Ostre białaczki u psów – analiza 31 przypadków

RAFAŁ SAPIERZYŃSKI, TOMASZ HUĆ**, MICHAŁ CZOPOWICZ*,
URSZULA JANKOWSKA***, DARIUSZ JAGIELSKI***,
KATARZYNA KLICKOWSKA-KLAROWICZ

Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej, *Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie,
ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

**ALAB Plus sp. z o.o., ul. Stępińska 22/30, 00-739 Warszawa

***Przychodnia Weterynaryjna „Białobrzaska”, ul. Częstochowska 20, 02-344 Warszawa

Otrzymano 31.05.2016

Zaakceptowano 07.09.2016

Sapierzyński R., Huć T., Czopowicz M., Jankowska U., Jagielski D., Kliczkowska-Klarowicz K.

Acute leukemias in dogs: Analysis of 31 cases

Summary

The aim of the present study was to analyse epidemiological, cytological, laboratory and clinical data from canine acute leukemia (AL) cases. The study was conducted from 2009 to 2015, and included 2384 dogs undergoing cytological examination in two veterinary practices in Warsaw. The analysis included dogs in which bone marrow cytology revealed acute leukemia, regardless of its subtype. Data on breed, age, sex, as well as clinical signs and results of haematological examination were collected for every dog. Breed predisposition to acute leukemia was calculated by statistical methods on the basis of the theoretical distribution of canine breeds in Poland. Acute leukemia was diagnosed in 31 dogs (24.7%) undergoing bone marrow cytology, that is, in 1.3% of all the dogs examined by cytology during the study period. The disease was diagnosed mainly in adults, and a strong predisposition was found particularly in German shepherds and Golden retrievers. The median duration of clinical signs from the onset to diagnosis was 14 days. The clinical signs were mostly non-specific (apathy, recurrent fever, lack of appetite), whereas lymphadenomegaly or/and splenomegaly were observed more seldom. Hematology revealed neoplastic leukocytosis in 75% of dogs, whereas anemia and thrombocytopenia were observed in 86% and 85% of patients, respectively. Regardless of the leukemia subtype, prognosis was poor. In conclusion, it can be stated that according to current knowledge on canine acute leukemias, bone marrow cytology based on routine staining methods is sufficient for correct diagnosis in a vast majority of cases.

Keywords: dog, cytology, acute leukemia, bone marrow

Białaczka jest złośliwym rozrostem wywodzącym się z komórek pnia (stem cell) hematopoezy, zatrzymanych na różnym etapie różnicowania. Białaczki to drugie po chłoniakach pod względem częstości nowotwory tkanki hematopoetycznej u psów, u których stanowią około 9% nowotworów komórek krwi (22). Białaczki można sklasyfikować w oparciu o zachowanie biologiczne i obraz kliniczny choroby (białaczki ostre i białaczki przewlekłe) lub na podstawie pochodzenia komórek nowotworowych (białaczki szpikowe i białaczki limfatyczne). Bez względu na pochodzenie i obraz cytologiczny, ostre białaczki (acute leukemia, AL) zawsze stanowią poważny problem kliniczny i wiążą się ze złym rokowaniem. Średni okres przeżycia psów po rozpoznaniu wynosi około 20 dni i waha się w granicach od 2 do 138 dni (11). Nawet w przypadku, gdy zastosuje się bardzo złożone metody leczenia, oczekiwany czas remisji choroby jest krótki

i wynosi od 1 do 3 miesięcy, a jedynie w wyjątkowych przypadkach powyżej 6 miesięcy (16).

Obowiązujący obecnie system klasyfikacji białaczek u ludzi został opracowany przez grupę roboczą Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) w 2008 r. Według tej klasyfikacji, białaczki dzieli się w oparciu o zachowanie biologiczne, morfologię komórek nowotworowych, immunofenotyp komórek nowotworowych oraz stwierdzone nieprawidłowości cytogenetyczne i molekularne (24). Zgodnie z zasadami klasyfikacji WHO, rozpoznanie ostrej białaczki ustala się w oparciu o fakt stwierdzenia, że odsetek komórek blastycznych (młodościannych) w szpiku kostnym osiąga wartość minimum 20%. Według starej klasyfikacji opracowanej przez grupę francusko-amerykańsko-brytyjską (klasyfikacja FAB z 1976 r.) białaczkę rozpoznawano w oparciu o ocenę morfologii oraz immunofenotypu komórek, dodatkowo w klasyfikacji tej

rekomendowano rozpoznanie białaczki przy odsetku komórek blastycznych stanowiących minimum 30% komórek szpiku (2).

Niestety, dotychczas nie dokonano adaptacji klasyfikacji białaczek wg WHO do stosowania u psów (brak ciągle wielu informacji niezbędnych do przeprowadzenia takiej adaptacji) i hematoonkologów weterynaryjni nadal opierają się na klasyfikacji FAB. Działając w oparciu o klasyfikację FAB, ostre białaczki u psów dzieli się na ostre białaczki limfatyczne (Acute Lymphoid Leukemia – ALL) oraz ostre białaczki szpikowe (Acute Myeloid Leukemia – AML), pośród których najczęściej rozpoznaje się ostre białaczki mieloblastyczne, ostre białaczki mielomonocytarne, ostre białaczki erytroblastyczne i ostre białaczki megakariocytarne (4, 6, 10, 21-23).

Ostatnio wykazano (16), że podtyp morfologiczny oraz immunofenotyp najczęściej występujących ostrych białaczek u psów nie wpływa na wyniki postępowania terapeutycznego oraz oczekiwanej długości czasu po przeżyciu chemioterapii. W badaniach tych jedynymi czynnikami o wartości prognostycznej w przypadku ostrych białaczek bez względu na ich podtyp były wartości koncentracji neutrofilii we krwi oraz występowanie niedokrwistości, dlatego też uznano, że stosowana obecnie u psów klasyfikacja FAB wydaje się nie mieć przydatności praktycznej. Istnieje więc konieczność opracowania nowego podejścia klasyfikacyjnego, które wymagać będzie oceny nie tylko morfologii komórek, ale także, jak ma o miejsce u ludzi, powinna obejmować parametry immunofenotypowe, genetyczne/molekularne w powiązaniu z zachowaniem biologicznym podtypów ostrych białaczek oraz danych dotyczących czasu przeżycia pacjentów. Wydaje się również, że czynnikiem utrudniającym opracowanie takiej klasyfikacji jest stosunkowo niewielka liczba publikacji, które prezentowałyby analizy dotyczące odpowiednio dużych populacji psów dotkniętych ostrą białaczką (16). U ludzi chorujących na poszczególne typy ostrej białaczki do czynników wpływających na rokowanie należą: wiek pacjenta, rozpoznanie niedokrwistości w momencie rozpoznania, znacznego stopnia leukocytoza w momencie rozpoznania (16).

W krajowym piśmiennictwie brak jest informacji nt. występowania ostrych białaczek u psów w Polsce. Celem badań była analiza danych epidemiologicznych, klinicznych, laboratoryjnych oraz cytologicznych dotyczących psów z cytologicznie rozpoznaną ostrą białaczką.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 2384 psach, które w okresie 2009-2015 poddano badaniu cytologicznemu w dwóch instytucjach świadczących usługi lekarsko-weterynaryjne dla klientów z Warszawy i okolic. Do badania kwalifikowano psy, u których przeprowadzono badania cytologiczne szpiku kostnego z powodu stwierdzonych nieprawidłowości hematologicznych, sugerujących zaburzenia funkcji szpiku

i u których rozpoznano ostrą białaczkę. Przypadki były klasyfikowane jako ostro białaczka szpikowa, jeżeli odsetek nielimfoidalnych komórek blastycznych w szpiku kostnym lub krwi obwodowej wynosił co najmniej 30% wszystkich komórek jądrazstych, wyłączając limfocyty, makrofagi, komórki plazmatyczne i komórki tuczne (9). Przypadki były klasyfikowane jako ostro białaczka limfoblastyczna, jeżeli w szpiku kostnym lub krwi obwodowej obserwowano obecność nowotworowych limfoblastów (większe niż prawidłowe blasty, zmniejszona kondensacja chromatyny, zasadochłonność cytoplazmy, obecność jąder oraz nieregularnych jąder komórkowych) (9). W przypadku podejrzenia ostrej białaczki limfoblastycznej obecność znacznej limfadenomegalii sugerującej chłoniaka z zajęciem krwi obwodowej lub szpiku kostnego, a także obecność cytologicznych cech typowych dla specyficznych podtypów chłoniaka traktowano jako chłoniaka i nie uznawano za ostrą białaczkę limfoblastyczną.

Kryteria rozpoznania ostrej białaczki. Materiał do badania stanowiły rozmazy cytologiczne szpiku kostnego pobrane za pomocą igły Yamshidi, jednocześnie do badania pobierano krew obwodową i wykonywano z niej rozmazy cytologiczne. Rozmazy utrwalano wstępnie przez suszenie na wolnym powietrzu, następnie utrwalano w 70% metanolu, barwiono barwnikiem Giemsy i oceniano przy użyciu mikroskopu świetlnego. Rozpoznanie ostrej białaczki dokonywano w oparciu o kryteria zaproponowane przez Harveya (9) i McManusa (13), a następnie subklasyfikowano jako ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL), ostrą białaczkę niesklasyfikowaną (acute unclassified leukemia – AUL) lub ostrą białaczkę szpikową (AML). O ile było to możliwe, na podstawie morfologii komórek nowotworowych AMLs były dodatkowo klasyfikowane jako ostro białaczka mieloblastyczna z różnicowaniem (AML-M2), ostro białaczka mielomonocytna (AML-M4), ostro białaczka erytroblastyczna (AML-M6) lub inna.

Dane kliniczne i laboratoryjne. W każdym przypadku zebrano informacje odnośnie do płci, rasy i wieku, a także czasu trwania i występowania objawów klinicznych, wyników badania morfologicznego krwi oraz podstawowych parametrów biochemicznych. Ocenę parametrów hematologicznych przeprowadzono w oparciu o wartości referencyjne zaproponowane przez Bush (3): liczba białych krwinek (WBC) – 6-17 G/L; liczba czerwonych krwinek (RBC) – 5,5-8,5 T/L; koncentracja hemoglobiny (Hb) – 7,5-11,5 mmol/L; liczba płytek krwi (PLT) – 200-600 G/L. Trombocytopenię uznano za łagodną, gdy liczba PLT była w granicach 50-200 G/L, umiarkowaną 20-50 G/L i ostrą 20 G/L. Dodatkowo, o ile były dostępne, zebrano informacje odnośnie do zastosowanego leczenia, odpowiedzi na terapię oraz przyczynę śmierci.

Analiza statystyczna. Do podsumowania cech ilościowych (np. wieku, liczby białych krwinek itp.) wykorzystano średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe lub medianę (wartość środkową) i zakres międzykwartylowy (wartość dolnego i górnego kwartyla), zależnie od tego, czy cechy te miały rozkład normalny (oceniony na podstawie histogramów i wyników testu Shapiro-Wilka). Wiek między samcami i samicami porównano testem t-Studenta dla prób niezależnych. Predyspozycje rasowe do białaczek weryfikowano przez wyliczenie ilorazu szans narażenia (odds ratio, OR) wraz z ich 95% przedziałem ufności (95% confidence interval, 95% CI). Grupę kontrolną oparto na teoretycznym

rozkładzie ras 10 000 psów opracowanym z wykorzystaniem danych dotyczących ras wybranych klinik weterynaryjnych w Polsce leczonych na przestrzeni 5 lat (2009-2013). Odsetek osobników poszczególnych ras wśród psów chorych na białaczkę i w grupie kontrolnej został porównany za pomocą testu chi-kwadrat lub dokładnego testu Fishera. We wszystkich analizach przyjęto dwustronny poziom istotności (α) równy 0,05. Analizę statystyczną wykonano w programie Statistica 10 (StatSoft Inc.), a analizy epidemiologiczne w programie EpiTools (17).

Wyniki i omówienie

Spośród 2384 psów poddanych badaniu cytologicznemu w analizowanym okresie, materiał ze szpiku kostnego pobrano od 121 zwierząt (5,1% przypadków). Ostrą białaczkę rozpoznano u 31 (24,7%) psów, u których przeprowadzono badanie szpiku kostnego, co stanowiło 1,3% wszystkich psów poddanych badaniu cytologicznemu. Do szczegółowej analizy włączono 31 psów, u których na podstawie rutynowego badania cytologicznego rozpoznano ostrą białaczkę limfoblastyczną (23 przypadki; ryc. 1), ostrą białaczkę niezróżnicowaną (6 przypadków) oraz ostrą białaczkę szpikową – 2 przypadki, w tym jedną białaczkę mielomonocytną (ryc. 2) i jedną białaczkę erytroblastyczną (ryc. 3).

W związku z faktem, że w przypadku białacek ostrych proliferacji ulegają niedojrzałe, blastyczne komórki hematopoetyczne, rozpoznanie cytologiczne takich rozrostów jest zazwyczaj proste, jednakże trudności może sprawiać odróżnianie poszczególnych podtypów AL. Często niezwykle trudne jest odróżnienie nowotworowych komórek blastycznych hematopoezy od limfoblastów, mieloblastów, monoblastów, proerytroblastów/rubiblastów czy megakarioblastów (13, 14, 23). W związku z powyższym, w wielu przypadkach (w hematologii medycznej jest to standardem) do

Ryc. 1. Ostra białaczka limfoblastyczna u psa; w rozmazie aspiratów szpiku kostnego widoczne liczne młodociane limfoblasty, z całkowitym wyparciem komórek prawidłowej hematopoezy (barwienie odczynnikiem Giemsy, pow. $\times 40$). Wstawka: wynik barwienia immunohistochemicznego z przeciwciałem anti-CD3 – brązowa barwa cytoplazmy wskazuje na pochodzenie komórek z prekursorowych limfocytów T (barwienie immunocytochemiczne, przeciwciało anti-CD3, pow. $\times 40$)

prawidłowego rozpoznania wymagane jest wdrożenie dodatkowych metod identyfikacji komórek rozrostu, między innymi immunocytochemii, cytometrii przepływowej i badań genetycznych (1, 6, 10, 16, 18-20, 25). Z drugiej jednak strony, w świetle informacji uzyskanych przez Novacco i wsp. (16), u psów nie jest obecnie znany związek pomiędzy podtypem ostrej białaczki a odpowiedzią na leczenie czy rokowaniem. Ponadto, Adam i wsp. (1) oraz Novacco i wsp. (16) wskazują na wiele podobieństw odnośnie do klinicznych i laboratoryjnych cech ostrych białacek limfatycznych oraz

Ryc. 2. Ostra białaczka szpikowa u psa, prawdopodobnie ostra białaczka mielomonoblastyczna; jąderka są dobrze widoczne, jądra mniej lub bardziej nieregularne, w części komórek widać subtelne uziarninowanie cytoplazmy – w barwieniu immunocytochemicznym komórki nie wykazywały ekspresji antygenów typowych dla komórek linii limfoidalnej (barwienie odczynnikiem Giemsy, pow. $\times 100$)

Ryc. 3. Ostra białaczka szpikowa u psa, prawdopodobnie ostra białaczka erytroblastyczna; dominują komórki w typie proerytroblastów, część komórek wykazuje morfologię erytroblastów zasadochłonnych (barwienie odczynnikiem Giemsy, pow. $\times 100$)

ostrych białaczek szpikowych (bez względu na ich podtyp). W świetle dotychczasowych danych należy uznać, że precyzyjna klasyfikacja ostrych białaczek u psów nie ma przydatności klinicznej. Niestety, wdrożenie dodatkowych metod, które umożliwiają precyzyjną podklasyfikację ostrych białaczek u psów w praktyce klinicznej wiąże się ze zwiększonymi kosztami i wobec faktu braku przydatności praktycznej, często nie jest akceptowane przez właścicieli zwierząt (18). Można podejrzewać, że kolejne metody badawcze, między innymi ocena aberracji kariotypowych czy metod biologii molekularnej mogłyby umożliwić bardziej precyzyjną charakterystykę AL, z uwzględnieniem aspektów rokowniczych, jednak metody te (ze względu na koszty, złożoność, małą dostępność) nie są stosowane rutynowo w hematologii weterynaryjnej i wydaje się, że obecnie wykonywane są one raczej w celach badawczych, a tylko w wyjątkowych przypadkach w celach praktycznych (18, 25). Biorąc pod uwagę wszystkie wyżej wymienione aspekty, autorzy pracy zdecydowali, aby potraktować wszystkie rozpoznane przypadki jako pacjentów z tą samą chorobą – białaczką ostrą (bez względu na prawdopodobny podtyp cytomorfologiczny). Mimo że w opracowaniu podano pewne informacje dotyczące podklasyfikacji poszczególnych typów białaczek ostrych określonych na podstawie oceny rozmazów barwionych metodą rutynową, to należy uznać je za szacunkowe.

Brak jest wśród badaczy konsensusu na temat rozpowszechnienia poszczególnych podtypów białaczek ostrych u psów. Według niektórych danych najpowszechniejszym typem AL u psów są ostre białaczki limfoblastyczne, następnie ostre białaczki szpikowe i ostre białaczki niezróżnicowane (7, 10, 16, 19), jednak inne publikacje wskazują na podobną częstość występowania różnych typów białaczek u psów (1). W badaniach własnych wykazano, że ALL przeważają nad białaczkami szpikowymi, co w świetle braku zastosowania precyzyjnych metod podklasyfikacji komórek musi być traktowane z ostrożnością. Adam i wsp. (1) wskazują, że zastosowanie oceny morfologii komórek jako jedynej metody klasyfikacji sprawia, iż wiele przypadków nisko zróżnicowanych białaczek szpikowych bywa błędnie uznawanych za ALL.

W celu oceny ewentualnych predyspozycji rasowych do występowania białaczek ostrych, w niniejszych badaniach zastosowano porównawczą populację kontrolną, którą stanowiła populacja prawie 50 000 psów, pacjentów kilku „dużych” lecznic weterynaryjnych z terenu, z którego pochodziły psy objęte analizą. Analizowana populacja obejmowała 31 psów (16 samic – 51,6% oraz

Tab. 1. Rasa psów jako czynnik ryzyka rozpoznania ostrej białaczki

Rasa	Polski teoretyczny rozkład 10 000 psów, liczba (%)	Psy z rozpoznaną ostrą białaczką (n = 31), liczba (%)	OR	95% CI	p
Owczarek niemiecki*	717 (7,2)	10 (32,3)	6,2	2,9; 13,1	< 0,001
Golden retriever*	154 (1,5)	5 (16,1)	12,3	4,7; 32,4	< 0,001
Labrador retriever	292 (2,9)	2 (6,5)	2,3	0,5; 9,7	0,230
Tosa inu*	14 (0,1)	2 (6,5)	49,2	10,7; 22,6	0,001
Posokowiec bawarski*	41 (0,4)	2 (6,5)	16,7	3,9; 72	0,008
Owczarek środkowoazjatycki Duży pies szwajcarski*	35 (0,3)	2 (6,5)	19,6	4,5; 85	0,006
Yorkshire terrier	727 (7,3)	1 (3,2)	0,4	0,1; 3,1	0,724
Cocker spaniel	117 (1,2)	1 (3,2)	2,8	0,4; 21	0,307

Objaśnienie: * rasy psów predysponowane do ostrej białaczki

15 samców – 49,4%) w wieku $8,2 \pm 3,2$ lat (w zakresie od 2 do 14 lat): 10 owczarków niemieckich (32%), 5 golden retrieverów (16%), ponadto labradory, tosa inu, posokowce bawarskie (po dwa przypadki), a także owczarka środkowoazjatyckiego, yorkshire teriera, spaniela angielskiego oraz wielkiego psa szwajcarskiego (po jednym przypadku), dodatkowo ostre białaczki rozpoznano u 6 mieszańców. Analiza statystyczna wykazała predyspozycję pięciu ras psów do występowania ostrej białaczki: owczarek niemiecki, golden retriever, tosa inu, posokowiec bawarski, owczarek środkowoazjatycki i wielki pies szwajcarski (tab. 1). Zgodnie z danymi piśmiennictwa (16), białaczki ostre rozpoznaje się częściej u psów rasowych niż u mieszańców, wydaje się też, że szczególnie predysponowane są psy ras dużych i olbrzymich. W badaniach własnych wykazano wyraźną predyspozycję owczarków niemieckich oraz golden retrieverów, co z pewnymi wyjątkami wykazali też inni autorzy (1, 8, 12, 14, 16). Przykładowo wyraźną predyspozycję golden retrieverów do występowania ALL stwierdzili Adam i wsp. (1), jednak w analizie przeprowadzonej przez Stokol i wsp. (18) takiej skłonności nie potwierdzono. W związku z brakiem badań epidemiologicznych, które obejmowałyby dużą populację psów z ostrą białaczką szpikową, nie wykazano dotychczas wyraźnych predyspozycji rasowych do występowania tych nowotworów u psów, jednak wiele udokumentowanych i opisanych przypadków różnych typów ostrych białaczek szpikowych rozpoznano właśnie u owczarków niemieckich i golden retrieverów (18-21, 23).

U ludzi ostre białaczki limfoblastyczne często są rozpoznawane u osób młodych, w tym dzieci, z kolei ostre białaczki szpikowe pojawiają się u osób starszych. Istnieją pewne doniesienia w piśmiennictwie weterynaryjnym, że podobnie może być z ALL u psów, jednak ani badania innych autorów, ani obserwacje własne nie wykazały, że jest to zgodne z prawdą (18, 23).

U 17 spośród 31 psów objętych badaniem rozpoznanie ostrej białaczki określono na podstawie badania aspiratów szpiku kostnego i rozmazów krwi obwodowej, u 12 psów wyłącznie na podstawie badania aspiratów szpiku kostnego, a u 2 psów na podstawie badania cytologicznego rozmazów krwi obwodowej,

co następnie potwierdzono badaniem cytologicznym aspiratów szpiku kostnego. W większości przypadków (28 na 31 przypadków, 97%) aspiraty szpiku kostnego były bogatokomórkowe z absolutną dominacją (powyżej 80-90% komórek jądrzastych szpiku kostnego) komórek blastycznych. W jednym przypadku szpik był ubogokomórkowy, jednak wszystkie komórki w tych rozmazach uznano za blastyczne komórki nowotworowe. W większości przypadków ostrych białaczek w niniejszych badaniach rozpoznanie stawiano na podstawie badania cytologicznego aspiratów szpiku kostnego. Praktycznie we wszystkich przypadkach szpik kostny był bogatokomórkowy i zawierał absolutną dominację komórek nowotworowych, dzięki czemu rozpoznanie było stosunkowo proste. Chociaż wiarygodne rozpoznanie ostrej białaczki można postawić na podstawie stwierdzenia, że minimum 20-30% komórek szpiku to komórki blastyczne, to w zdecydowanej większości opisywanych przypadków liczba blastów jest zdecydowanie wyższa i często osiąga od 70% do 90% wszystkich komórek jądrzastych szpiku kostnego (10, 14, 15, 21). W prezentowanych badaniach podczas oceny cytologicznej szpiku kostnego prawidłowe komórki hematopoezy były obserwowane rzadko, niekiedy nie były one nieobecne, co uznaje się za typową cechę ostrych białaczek u psów (10). W odróżnieniu od ostrych białaczek, odsetek komórek nowotworowych w aspiratach pobranych ze szpiku kostnego w przypadku chłoniaków u psów przebiegających z zajęciem szpiku kostnego jest zazwyczaj zdecydowanie mniejszy, dlatego też ten parametr w połączeniu z cechami cytomorfologicznymi komórek nowotworowych oraz prezentacją kliniczną umożliwił odróżnienie AL od chłoniaka.

Czas trwania objawów klinicznych od ich zaobserwowania do rozpoznania w populacji analizowanych 31 psów wahał się w granicach od 2 do 60 dni (mediana 14 dni). Najpowszechniej występującymi objawami klinicznymi były: apatia (obecna u 60% psów), nawracająca gorączka (57% psów), brak apetytu (43% psów), łagodna limfadenomegalia obwodowa (37% psów), łagodne powiększenie śledziony (33% psów), utrata masy ciała (30% psów) i spontaniczne krwawienie (10% psów). Objawy kliniczne obserwowane w przypadku ostrych białaczek u psów są najczęściej wysoce niespecyficzne, jednak zazwyczaj pojawiają się nagle, powodując szybkie pogarszanie się stanu ogólnego pacjenta, co z kolei jest już dość typowe dla ostrej białaczki, szczególnie wtedy, gdy objawów klinicznych nie da się wytłumaczyć żadną przyczyną (1, 4, 13-16, 20, 21, 23). Jedynie u dwóch spośród wszystkich badanych psów czas, jaki minął od pojawienia się pierwszych objawów klinicznych do rozpoznania, był dłuższy niż 4 miesiące, jednak w zdecydowanej większości przypadków rozpoznanie uzyskiwano w przeciągu dwóch tygodni. Splenomegalię i limfadenomegalię stwierdzono u około 30% psów objętych badaniem.

Badania hematologiczne przeprowadzone u psów objętych badaniami wykazały leukocytozę nowotworową (białackowa/leukemiczna postać białaczki; WBC > 17

G/L) u 22 (76%) pacjentów (mediana WBC 99,6 G/L, IQR od 56,2 do 187 G/L, zakres od 17,7 do 516 G/L). U 7 (24%) psów komórki nowotworowe nie były obecne we krwi obwodowej (aleukemiczna postać białaczki). Dodatkowo, komórki nowotworowe obserwowano we krwi obwodowej 4 psów ze stwierdzoną leukopenią. Wyniki RBC i stężenia hemoglobiny były dostępne u 28 spośród 31 psów. Obniżenie wartości RBC i stężenia hemoglobiny były stwierdzone u, odpowiednio, 24 (86%) i 16 (65%) psów. Wyniki wartości liczby płytek krwi były dostępne u 27 spośród 31 psów. U 23 (85%) psów stwierdzono trombocytopenię, z kolei umiarkowana i znaczna trombocytopenia wystąpiła u, odpowiednio, 4 (15%) i 2 (7%) psów. Spontaniczne krwawienia miały miejsce u jednego psa ze znaczną trombocytopenią i u dwóch psów z łagodną trombocytopenią.

Według danych piśmiennictwa, w większości przypadków podstawą wstępnego rozpoznania ostrej białaczki, bez względu na jej podtyp, jest wykrycie leukocytozy, której nasilenie określono jako umiarkowane (powyżej 40 G/L) lub też jako bardziej typowe, znaczne lub ekstremalne (powyżej 100-500 G/L), poparte badaniem cytologicznym rozmazów krwi obwodowej (1, 16, 20). W badaniach własnych ten objaw laboratoryjny był obserwowany u większości psów z AL (76%), z podobną częstością, jak podają autorzy innych badań (1, 10, 18, 19), bez różnic pomiędzy nasileniem leukocytozy a podtypem białaczki ostrej (ALL i AML), a także pomiędzy ostrą białaczką limfoblastyczną i przewlekłą białaczką limfocytarną.

Rozpowszechnienie niedokrwistości oraz trombocytopenii w populacji psów objętych badaniami było takie samo, jak opisywane przez innych autorów (4, 7, 10, 14-16, 18, 20, 21, 23). Niedokrwistość w przebiegu ostrej białaczki może być spowodowana kilkoma czynnikami, do których należą: wyparcie komórek hematopoezy przez komórki nowotworowe (*myelophthisis*), uszkodzenie erytrocytów spowodowane czynnikami immunologicznymi czy zahamowanie hematopoezy przez czynniki humoralne produkowane przez komórki zapalne lub nowotworowe. Podobne czynniki mogą być zaangażowane w wywoływanie małopłytkowości, w prezentowanym badaniu obniżenie płytek krwi miała najczęściej łagodne nasilenie i jedynie u 22% pacjentów z ostrą białaczką można je było uznać za umiarkowane lub znaczne, jednak spontaniczne krwawienie obserwowano u jednego psa ze znaczną małopłytkowością. W związku z tym, że w badaniach własnych ocena cytologiczna szpiku kostnego pacjentów z AL wykazywała znaczne zajęcie przez proces nowotworowy, można przyjąć, że główną przyczyną zarówno niedokrwistości, jak i małopłytkowości było wyparcie komórek hematopoezy przez komórki białaczki. Istotne jest, że zarówno w badaniach własnych, jak i Adama i wsp. (1) nie stwierdzono różnic w nasileniu cytopenii pomiędzy psami z ALL i AML, co wskazuje, że zarówno wystąpienie, jak i nasilenie niedokrwistości i trombocytopenii nie mają znaczenia w odróżnianiu pomiędzy różnymi typami białaczek ostrych u psów.

Chemioterapię antynowotworową wdrożono u 7 psów (23% przypadków) objętych badaniem – zastosowano dwa protokoły chemioterapeutyczne (schemat oparty na L-asparaginazie w 4 przypadkach i schemat oparty na winkrystynie w 3 przypadkach). Mediana całkowitego okresu przeżycia dla wszystkich leczonych psów wyniosła 19 dni (od 1 do 140 dni). Spośród pozostałych 24 psów, 22 (83%) psy poddano eutanazji tuż po uzyskaniu rozpoznania lub wkrótce po nim, z kolei 2 (17%) psy padły spontanicznie w czasie niedługim od uzyskania rozpoznania (u jednego psa odnotowano silny napad padaczki, u innego doszło do ciężkiej niewydolności oddechowej). Jak podają inni autorzy (4, 11, 15, 21, 23), rokowanie u psów z rozpoznaną ostrą białaczką jest złe, zdecydowana większość chorych zwierząt pada spontanicznie lub jest poddawana eutanazji w związku z szybko pogarszającym się stanem zdrowia i niekorzystnym rokowaniem. W badaniach Novacco i wsp. (16), obejmujących 64 psy z rozpoznaną ostrą białaczką, 21% z nich poddano eutanazji wkrótce po rozpoznaniu. W badaniach własnych większość psów, u których nie podjęto próby leczenia, zostało poddanych eutanazji z powodów wymienionych powyżej. Jedynie u 23% psów wprowadzono różne schematy chemioterapeutyczne, z medianą okresu przeżycia podobną do uzyskanej przez innych badaczy (11, 16). Mediana okresu przeżycia psów z ostrą białaczką jest krótka i wynosi zazwyczaj 7-9 dni od rozpoznania, bez względu na to, czy zastosuje się jakiegokolwiek leczenie, a także niezależnie od podtypu i immunofenotypu komórek nowotworowych, wieku, płci czy rasy pacjenta. Według Joupperi i wsp. (11), w grupie 16 psów z ostrą białaczką szpikową mediana okresu przeżycia wyniosła 7 dni, zwierzęta przeżyły od 2 do 138 dni od rozpoznania. W badaniach innych autorów (10) długość okresów przeżycia psów z AL, u których zastosowano złożone schematy chemioterapeutyczne, wynosiła od 10 do 47 dni od rozpoznania. Brak jest dotychczas określonych parametrów, które miałyby znaczenie rokownicze u chorych psów. Jedynym określonym do tej pory czynnikiem, który może mieć takie znaczenie u psów z AL jest liczba neutrofili w momencie rozpoznania. Mianowicie, okresy przeżycia są dłuższe u psów, u których w momencie rozpoznania liczba neutrofili we krwi obwodowej była prawidłowa, w porównaniu do osobników z neutropenią (16).

W podsumowaniu przeprowadzonych badań można stwierdzić, że ostre białaczki nie są często rozpoznawane u psów, natomiast takie rozpoznanie uzyskuje się dość często u pacjentów poddanych badaniu cytologicznemu szpiku kostnego. Choroba występuje głównie u psów w średnim wieku, z wyraźną predyspozycją psów ras dużych i olbrzymich, w szczególności owczarków niemieckich i golden retrieverów. Bez względu na podtyp rozpoznanej białaczki rokowanie dla pacjenta jest niekorzystne. Przy obecnym stanie wiedzy na temat białaczek ostrych rutynowe badanie cytologiczne szpiku kostnego z zastosowaniem rutynowych metod barwienia jest w zdecydowanej większości przypadków procedurą wystarczającą do postawienia prawidłowego rozpoznania.

Piśmiennictwo

1. Adam F., Villiers E., Watson S., Coyne K., Blackwood L.: Clinical pathological and epidemiological assessment of morphologically and immunologically confirmed canine leukemia. *Vet. Comp. Oncol.* 2009, 7, 181-195.
2. Bennett J. M., Catovsky D., Daniel M. T., Flandrin G., Galton D. A., Gralnick H. R., Sultan C.: Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br. J. Haematol.* 1976, 33, 451-458.
3. Bush B. M. (ed.): Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicians. John Wiley and Sons Ltd., London 1995.
4. Comazzi S., Gelain M. E., Bonfanti U., Roccabianca P.: Acute megakaryoblastic leukemia in dogs: a report of three cases and review of the literature. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2010, 46, 327-335.
5. Comazzi S., Gelain M. E., Martini V., Riondato F., Miniscalco B.: Immunophenotype predicts survival time in dogs with chronic lymphocytic leukemia. *J. Vet. Intern. Med.* 2011, 25, 100-106.
6. Ferreira H. M. T., Smith S. H., Schwartz A. M., Milne E. M.: Myeloperoxidase-positive acute megakaryoblastic leukemia in a dog. *Vet. Clin. Pathol.* 2011, 40, 530-537.
7. Gelain M. E., Martini V., Giantin M., Arico A., Poggi A., Aresu L., Riondato F., Dacasto M., Comazzi S.: CD44 in canine leukemia: Analysis of mRNA and protein expression in peripheral blood. *Vet. Immunol. Immunopath.* 2014, 159, 91-96.
8. Grindem C. E., Stevens J. B., Perman V.: Morphological classification and clinical and pathological characteristics of spontaneous leukaemia in 17 dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 1985, 21, 219-226.
9. Harvey J. H. (ed.): Hematopoietic neoplasms. Atlas of Veterinary Hematology. J. H. Saunders, Philadelphia 2001, s. 163-184.
10. Hisasue M., Nishimura T., Neo S., Nagashima N., Ishikawa T., Tsuchiya R., Yamada T.: A dog with acute myelomonocytic leukemia. *J. Vet. Med. Sci.* 2008, 70, 619-621.
11. Joupperi T. A., Bienze D., Bernreuter D. C., Vernau W., Thrall M. A., McManus P. M.: Prognostic markers for myeloid neoplasms: A comparative review of the literature and goals for future. *Vet. Pathol.* 2011, 48, 182-197.
12. Matus R. E., Leifer C. E., MacEwen E. G.: Acute lymphoblastic leukemia in the dog: a review of 30 cases. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, 183, 859-862.
13. McManus P. M.: Classification of the myeloid neoplasms: a comparative review. *Vet. Clin. Pathol.* 2005, 34, 189-212.
14. Miglio A., Antognoni M. T., Miniscalco B., Calvano D., Lepri E., Birettoni F., Mangili V.: Acute undifferentiated leukaemia in a dog. *Aust. Vet. J.* 2014, 92, 499-503.
15. Mylonakis M. E., Kritsepi-Konstantinou M., Vernau W., Valli V. E., Pardali D., Koutinas A. F.: Presumptive pure erythroid leukemia in a dog. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012, 24, 1004-1007.
16. Novacco M., Comazzi S., Marconato L., Cozzi M., Stefanello D., Aresu L., Martini V.: Prognostic factors in canine acute leukaemias: a retrospective study. *Vet. Comp. Oncol.* doi: 10.1111/vco.12136, 2015.
17. Sergeant E. S. G.: Epitools Epidemiological Calculators. AusVet Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease. 2015, Available at: <http://epitools.ausvet.com.au>
18. Stokol T., Schaefer D., Shuman M., Belcher N., Dong L.: Alkaline phosphatase is a useful cytochemical marker for the diagnosis of acute myelomonocytic and monocytic leukemia in the dog. *Vet. Clin. Pathol.* 2015, 44, 79-93.
19. Tasca S., Carli E., Caldin M., Menegazzo L., Furlanello T., Gallego L. S.: Hematologic abnormalities and flow cytometric immunophenotyping results in dogs with hematopoietic neoplasia: 210 cases (2002-2006). *Vet. Clin. Pathol.* 2009, 38, 2-12.
20. Tasca S., Furlanello T., Caldin M.: High serum and urine lysozyme levels in a dog with acute myeloid leukemia. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2010, 22, 111-115.
21. Tomiyasu H., Fujino Y., Takahashi M., Ohno K., Tsujimoto H.: Spontaneous acute erythroblastic leukemia (AML-M6Er) in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 2011, 52, 445-447.
22. Vail D. M., Young K. M.: Canine lymphoma and lymphoid leukaemia. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. Saunders Elsevier, St. Louis 2007, s. 699-768.
23. Valentini F., Tasca S., Gavazza A., Lubas G.: Use of CD9 and CD61 for the characterization of AML-M7 by flow cytometry in a dog. *Vet. Comp. Oncol.* 2011, 10, 312-318.
24. Vardiman J. W., Thiele J., Arber D. A., Brunning R. D., Borowitz M. J., Porwit A., Harris N. L., Le Beau M. M., Hellström-Lindberg E., Tefferi A., Bloomfield C. D.: The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009, 114, 937-951.
25. Vernau W., Moore P. F.: An immunophenotypic study of canine leukemias and preliminary assessment of clonality by polymerase chain reaction. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1999, 69, 145-164.

Adres autora: dr hab. Rafał Sapierzynski, prof. nadzw. SGGW, ul. Nowoursynowska 159c, 02-766 Warszawa; e-mail: sapieh@wp.pl