinavano una riduzione significativa dei valori sierici di PCR. Tale proteina di fase acuta appartenente alle beta-globuline e la sua concentrazione plasmatica è correlata con l'entità del danno tissutale.



Aptoglobina

L'aptoglobina è una alfa₂-globulina anch'essa prodotta dal fegato e implicata nella risposta di fase acuta, tende a legarsi in maniera irreversibile all'emoglobina libera per cui tende a diminuire in corso di stati emolitici intravascolari allorché il complesso Hb-Hp viene rimosso dal circolo dai macrofagi soprattutto a livello epatico e splenico. Aumenta oltre che in corso di stati infiammatori acuti, in stati ipercortisolemici (endogeni ed esogeni) e sindrome nefrosica.

Le malattie infettive sono responsabile dell'incremento delle proteine di fase acuta e, tra queste, la proteina C reattiva sembra la più sensibile. Anche il grado di severità dell'infezione si correla con l'entità dell'aumento sierico delle proteine di fase acuta. Il monitoraggio nel corso della terapia sembra essere un valido supporto nella valutazione della risposta clinica e della sospensione della terapia stessa.

Gli interventi chirurgici sono responsabili di un innalzamento delle proteine di fase acute e questo è tanto maggiore quanto maggiore è il danno provocato dal gesto chirurgico stesso, come avviene, ad esempio, negli interventi ortopedici.

Per quanto riguarda le patologie intestinali, sembra che le proteine di fase acute siano utili nel monitoraggio clinico e nella risposta alla terapia della pancreatite acuta.

Nelle endocrinopatie si è notato un aumento di aptoglobina nell'iperadrenocorticismo canino, nel diabete mellito e nella chetoacidosi diabetica sempre del cane mentre nel gatto, in corso di diabete, aumentava la sieroproteina A.

In medicina umana il linfoma di tipo non-Hodgkin (NHL) è associato ad alti livelli di proteina C-reattiva sintetizzata dal fegato in seguito a stimolazione da parte di citochine, la più importante delle quali è l'interleuchina-6 (IL-6) rilasciata proprio dalle cellule linfomatose. Sulla base di queste evidenze, il monitoraggio dei livelli plasmatici di PCR in corso di trattamenti chemioterapici in pazienti affetti da NHL sembra rilevarsi utile nel follow-up clinico. In particolare, quei pazienti che presentano livelli costantemente elevati di PCR durante i primi cicli di terapia potrebbero risultare candidati ad una scarsa risposta terapeutica mentre pazienti con livelli alti di PCR che hanno però risposto bene alla terapia potrebbero essere candidati ad una imminente recidiva.

Nella presente comunicazione vogliamo illustrare l'andamento sia della PCR che dell'aptoglobina in cani affetti da linfoma multicentrico stadio IV/V (sottostadio a e b) prima del trattamento e durante, valutando se queste due proteine possono rappresentare marcatori aspecifici correlabili a stadio e sottostadio (presenza di sintomi clinici o meno). Inoltre il monitoraggio dei loro livelli può essere utile per valutare l'efficacia della terapia ed il rilevamento precoce di recidiva.

Materiali e Metodi

Nello studio sono stati creati due gruppi: un gruppo A di controllo costituito da cinque soggetti clinicamente sani ed un gruppo B di sei soggetti con linfoma.

Tutti i cani in studio sono stati valutati tramite visita clinica completa; la diagnosi di linfoma è stata effettuata tramite citologia linfonodale e successiva immunofenotipizzazione tramite citometria a flusso. Tutti i soggetti affetti da linfoma sono stati stadati secondo i criteri di stadiazione

dell'Organizzazione Mondiale della Sanità. L'esame del midollo osseo è stato eseguito solo in soggetti citopenici. Tutti i soggetti sono stati trattati con protocollo COPLA (ciclofosfamide, vincristina, prednisone, asparaginasi e doxorubicina).

La valutazione clinica prendeva in esame l'evento "remissione completa" in cui non vi era traccia clinica di malattia, "remissione parziale" in cui vi era una riduzione volumetrica di più del 50% dei linfonodi coinvolti, "malattia stabile" in cui vi era una riduzione volumetrica inferiore al 50% o un aumento inferiore al 25% ed infine "malattia progressiva" quando l'aumento dimensionale dei linfonodi era superiore del 25%. Il calibro è stato lo strumento di scelta per la misurazione dei linfonodi.

I campioni di siero per la quantificazione di PCR e aptoglobina sono stati inviati ad un laboratorio esterno. Per entrambi gli analiti è stata usata una metodica immunoturbidimetrica.

Risultati

Il valore medio di PCR tra i soggetti clinicamente sani è stato di 0,1 mg/dl. Quattro dei 5 soggetti clinicamente sani presentavano valori di PCR all'interno dell'intervallo di riferimento (0,01-0,22 mg/dl) mentre uno soltanto presentava un valore di 0,32 mg/dl (1,4 volte superiore al valore massimo di riferimento)

Il valore medio di aptoglobina tra i soggetti clinicamente sani è stato di 94,8 mg/dl (valori di riferimento: 1-96 mg/dl).

Tre dei 5 soggetti clinicamente sani presentavano valori di aptoglobina superiori a quelli di riferimento; in particolare un soggetto presentava un valore di 125 mg/dl (1,3 volte superiore al valore massimo di riferimento), un altro presentava un valore di 153 mg/dl (1,6 volte superiore al valore massimo di riferimento) e l'ultimo soggetto presentava un valore di 114 mg/dl (1,18 volte superiore al valore massimo di riferimento).

Per quanto riguarda i soggetti malati, 2 in stadio IV/a, 3 in stadio IV/b e uno in stadio V/b, il valore medio di PCR al momento della diagnosi è stato di 4,88 mg/dl (22,1 volte superiore al valore massimo di riferimento) mentre il valore medio di aptoglobina è stato di 278,7 mg/dl (2,90 volte superiore al valore massimo di riferimento). Il soggetto con i valori più alti del gruppo (PCR: 11,61 mg/dl e aptoglobina: 415 mg/dl) era in stadio V/b ed è deceduto prima di iniziare la terapia.

Dopo una settimana di chemioterapia il valore medio di PCR è stato di 0,45 mg/dl (2 volte superiore al valore massimo di riferimento) mentre il

valore medio di aptoglobina è stato di 339,2 mg/dl (3,53 volte superiore al valore massimo di riferimento).

Dopo 3 settimane di chemioterapia il valore medio di PCR è stato di 0,35 mg/dl (1,6 volte superiore al valore massimo di riferimento) mentre il valore medio di aptoglobina è stato di 299,2 mg/dl (3,11 volte superiore al valore massimo di riferimento).

Dopo 5 settimane di chemioterapia il valore medio di PCR è stato di 4,59 mg/dl (20,86 volte superiore al valore massimo di riferimento) mentre il valore medio di aptoglobina è stato di 294,2 mg/dl (3,06 volte superiore al valore massimo di riferimento). Il soggetto con valori di PCR: 0,99 e aptoglobina 292 mg/dl ha sviluppato recidiva clinica dopo due settimane, il soggetto con valori di PCR: 5,70 e aptoglobina 283 mg/dl ha sviluppato recidiva clinica dopo pochi giorni mentre il soggetto con valori di PCR: 16,03 e aptoglobina 283 mg/dl è stato ospedalizzato per sepsi.

| GRUPPO A | Proteina C-reattiva | Aptoglobina |
|-----------------|---------------------|-------------|
| Caso 1 "Paco" | 0,15 | 125 |
| Caso 2 "Churcy" | 0,32 | 153 |
| Caso 3 "Semola" | 0,01 | 13 |
| Caso 4 "Asia" | 0,01 | 114 |
| Caso 5 "Isotta" | 0,01 | 69 |

| GRUPPO B | PCR pre-chemio | Apto pre-chemio | PCR (1-week post-chemio) | Apto (1-week post-chemio) | PCR (3-weeks post-chemio) | Apto (3-week post-chemio) | PCR (5-weeks post-chemio) | Apto (5-week post-chemio) |
|-----------------|----------------|-----------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Caso a | 0,57 | 90,60 | 0,37 | 97 | 0,22 | 130 | 0,22 | 124 |
| Caso b | 2,73 | 278 | 0,01 | 470 | 0,01 | 402 | 0,01 | 380 |
| Caso c | 3,43 | 325 | 0,34 | 402 | 0,01 | 284 | 0,99 | 292 |
| Caso d | 11,61 | 415 | deceduto | | | | | |
| Caso e | 8,11 | 315 | 1,49 | 400 | 0,01 | 368 | 16,03 | 392 |
| Caso f | 2,84 | 249 | 0,08 | 327 | 0,1 | 312 | 5,70 | 283 |
| | | | | | | | | |

Valori di Riferimento Proteina C- reattiva: 0,01–0,22 mg/dl

Valori di Riferimento Aptoglobina: 1-96 mg/dl

Valori in **grassetto**: recidiva clinica/sepsi

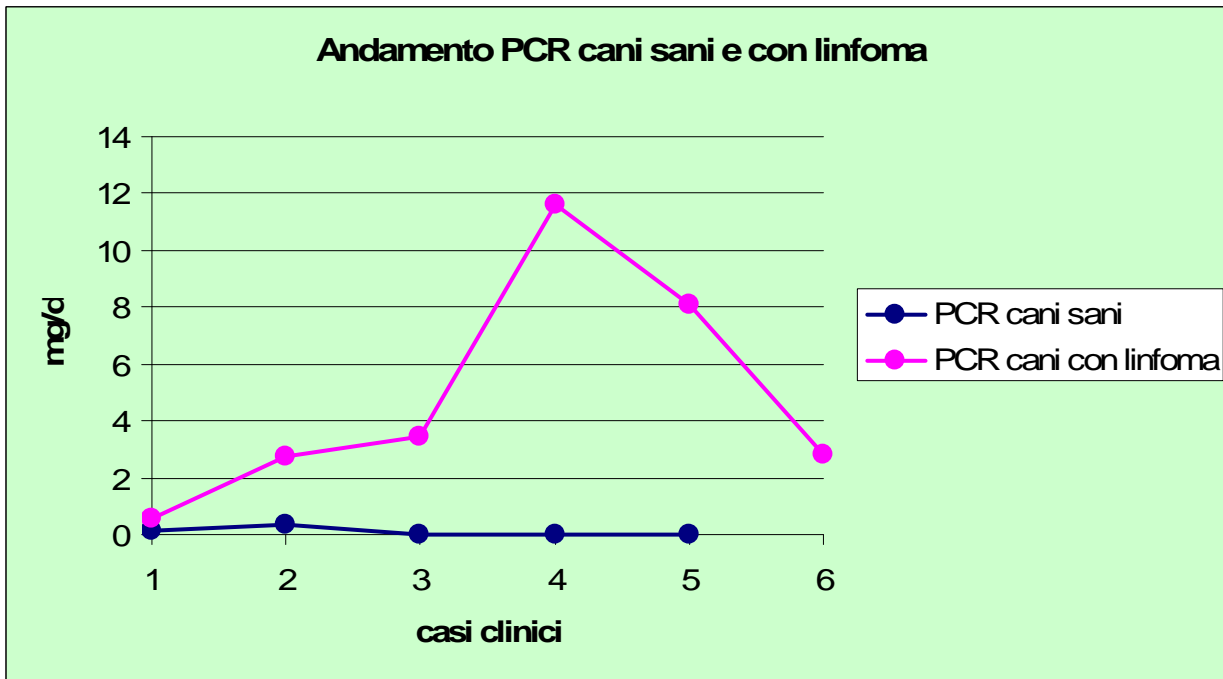


Grafico 1. Andamento della PCR in cani clinicamente sani e cani affetti da linfoma. Notare come nel primo gruppo, i valori di PCR rimangono costantemente bassi mentre nel secondo gruppo tendano a discostarsi significativamente dal range di riferimento.

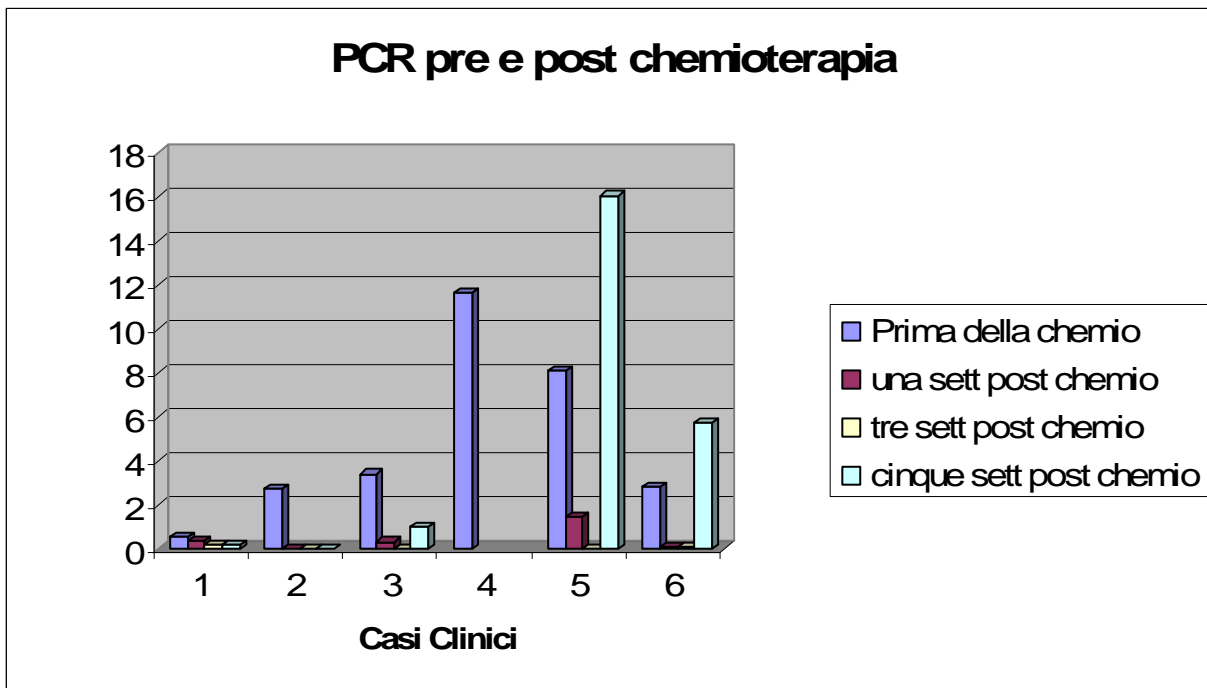


Grafico 2. Andamento della PCR in soggetti con linfoma prima e durante la chemioterapia con protocollo “CHOP-based”. Notare come i valori di PCR tendano a ridursi significativamente dopo la chemioterapia rimanendo stabili nel tempo oppure innalzandosi nuovamente in caso di recidive o fatti settici.

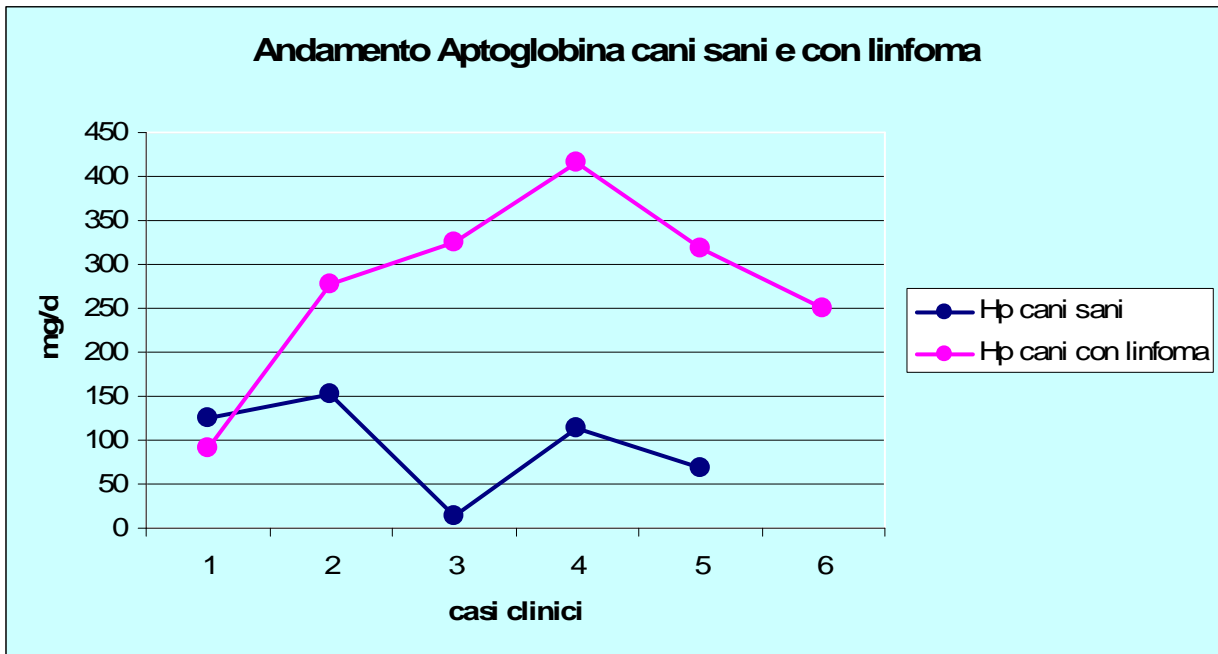


Grafico 3. Andamento dell'aptoglobina in cani clinicamente sani e cani affetti da linfoma. Notare come nel primo gruppo i valori di Hp tendano a rimanere notevolmente più bassi rispetto al secondo gruppo.

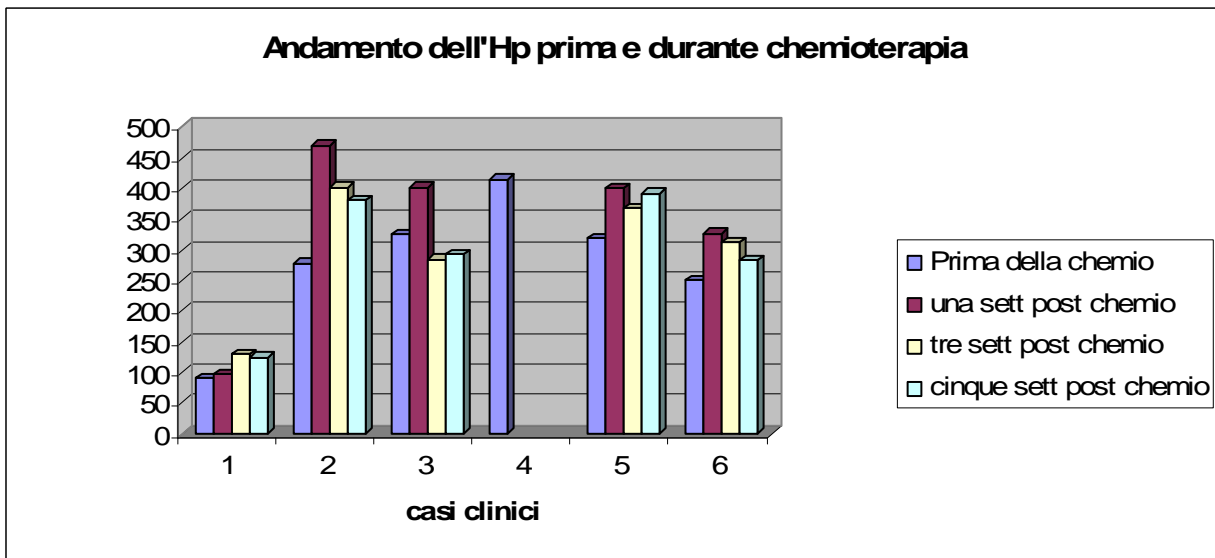


Grafico 4. Andamento dell'Hp in soggetti con linfoma prima e durante chemioterapia "CHOP-based". A differenza della PCR che tendeva a ridursi dopo terapia, l'Hp tende invece ad aumentare a causa della presenza di corticosteroidi presenti nel protocollo chemioterapico.

Discussione

Nonostante il campione necessiti di ampliamento in termini numerici, tre aspetti emergono da questa relazione:

1. la malattia linfomatosa è responsabile dell'attivazione della risposta di "fase acuta" determinando un aumento significativo dei valori di proteina C-reattiva e di aptoglobina.
2. la risposta alla chemioterapia con protocolli "CHOP-BASED" provoca una netta riduzione della proteina C-reattiva probabilmente dovuta all'abbassamento dei livelli di IL-6 prodotta dalle cellule linfomatose ma un aumento dell'aptoglobina causato dalla presenza di farmaci corticosteroidi nei suddetti protocolli chemioterapici.
3. l'entità di innalzamento della proteina C-reattiva e dell'aptoglobina sembrano correlate allo stadio e al sottostadio clinico.
4. la proteina C-reattiva rappresenta un marcatore precoce, aspecifico e pre-clinico di recidiva in corso di linfoma nel cane.

Bibliografia

1. Tecles F, Spiranelli E, Bonfanti U, Cèron J.J. and Paltrinieri S. Preliminary Studies of Serum Acute-Phase Protein Concentrations in Hematologic and Neoplastic Diseases of the Dog. *J Vet Intern Med* 2005;19:865-870.
2. Nielsen L, Toft N, Eckersall P, Mellor D.J. and Morris J.S. Serum C-Reactive Protein Concentration as an Indicator of Remission Status in Dogs with Multicentric Lymphoma. *J Vet Intern Med* 2007;21:1231-1236.
3. Merlo A, Rezende B, Franchini M, Simoes D and Lucas S. Serum C-Reactive Protein Concentrations in dogs with Multicentric Lymphoma undergoing Chemotherapy. *JAVMA*, Vol 230, No.4, February 15,2007.
4. Herishanu Y, Perry C, Braunstein R, Metser U, Goor O, Rogowski O, Berliner S, Polliack A, Naparstek E. Early-mid treatment C-reactive protein level is a prognostic factor in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *European Journal of Haematology* 2007;79:150-154).

5. Mischke R, Waterston M, Eckersall P.D. Changes in C-reactive protein and haptoglobin in dogs with lymphatic neoplasia. *The Veterinary Journal* 2007;174: 188-192.
6. Trikha M, Corringham M, Klein B, and Rossi J.F. Targeted Anti-Interleukin-6 Monoclonal antibody Therapy for Cancer: A Review of the Rationale and Clinical Evidence. *Clinical Cancer Research* 2003;9: 4653-4665.
7. Cèron J.J., Eckersall P.D, Subiela S.M. Acute Phase Proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol* 2005;34: 85-99.
8. Leogouffe E, Rodriguez C, Picot M.C., Richard B, Klein B, Rossi J.F. and Commes T. C-Reactive Protein Serum Level is a Valuable and Simple Prognostic Marker in non-Hodgkin's Lymphoma. *Leukemia and Lymphoma* 1998;31: 351-357.