



UNIVERSITA' DI PISA
Corso di Laurea Magistrale in Medicina Veterinaria

*Sviluppo di un registro tumori animali in
alcune aree della Toscana*

Candidato: CARRARO Francesca

Relatori: Prof. POLI Alessandro

Dott. MILLANTA Francesca

Dott. LORETTI Enrico

ANNO ACCADEMICO 2008-2009

INDICE

1 Riassunto	pag 3
2 Abstract	pag 3
3 Intoduzione	pag 4
3.1 Premessa	pag 4
3.2 Attività dei registri oncologici con particolare riferimento al registro Oncologico toscano (RoVeT)	pag 6
3.3 Mappatura del rischio urbano tramite indicatore biologico	pag 9
3.4 Situazione epidemiologica in ambito animale	pag 11
3.5 Nascita dei registri tumori animali.....	pag 17
4 Obiettivi	pag 25
5 Allegato	pag 28
6 Materiali e metodi	pag 29
5.1 Raccolta e catalogazione dei casi in esame	pag 29
5.2 Determinazione dell'area geografica in esame e della popolazione a Rischio	pag 32
5.3 Calcolo dei tassi di incidenza delle neoplasie	pag 34
7 Bibliografia	pag 37

RIASSUNTO

Parole chiave: registro tumori, cane, gatto, epidemiologia, neoplasia.

Lo studio dei tumori in medicina veterinaria sta acquistando un'importanza sempre maggiore: la necessità di conoscere l'incidenza delle neoplasie, di individuare le possibili cause, di valutare i trattamenti terapeutici più indicati e di ottenere indicazioni sulle misure preventive da adottare ha reso essenziale la raccolta di una casistica che permettesse di effettuare studi epidemiologici significativi. Il Registro tumori animali della regione Toscana (RoVeT), è nato agli inizi del 2006 con la collaborazione della Regione Toscana, la Azienda USL 10 di Firenze ed il Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti dell'Università di Pisa. L'intento ultimo è quello di raccogliere in modo coordinato i tumori animali sul territorio toscano. L'iniziativa ha alla base l'ipotesi, riscontrabile in letteratura, che esistono similitudini tra le patologie neoplastiche riscontrate nell'uomo e negli animali domestici. Ciò permette di considerare tali animali come sentinelle biologiche utili alla identificazione di fattori di rischio oncogeno ambientale. L'elaborazione delle indagini che scaturiscono dai risultati di questa tesi hanno reso possibile la stima delle popolazioni canina e felina della provincia di Firenze, la quale, è risultata di 56.502 e 78.314 soggetti rispettivamente. L'incidenza di neoplasie maligne è stata stimata pari a 94,9 per 100.000 cani/anno e per le neoplasie benigne 81,4. Nella popolazione felina il tasso di incidenza per le neoplasie maligne è stato di 45,9 mentre per quelle benigne 12,7 per 100.000 gatti/anno.

ABSTRACT

Key words: tumor registry, dog, cat, epidemiology, neoplasm.

Veterinary and comparative oncology is taking place nowadays: the need to know the tumors' incidence and causes, to evaluate the best treatment, and to obtain preventive informations makes the collection of data essential. At the beginning of 2006 the Tumor Registry of Tuscan Region (RoVeT) started its activity in collaboration with Regione Toscana, ASL 10, and the Department of Animal Pathology of the University of Pisa. The aim of the registry and of this thesis was to collect animal tumors and to study their epidemiology, based on the concept that similarities exist between animal and human neoplasm. The approaches used in this work in fact, employ animals as useful biologic model to identify cancer factor risks. In our study the canine and feline populations of the Province of Florence was estimated, and resulted in 56.502 and 78.314 subjects respectively. The incidence ratio for malignant tumors in the canine population was as well estimated and resulted in 94,9 cases per 100.000 dogs/year and 81,4 cases for benign neoplasms. With respect to cats, the incidence ratio for malignant forms was 45,9 per 100.000 cats/year, and 12,7 for benign neoplasms.

3. INTRODUZIONE

3.1. Premessa

Sono ormai molti gli studi che comprovano l'importanza di valutare l'incidenza delle neoplasie partendo negli animali domestici, i cani ed i gatti in particolare, in quanto annoverate come le cause più importanti di decesso. Queste una prevalenza in continuo aumento, come è stato recentemente dimostrato in Inghilterra e Svezia (*Michell 1999, Bonnet et al 1997*). Il motivo di questa crescita è dovuto sia alle caratteristiche patogenetiche intrinseche di tali malattie sia al notevole avanzamento delle tecniche diagnostiche in campo oncologico.

Gli animali domestici "di oggi" condividono con il proprio proprietario il medesimo ambiente di vita esponendoli così agli stessi potenziali fattori di rischio neoplastico. E' stato infatti questo il motivo che ha indirizzato molti studi oncologici ad utilizzare cani e gatti come vere e proprie sentinelle biologiche, considerando l'importanza dei fattori di rischio ambientali.

I motivi che hanno portato un incremento delle neoplasie negli animali domestici, in questi ultimi anni, sono molteplici. Principalmente va ricordato il considerevole aumento di cani e gatti nelle famiglie italiane e l'allungamento della loro vita media, fattore che ha determinato la crescita di una popolazione anziana e di conseguenza, dato che le patologie neoplastiche si presentano con una maggiore frequenza man mano che l'età aumenta, vi è stato un incremento dell'incidenza di queste patologie. Da segnalare anche un aumento del numero delle diagnosi, legato ad un miglioramento delle metodiche diagnostiche e della professionalità dei medici veterinari, sempre più aggiornati rispetto agli anni passati e sempre più inclini ad attuare protocolli di prevenzione per queste malattie che, se diagnosticate per tempo, risultano in grado di dare delle notevoli soddisfazioni terapeutiche. Non va dimenticato che l'aumento di queste

patologie è, inoltre, strettamente correlato, come in campo umano, ad una notevole sovraesposizione ad agenti mutageni, legati all'inquinamento atmosferico ed alimentare; è proprio per questo motivo che agli animali viene riconosciuto il ruolo di sentinelle e modelli di studio nei confronti dei sopra citati fattori di rischio.

Si possono infatti riscontrare in letteratura, molte similitudini tra le caratteristiche delle neoplasie nell'uomo e negli animali domestici, come l'istotipo, la patogenesi, il comportamento biologico e le modalità di insorgenza. Nella specie canina in particolare si può constatare una risposta biologica ai carcinogeni simile a quella dell'uomo; inoltre, ma non per questo meno importante, lo studio degli indici di prevalenza e di incidenza dei tumori negli animali da compagnia presenta il vantaggio di un ridotto periodo di insorgenza in virtù di un'attesa di vita più breve e non influenzato dalle esposizioni occupazionali e voluttuarie come fumo ed alcool che si riscontrano nell'uomo.

Alla luce di queste considerazioni e di altri studi svolti nel corso degli ultimi decenni si è assistito alla nascita di Registri Tumori anche in campo veterinario.

L'intento ultimo di questo registro è quello di raccogliere e catalogare in modo ordinato i tumori animali sul territorio toscano, in modo da ottenere un quadro generale della situazione epidemiologica sul nostro territorio calcolando in tal modo una stima di incidenza attendibile.

In ambito veterinario la realizzazione di tali studi può risultare molto difficile; la prima difficoltà si mostra durante la valutazione della reale stima della popolazione, soprattutto di quella felina, dal momento che non esistono accurati metodi di censimento. La presenza di tali errori può comportare una sottostima della effettiva casistica ed una sovrastima di patologie evidenti come le neoplasie mammarie o cutanee.

Prima di illustrare le metodologie intraprese in questo lavoro per lo studio accurato delle neoplasie animali, verranno chiariti alcuni punti fondamentali di questo progetto in modo da fornire un quadro completo

3.2. Attività dei registri oncologici con particolare riferimento al "Registro oncologico Toscano" (RoVeT)

Con il termine "Registro Oncologico" si vogliono integrare più funzioni, esso rappresenta infatti "un'organizzazione per la raccolta, archivio, analisi ed interpretazione dei dati relativi dei soggetti affetti da neoplasie" (*Muir et al 1985*). I registri oncologici prendono origine nel campo della medicina umana e trovano oggi largo impiego andando a coprire quasi l'80% del territorio nazionale e costituendo oggi una associazione (AIRT- Associazione Nazionale Italiana Registri Tumori), rivolta alla promozione e al coordinamento di attività e progetti di ricerca su scala nazionale, nell'ambito dello studio sull'andamento dei tumori in Italia (*Guzzinati e Spitale 2004*).

Con l'attivazione dei registri tumori si crea la possibilità di comparazione degli indici di prevalenza ed incidenza tra le varie tipologie neoplastiche. Inoltre i registri oncologici raggruppano le casistiche per aree geografiche ed in tal modo le comparazioni vengono effettuate in maniera incrociata tra le diverse aree geografiche nazionali ed internazionali.

Uno studio condotto agli inizi del 2000 nel Regno Unito sull'incidenza dei tumori in una popolazione di cani ha fornito informazioni sulla distribuzione delle diverse neoplasie, mostrando che questa non si allontana dai dati ottenuti tramite il Registro Oncologico Veterinario Toscano. Lo studio inglese riporta infatti una netta prevalenza di neoplasie sviluppate su cute e tessuti molli (*Dobson e Samuel 2002*).

Lo scopo ultimo di un Registro Tumori è quello di fornire dati concreti ed il più vicino possibile alla realtà degli indici di incidenza delle varie forme tumorali in una determinata area geografica, è infatti alla base della sua realizzazione la scelta e l'identificazione perimetrale dell'area cui ci si deve

attenere per la raccolta dei casi. In questo modo diviene possibile attuare uno studio su campioni con anamnesi comuni e che quindi possono essere analizzati in modo da formare un insieme omogeneo tale da indirizzare lo studio successivo alla ricerca di probabili fattori di rischio ambientale.

La tesi a sostegno della ricerca dei promotori oncogeni ambientali potrà essere in futuro avvalorata da un confronto diretto con registri tumori ospedalieri attivati nelle stesse aree.

Oltre a rendere possibile l'individuazione delle incidenze e delle prevalenze nelle varie forme tumorali si apre la possibilità di potere studiare il comportamento biologico di alcune neoplasie suddividendo il periodo di riferimento a seconda del caso.

E' stato studiato infatti che alcuni tipi di tumori presentano un andamento crescente considerando periodi di riferimento piuttosto brevi, altri subiscono oscillazioni riferibili per lo più a cambiamenti generazionali, altri mostrano una incidenza stabile con il progredire del tempo.

Naturalmente per uno studio basato sull'andamento temporale delle neoplasie in campo veterinario possono essere risultano evidenti altri problemi, principalmente legati alla giovane età di tali registri oncologici veterinari che però nel corso degli anni potranno, alla stessa stregua, dei registri oncologici umani dare i propri frutti. Inoltre non è da sottovalutare il progresso tecnologico che gli strumenti diagnostici in campo oncologico stanno subendo: infatti nel corso degli anni i tempi di diagnosi si accorciano, l'accuratezza delle diagnosi stesse migliora e grazie a software sempre più precisi la catalogazione risulta più efficiente.

Studi preliminari condotti presso il Dipartimento di Patologia Animale dell'università di Pisa, dove da decenni è in funzione un registro Tumori, sono stati rivolti alla valutazione epidemiologica delle neoplasie presenti in parte del territorio toscano, effettuando una divisione in province per cercare di valutare se esistano o meno differenze significative nella presenza di tumori da un'area all'altra. L' area geografica analizzata, che rappresenta il bacino d'utenza del Registro Tumori e che quindi fornisce la

totalità dei casi presenti, è la provincia di Firenze. La scelta di tale area geografica è stata determinata, oltre che dalla massiccia urbanizzazione anche dalla presenza di un alto numero di insediamenti industriali, quali industrie tessili, conciarie, di vivai, e dall'industria del mobile nella zona del Valdarno.

E' stata effettuata un'indagine sulle frequenze relative ad età, razza e sesso per le specie felina e canina, nonché della distribuzione delle frequenze relative delle varie neoplasie secondo le province oggetto di studio. Sono state per esempio evidenziate differenze significative nella distribuzione dei tumori mammari e degli adenocarcinomi delle ghiandole perianali e dei mastocitomi. Perché i dati osservati possano diventare veramente la spia di una situazione a rischio, sarebbe necessario conoscere il tasso di incidenza di tali neoplasie. Per fare ciò occorre conoscere la consistenza di tutta la popolazione da cui vengono estrapolati i dati. In campo veterinario questo risulta di difficile esecuzione, per la costituzione di un sistema anagrafico troppo recente per la specie canina, che non ha ancora individuato tutti i soggetti presenti nel territorio, ed ancora in fase limitata nella specie felina, in quanto l'identificazione riguarda solamente i soggetti muniti di passaporto sanitario.

Per questo motivo, l'utilizzo dei registri, rimane l'unica alternativa valida per l'individuazione delle neoplasie: pur non fornendo tassi di incidenza, consente una stima dell'incidenza proporzionale, data dal numero di soggetti affetti da una neoplasia rispetto a tutti i tumori registrati. Maggiore sarà il numero dei casi registrati, maggiore sarà anche la concretezza dei dati che ne derivano. Diventerà pertanto essenziale cercare di ottenere il maggior numero di informazioni inerenti la neoplasia, il soggetto in esame, l'ambiente in cui l'animale vive, sia per cercare di individuare i possibili fattori predisponenti l'insorgenza, sia perché l'animale da compagnia, condividendo lo stesso ambiente dell'uomo, può rappresentare un valido strumento per individuare i rischi ambientali cui l'uomo è soggetto.

3.3. Mappatura del rischio urbano tramite indicatore biologico

Lo studio dei tumori in patologia e clinica veterinaria sta acquistando un'importanza sempre maggiore: la necessità di conoscere l'incidenza delle neoplasie, di individuare le possibili cause che le determinano, di valutare i trattamenti terapeutici più indicati e di ottenere indicazioni sulle misure preventive da adottare ha reso essenziale la raccolta di una casistica sempre più ampia che permettesse di effettuare studi epidemiologici significativi. A tal fine si mostra chiara l'importanza di raccogliere il maggior numero di campioni possibili di neoplasie sul territorio per il calcolo dell'incidenza.

Di utilità per i nostri fini si renderanno inoltre necessarie tutte le informazioni relative ad ogni singolo campione: anamnesi e segnalamento del soggetto, sede topografica della lesione di cui si dovrà specificare anche se singola o meno, se primaria o recidivante, se si sono sviluppate metastasi, le dimensioni ed il tempo di insorgenza. Tali dati possono servire sia per una prima ipotesidiagnostica, ma soprattutto per confermare il comportamento biologico di una neoplasia ed eventualmente per identificare una variazione di tale comportamento.

I dati rinvenuti verranno poi registrati in un database il quale conterrà tutte le informazioni di ogni singolo caso, la sua refertazione e sarà di facile accesso, in modo da ottenere una rapida consultazione delle

informazioni da analizzare per lo studio epidemiologico.

Infatti in questo modo si potranno studiare i dati suddivisi anche in sottogruppi e calcolare i tassi di incidenza e prevalenza in base alla specie, alla razza, al sesso e all'età, calcolando tendenze e disomogeneità.

In medicina umana ad esempio è stato condotto uno studio sull'incidenza del sarcoma di *Ewing* per valutare come fattore di rischio proprio la razza e l'etnia, valutando una maggiore incidenza nelle razze europee rispetto ad individui di etnia africana ed asiatica (*Worch et al. 2010*).

La razza rappresenta un aspetto molto importante da valutare nell'insorgenza di determinati tumori animali, tuttavia poiché la situazione risulta molto diversa da un Paese all'altro, se non da una regione all'altra, in relazione alle preferenze del proprietario ed all'uso cui l'animale viene destinato, per poter affermare che una razza ha una predisposizione per una neoplasia è necessario confrontare i dati ottenuti dal maggior numero di studi per valutare se la frequenza è statisticamente significativa.

Le variabili più frequentemente utilizzate negli studi sulle neoplasie degli animali domestici sono l'età, il sesso e la razza, come abbiamo sopra accennato, ma potenzialmente possono essere estese ad altri elementi di provata significatività, quali la taglia, lo stato immunitario, eventuali anomalie cromosomiche e soprattutto l'ambiente di vita del soggetto neoplastico.

Ricordiamo quindi che il calcolo della misura di incidenza necessita di dati attendibili soprattutto per la quantificazione della popolazione che andrà ad identificare il denominatore nello studio dei tassi.

L'analisi dei dati presenti negli archivi ci permetterà di effettuare studi di coorte e caso-controllo che dimostrano e confermano la validità delle ipotesi eziologiche; il loro utilizzo rappresenta quindi un valido strumento per la salute umana.

Lo studio dei tumori in ambito veterinario dovrebbe evolvere in questo senso, con il fine sia di individuare e caratterizzare le patologie neoplastiche che li interessano, sia in considerazione del fatto che l'animale d'affezione è a stretto contatto con l'uomo, ne condivide lo stesso ambiente con importanti implicazioni che coinvolgono la sfera della salute pubblica.

Uno studio condotto presso l'Università di Medicina del New Jersey sul carcinoma nasale del cane è stato in grado di identificarne i fattori di rischio domestici, e quindi di utilizzare tale animale come sentinella per l'individuazione dei carcinogeni. Grazie alle informazioni ottenute tramite la compilazione di un questionario da parte dei proprietari riguardo le più comuni abitudini casalinghe, è stato visto che il carbone ed il kerosene utilizzati come combustibili rappresentano i maggiori fattori di rischio. L'esposizione al fumo di sigaretta, al contrario, non ha portato significativi risultati, mentre gli animali studiati hanno mostrato la loro utilizzazione come sentinelle di fattori di rischio (*Bukowskj et al 1998*).

La raccolta dei dati rappresenta una fase fondamentale nell'analisi epidemiologica delle neoplasie, infatti senza tale specificità rischieremmo di perdere informazioni utili per lo studio biologico dei tumori.

3.4. Situazione epidemiologica in ambito animale

Abbiamo già accennato alla non facile realizzazione di questi studi a causa della difficoltà di reperimento di dati certi sulla popolazione canina e felina: la specie felina, in termini quantitativi, può essere solo stimata, mentre per quanto riguarda la popolazione canina disponiamo ora di una anagrafe obbligatoria per la registrazione dei soggetti, la quale però purtroppo pecca per la giovane età.

Inoltre, un dato di estrema importanza, ma purtroppo spesso sottostimato è costituito da tutte quelle neoplasie diagnosticate esclusivamente clinicamente a cui non segue una chirurgia e quelle che vengono asportate ma che non vengono destinate ad indagini istopatologiche.

Si deve quindi pensare al valore che si ottiene come un dato sottostimato, ma non per questo non attendibile. Saranno infatti le informazioni raccolte a dare le direzioni in cui dirigere gli studi epidemiologici, i quali

non avranno infatti solo un valore quantitativo, ma saranno l'imput per promuovere nuove ricerche valutando in maniera incrociata neoplasie, età, razza e specie.

Una volta identificata, per un determinato tumore, una differenza in alcune variabili tra animali con il tumore e quelli che non lo presentano, si potranno ottenere indicazioni per la prevenzione oppure dare nuove informazioni sull'eziologia di una neoplasia nello specifico.

L'analisi delle neoplasie presenti in un registro che raccolga un bacino di utenza piuttosto ampio è il primo valido strumento per individuare la frequenza e la prevalenza di certe neoplasie rispetto ad altre. Grazie alla raccolta dei dati si potranno pertanto gettare le basi per studi epidemiologici di tipo analitico.

Nella storia dell'epidemiologia veterinaria gli animali hanno sempre avuto la funzione di sentinelle di rischio dei contaminanti, da quando gli effetti dovuti alla contaminazione nel grano da aflatossine sono stati riconosciuti nel bestiame. Infatti il riconoscimento degli effetti scatenati dal rilascio di fattori tossici sono stati sempre preceduti da studi epidemiologici sulle malattie degli animali domestici.

Ricordiamo quando nel 1873 durante una esposizione di bestiame in Inghilterra morirono molti soggetti e la causa fu attribuita alla presenza di una densa nube di origine industriale; l'accaduto fu identificato prima che si manifestassero effetti sulla salute umana.

Allo stesso modo ricordiamo come più recentemente la contaminazione da bifenile policlorurato nell'olio di riso in Giappone abbia causato la morte di più di 400.000 polli e tutto questo sei mesi prima dell'incidente che ha portato all'avvelenamento di più di mille persone dopo l'ingestione di preparazioni alimentari che contenevano proprio olio di riso.

Similarmente le contaminazioni da aflatossina, diossina, DDE, mercurio ed altri contaminanti chimici sono sempre stati primariamente identificate negli animali domestici.

Questi esempi riguardano per lo più analisi rivolte agli animali da reddito che hanno presentato sintomi dovuti ad intossicazioni acute da contaminanti, mentre gli animali domestici si rivelano utili modelli per fattori di rischio per lo più domestici, associando animali e contaminanti responsabili di malattie anche nell'uomo. Gli studi sui comuni "pets" si sono infatti sempre basati su esposizioni di tipo cronico, anche se tali lavori non possono contare su campioni molto numerosi, riferendosi infatti solo agli ultimi 20-30 anni e ricercando per lo più potenziali carcinogeni.

Nel 1967 uno studio condotto a Philadelphia mostrò una prevalenza otto volte maggiore sullo sviluppo del carcinoma tonsillare in cani che avevano sempre vissuto all'interno dell'area urbana rispetto ad animali residenti nelle aree rurali dello stato di Washington (*Ragland e Gorham 1967*), tale tesi venne poi confermata nel 1971 (*Reif e Cohen 1971*). Gli stessi autori trovarono anche, tramite uno studio radiografico, una incidenza maggiore di modificazioni polmonari croniche in cani che vivevano in ambiente urbano confrontandoli con altri che risiedevano in ambiente rurale.

Allo stesso modo , dieci anni dopo, fu vista una correlazione positiva tra mortalità canina legata al carcinoma della vescica e attività industriale della contea in cui si trovava l'ospedale veterinario (*Hayes et al 1981*).

Gli studi sopracitati non hanno però potuto ottenere informazioni chiare sul reale stato di salute dei pazienti, ricordiamo infatti che solo recentemente possiamo vantare grandi passi avanti nella ricerca diagnostica computerizzata. Le informazioni ricevute dai proprietari si basavano quasi esclusivamente sul segnalamento e sulle principali abitudini quotidiane, in tal modo le cause vennero identificate quasi esclusivamente con i contaminanti di tipo industriale senza poter conoscere realmente a cosa fossero esposti gli animali all'interno del loro ambiente di vita in maniera individuale.

Negli ultimi decenni la maggior accuratezza degli studi di caso-controllo ne hanno fatto uno strumento indispensabile per gli studi epidemiologici,

ne sono esempio i recenti studi sui carcinomi degli animali da compagnia (*Schlesselman 1982 e Cole 1979*).

Negli studi epidemiologici animali più recenti troviamo come essi siano sempre più collegati tra di loro e come uno studio possa essere la base per quello successivo. Questo ha fatto sì che l'ausilio degli animali nella conduzione di studi di caso-controllo nel corso degli ultimi decenni studi abbia portato rafforzamenti di tesi già condotte in passato.

Nel 1983 infatti fu constatato un chiaro collegamento tra lo sviluppo di mesoteliomi nel cane e utilizzo di amianto da parte dei proprietari (*Glickman et al 1983*), studio che fu avvalorato in seguito grazie ad una ricerca che dimostrò la presenza significativamente più alta di corpi di amianto (fibre di amianto coperte da un complesso ferro proteico) in cani che avevano sviluppato mesoteliomi rispetto a cani con assenza di tale neoplasia (*Harbison e Godleski 1983*). Grazie a questi due studi è stato possibile identificare la causa comune di eziopatogenesi del mesotelioma umano e canino partendo da una diagnosi fatta nel 1931 di asbestosi in un cane che risiedeva in una fabbrica di amianto (*Schuster 1931*), portando alla luce un problema di cui si è discusso ampiamente proprio in questo ultimo decennio e che ha visto l'obbligo di adottare misure preventive.

Studi epidemiologici come questi sono stati solo l'inizio nella ricerca di neoplasie degli animali domestici. Nel 1989 fu trovata una correlazione tra l'uso di insetticidi topici e il carcinoma vescicale nel cane (*Glickman et al 1989*), così come l'utilizzo di erbicidi fenossilici per la cura del prato e lo sviluppo di linfomi, sempre nella specie canina (*Hayes et al 1991*), e l'esposizione a fattori di rischio con cui siamo a contatto ogni giorno come fumo di tabacco e campi elettromagnetici, nello sviluppo rispettivamente di carcinoma polmonare e del linfoma (*Reif et al 1992, 1995*).

Le basi di questi studi non si riferiscono allo studio del "singolo", ma ad uno studio improntato sull'andamento epidemiologico. In generale si vanno a sommare vari studi riguardanti, nel nostro caso, contaminanti in

grado di favorire lo sviluppo di forme neoplastiche sia nell'uomo che negli animali.

Quando si valuta la casualità usando come via d'accesso il valore di dati collettivi il criterio chiave cui si fa riferimento è quello di valutare risultati simili evidenziati in più studi. La credibilità di una associazione positiva aumenta quando viene supportata dai risultati provenienti da un altro studio epidemiologico o da uno studio di laboratorio. Le ricerche condotte in campo veterinario possono inoltre usufruire di una solida collaborazione e cooperazione da parte dei proprietari, i quali solitamente mostrano un livello di partecipazione piuttosto alto durante la raccolta dei dati. Questo risulta un aspetto di fondamentale importanza se solo si pensa al valore numerico che gli animali da compagnia rappresentano, valore peraltro in continuo aumento. Gli animali divengono in questo modo una inesauribile risorsa da cui reperire informazioni per la ricerca delle cause, permettendo inoltre di compiere una distinzione genetica basata sulla differenza di razza facilitando una indagine sulle possibili influenze genetiche (*Bukowski Wartenberg 1997*).

Abbiamo già discusso di risultati riportati in letteratura da studi che dimostrano lo stretto legame tra l'uomo e gli animali domestici riguardo l'eziopatogenesi delle forme neoplastiche, i quali hanno portato all'individuazione di importanti similitudini cliniche ed istopatologiche. Nello specifico parliamo delle analogie trovate soprattutto tra l'uomo ed il cane riguardo lo sviluppo del carcinoma mammario (*Schneider et al 1970, 1991*), dell'osteosarcoma (*Brodey 1979 e Tjalm, 1966*), del carcinoma vescicale (*Hayes 1978,1981*) ed del carcinoma nasale (*Hayes et al 1983*). Da ciò si può evincere come il cane si riveli un ottimo modello di studio ed in particolar modo nello studio delle neoplasie dell'uomo a carico dell'apparato respiratorio, tanto da inserire tale specie in studi di laboratorio che esponessero sia l'uomo che il cane al fumo di tabacco ed al radon. Il fumo di sigaretta è risultato infatti in grado di produrre le medesime alterazioni istologiche sia nei tessuti respiratori dell'uomo che in

quello di cani beagle (*Zwicker et al 1978, Hammond et al 1970*), mentre con l'esposizione al radon a concentrazioni non molto superiori a quelle riportate per l'uranio minerale, si sono manifestati carcinomi nasali in cani da laboratorio (*Cross et al 1992*). Inoltre il cane, come l'uomo, mostra un aumento dell'incidenza di tumori del tratto respiratorio aumentando la quantità di radon cui viene esposto esposizioni.

In generale il cane rappresenta il modello più adatto per condurre studi inalatori con i quali possa essere effettuata una comparazione con l'uomo (*Bukowski Wartenberg 1997*).

Risulta ormai comprovato quindi che gli animali da compagnia possano essere utilizzati come marcatori degli effetti, ma anche come marcatori delle esposizioni in esame. Uno studio condotto su i cani di 83 famiglie in Illinois volto alla ricerca di livelli di piombo nel sangue, mostrò come l'individuazione di tale metallo nel sangue di un cane poteva prevederne il livello nel sangue di un bambino della stessa famiglia (*Thomas et al 1976*). Negli anni novanta è stato trovato un tasso considerevolmente più alto di acido 2,4 diclorofenossiacetico (un erbicida) nelle urine di cani che provenivano da abitazioni che eseguivano questi trattamenti, rispetto a cani che provenivano da case in cui non se ne faceva uso (*Reynolds et al 1994*). Le considerazioni che vengono fatte devono comunque tenere sempre conto delle differenze di assorbimento, metabolismo ed escrezione che esistono tra animali e uomo, ed analizzando esclusivamente i livelli ritrovati negli animali si creerebbe sicuramente una sovrastima del rischio reale.

Si deve prendere atto anche di un'altra considerazione di non poca importanza quando si effettuano studi epidemiologici osservazionali su una popolazione animale, questi rappresentano infatti una alternativa alle sperimentazioni animali in laboratorio per lo studio dei rischi sulla salute umana (*Glickman et al 1986*). Gli animali utilizzati per gli studi di laboratorio non sono quindi soggetti a esposizioni debilitanti o a noxe patogene da parte dei ricercatori in quanto soggetti che sviluppano

naturalmente tali forme neoplastiche, inoltre lo studio epidemiologico fornisce una alternativa di approccio allo studio sui tumori. Non dimentichiamo inoltre che lo sviluppo "naturale" di una malattia porta a risultati analitici più reali rispetto a valori ottenuti grazie a patologie forzate, offrendo anche la possibilità di studiare la casualità con cui si manifestano tali malattie.

Gli studi epidemiologici veterinari sono osservazionali e quindi possono includere le stesse *bias* che riguardano gli studi sull'uomo, proprio per tal motivo possono essere ridotti con le stesse tecniche utilizzate per gli studi in campo umano, tenendo inoltre conto del minor periodo di riferimento cui ci si attiene per le indagini epidemiologiche animali rispetto all'uomo (*Bukowski Wartenberg 1997*).

3.5. Nascita dei registri tumori animali

Nel corso della storia sono stati pochi gli studi condotti sull'incidenza delle malattie neoplastiche negli animali e molti di questi sono stati condotti in Nord America; altrettanto rari sono stati gli sviluppi di registri tumori animali. Il primo è stato il Registro delle Neoplasie Animali della California, presso il Dipartimento di Epidemiologia della School of Veterinary Medicine di Davis, nel 1963, che studiò l'incidenza dei tumori in una popolazione di cani e gatti nelle contee di Alameda e Contra Costa in California nel periodo dal 1963 al 1967 (*Dorn et al 1968*). Lo studio fu improntato sulla centralizzazione degli esami istologici di tutti i casi di neoplasie maligne raccolti grazie alla collaborazione dei liberi professionisti in modo da ottenere un quadro generale dal quale stimare l'effettiva popolazione a rischio.

Per ogni campione veniva effettuato un esame istologico gratuito portando così ad avere una classificazione ben precisa dei campioni raccolti e catalogandoli inserendo età, razza, sesso, sede topografica della lesione,

stato riproduttivo e la classificazione del tumore secondo l'ICD (allora alla 7a revisione).

Grazie a questo registro sono stati pubblicati alcuni dei più importanti lavori esistenti sulle neoplasie maligne, includendo stime sull'incidenza di cancro in cani e gatti in relazione a sesso, razza ed età, permettendo anche una comparazione con i dati dell'uomo che viveva nella stessa area demografica.

Per poter effettuare il calcolo dell'incidenza è stata stimata la popolazione a rischio utilizzando i dati raccolti tramite un'indagine dello Human Population Laboratory nel 1965. Lo studio si era condotto scegliendo un campione rappresentativo della popolazione in esame e calcolando il numero di animali domestici posseduti, scartando gli animali che non avevano effettuato controlli veterinari da almeno 5 anni, non essendo considerati facenti parte della popolazione a rischio. Utilizzando questa forma di controllo in forma gratuita la partecipazione da parte dei proprietari degli animali fu piuttosto alta facendo rientrare nel registro l'87% dei cani e il 75% dei gatti della popolazione campione. Grazie ai dati ottenuti per il campione, è stata poi effettuata la stima della reale popolazione canina e felina, moltiplicando il numero di cani e gatti del campione per il fattore di campionamento: per quanto riguarda la popolazione canina il numero totale stimato fu di 80.006, trovato moltiplicando i 1.031 cani conteggiati nell'indagine per il fattore di campionamento 77,6, mentre la popolazione felina risultò di 54.786 (706 moltiplicato per 77,6). Il tasso medio di incidenza annuo venne calcolato dividendo il numero di casi che rappresentava una categoria (razza, sesso ed età identificati nei 3 anni di registrazione) per 3 volte la popolazione stimata per quella categoria. Lo studio ed i risultati ottenuti si dimostrarono estremamente importanti, calcolando un tasso di incidenza annuale per i tumori maligni di tutte le sedi topografiche di 381,2 casi/100.000 per i cani e di 155,8/100.000 per i gatti. I dati furono valutati attraverso associazioni statisticamente significative tra

Sesso/caratteristiche di razza / tumori in siti specifici. Al termine del periodo in esami vennero calcolati analiticamente i risultati:

- il rischio relativo per un cane maschio di sviluppare una neoplasia orale e faringea è stato valutato 2,4 volte più grande di quello di un cane femmina.

- il rischio relativo per un cane di razza pura di contrarre un melanoma è di 3,4 volte più grande di quello di un meticcio.

- Il rischio relativo per un gatto maschio di contrarre un linfosarcoma è 2,3 volte maggiore di un gatto femmina.

- Gatti e cani femmine sterilizzate hanno un rischio sette volte minore di sviluppare un tumore mammario rispetto a quelli non sterilizzati.

(Vascellari 2008).

È da notare come i risultati ottenuti dal registro hanno spinto ad ulteriori approfondimenti: gli stessi autori sottolineano che le caratteristiche del linfosarcoma felino suggeriscono l'opportunità di utilizzare il gatto come modello di studio per la leucemia ed il linfoma umano. Esso infatti si sviluppa come nell'uomo nei soggetti giovani e prevalentemente in quelli di sesso maschile *(Dorn et al. 1968)*.

Nel 1978 Mac Vean et al studiarono prendendo in esame una ben definita popolazione di cani e gatti in Oklahoma classificandone le varie forme tumorali ed utilizzandole per la costituzione del registro oncologico canino e felino della contea di Tulsa. Nel 1992 Lengerich effettuò un quadro completo di telefonate a random, in modo da stabilire una statistica di popolazione, ed accertandosi della prevalenza di casi neoplastici nel bacino di riferimento del registro tumori animali del Purdue Comparative Oncology Program (PCOP) in Indiana che raccoglie dal 1964 tutti i casi oncologici seguiti dalle 24 cliniche universitarie e statunitensi e canadesi.

Dagli studi sempre più recenti si può vedere come abbia preso sempre più campo l'utilizzo dei dati computerizzati per la stima delle popolazioni e, di conseguenza, per il compimento di indagini epidemiologiche.

Un importante studio è stato effettuato in Inghilterra nel 2002 (*Dobson e Samuel*) utilizzando dati relativi agli animali provenienti dalle compagnie assicurative in modo da stimare l'incidenza di neoplasie in una popolazione di cani assicurati. Nello studio è stato incluso ogni cane assicurato da compagnie inglesi dal 1° Giugno 1997 al 31 Maggio 1998, e la distribuzione del numero totale, l'età e la razza sono state stimate grazie ad una valutazione a settori incrociati dei cani assicurati dal 1° Giugno. Le polizze assicuravano la copertura per qualsiasi trattamento medico non routinario fissando una cifra limite entro la quale coprivano le spese; tutti i dati derivanti dalle richieste di trattamenti veterinari venivano inserite nel database insieme all'identificazione del relativo cane. Ogni richiesta era accompagnata da un certificato del veterinario in cui descriveva la diagnosi e la natura della richiesta stessa, quindi le richieste relative ad indagini o trattamenti di lesioni tumorali o simil-tumorali nel periodo dal 1° Giugno 1997 e il 31 Maggio 1998 venivano accettate ed esaminate. Dove possibile ogni tumore è stato classificato grazie alle informazioni che accompagnavano la richiesta, quali il segnalamento dell'animale, la sede topografica ed eventualmente la tipologia istologica, ed ogni qual volta le informazioni si dimostravano insufficienti per classificare le richieste come neoplastiche, oppure quando risultavano incomplete sulla topografia o sull'esame istologico, il medico veterinario veniva contattato per ottenere le informazioni mancanti.

Nel caso in cui si presentassero più richieste per lo stessa patologia neoplastica nel solito animale ne veniva registrata soltanto una, quando invece un solo animale presentava tipologie tumorali diverse venivano registrate come casi separati.

Le diagnosi effettuate dal medico veterinario al momento della compilazione della richiesta o durante il follow-up venivano considerate corrette, mentre nei casi in cui le diagnosi erano incerte (ad esempio "sospetto di..."), e che non potevano essere convalidate, non venivano

incluse nello studio, come nessuna richiesta classificata come "nodulo" o "papilloma".

Per lo scopo di queste analisi ogni tumore è stato classificato per tipologia istologica e sede topografica, quando le indagini istologiche non davano risultati precisi, il tipo tumorale veniva classificato come "unknown", ad eccezione dei tumori ossei, molti dei quali diagnosticati esclusivamente mediante radiogrammi come "osteosarcomi" mentre le grandi masse solide diagnosticate clinicamente come "lipomi".

L'incidenza netta annua è stata stimata a partire dal numero di richieste classificate come neoplastiche diviso per il numero degli animali a rischio in quell'anno; le stime sono poi state classificate secondo topografia, tipologia istologica, malignità e specificità di razza e calcolate le incidenze che ne sono derivate.

L'incidenza netta di tumori è stata uniformata secondo l'età utilizzando una pubblicazione per la standardizzazione dell'età (metodo per correggere l'effetto di confondimento determinato dalle differenze d'età nelle popolazioni) della normale popolazione canina inglese (*Thrusfield 1989*) come standard esteriore; tale metodo è stato usato per aggiustare la stima dell'incidenza paragonandola agli anni della popolazione reale (Rothman 1986).

Delle 3.242 domande iniziali classificate come potenziali casi neoplastici, solo 2.546 sono stati identificati come tali, mentre la popolazione di cani a rischio risultò di 130.684 ed il tasso di incidenza grezzo per tutti i tumori (benigni e maligni) è risultato di 1.948 casi per 100.000 cani per anno, mentre non sono stati calcolati i tassi specifici per le neoplasie benigne e maligne.

L'incidenza relativa all'età è stata molto bassa negli animali giovani, cominciando a crescere verso i sei anni di età dell'animale arrivando al picco massimo verso gli otto per poi decrescere dopo i dieci anni.

L'incidenza calcolata secondo il tipo istologico ha invece mostrato una netta prevalenza della cute e dei tessuti molli come sedi colpite

maggiormente, con una incidenza di 1.437 per 100.000 cani per anno, sette volte maggiore rispetto ai tumori che colpiscono la ghiandola mammaria, la quale è invece associata ad una incidenza di 205 per 100.000 cani l'anno.

Analizzando nel dettaglio le schede dei campioni hanno riscontrato variazioni riguardo la localizzazione nei vari apparati, ma la stima finale suddivisa per tessuto di origine ha comunque rivelato una netta prevalenza dei tessuti epiteliali rispetto ai mesenchimali (714 vs 610 per 100.000 cani per anno).

In questo studio, come riportano gli autori, data l'origine dei dati si può incorrere in diversi errori che possono portare ad una mal classificazione; basandosi su una popolazione di cani assicurati identificarono come possibili errori una sovra rappresentazione di cani giovani, non sovrapponibile quindi alla struttura della popolazione reale, nonostante vi sia stato portato un aggiustamento grazie alla standardizzazione dell'età. Questo metodo non si è però potuto applicare per l'aggiustamento delle razze degli animali in esame, in quanto si è ritrovata in questa analisi una proporzione più alta di cani di razza, come è normale che ci si aspetti utilizzando cani con polizza assicurativa, ma che quindi non rispecchiano la realtà.

Gli errori riguardanti la classificazione dei dati sono imputabili alla non convalida delle diagnosi in primis, infatti non sempre erano presenti diagnosi istologiche e il riferimento riguardava diagnosi effettuata dal medico veterinario conteggiate come corrette, come ad esempio i tumori delle ossa che vantavano esclusivamente una diagnosi radiografica; inoltre le diagnosi istologiche presenti erano comunque soggette ad una percentuale di errore da interpretazione e non sempre erano esaustive, ciò ha portato anche a non poter distinguere tra neoplasia benigna e maligna ogni campione.

Come abbiamo sopra accennato tra i risultati fu evidenziata una maggioranza di lesioni a carico di cute e tessuti molli, ma gli autori

precisano che tali sono quelli più facilmente evidenziabili dai proprietari rispetto a tumori che colpiscono i piani sottostanti, e che quindi possono essere riconosciuti solo dopo esame post-mortem.

Nonostante la difficoltà di comparazione diretta tra questo ed altri studi epidemiologici, a causa della differenza sul reperimento della popolazione a rischio ed il metodo di classificazione, si è potuto valutare l'andamento temporale di alcune neoplasie riferendosi a studi di registro come quello Californiano (*Dorn et al 1968*) e quello Canadese (*Reid-Smith 2000*) mostrando infatti una predominanza di cute e connettivo sottocutaneo come tessuti maggiormente colpiti.

Si deve inoltre tenere presente, grazie alla possibilità di aver coinvolto soprattutto cani di razza, l'importanza di poter valutare più fattori nella ricerca di rischi neoplastici; infatti alcuni animali possono essere soggetti ad elevato rischio per una particolare tipologia neoplastica, ma possono non esserlo per altre. Le valutazioni genetiche sulle differenze di razza possono assumere rilevante importanza nella ricerca di fattori di rischio individuali (*Dobson e Samuel 2002*).

Anche in Italia esistono registri tumori animali. Ne è un esempio il registro tumori di Genova, organizzato nel 1985 dall'IST (Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro) in collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta. Anche in questo caso è stata attuata la stima della popolazione a rischio, mediante l'applicazione del metodo di cattura-ricattura. La casistica registrata proveniva da campionamenti biotici, inviati dai veterinari liberi professionisti, e la diagnosi attuata mediante esame istopatologico e classificazione ICD-O2. Il calcolo dell'incidenza in questo registro è stato valutato in base al periodo considerato, valutando in tal modo una crescita che si è mantenuta costante nel tempo. Le neoplasie che si sono mostrate essere le più frequenti sono state a carico di ghiandola mammaria, cute, tessuti molli sottocutanei e del sistema linfopoietico (*Merlo et al., 2008*).

Nel 2005, un nuovo registro tumori veterinario è stato istituito presso la Royal Veterinary and Agricultural University in Danimarca. L'invio dei casi da parte dei veterinari è volontario e l'inclusione della casistica si basa su informazioni cliniche, diagnostica per immagini, indagini citologiche ed istopatologiche. E' un registro di incidenza, la cui struttura si basa su quella del registro tumori umano danese, uno dei più vecchi registri tumori attivi.

Fino ad ora sono state raccolte più di 1.000 segnalazioni e i dati epidemiologici vengono regolarmente pubblicati (Broenden, 2006). Dati preliminari evidenziano un aumento del rischio relativo per alcune razze, quali il Bull terrier, l'American Bulldog e il Boxer, mentre le neoplasie più frequentemente riscontrate sono a carico della ghiandola mammaria (Vascellari 2008).

Sono stati inoltre istituiti Registri analoghi presso istituti universitari, tra cui il Registro Tumori operativo presso il Dipartimento di Patologia Animale dell'Università di Pisa.

Studiando i lavori compiuti in questi ultimi decenni si rende evidente da sola la potenzialità che tali registri hanno. Possono variare i metodi reperimento dei dati da inserire, anche se esami istopatologici si mostrano la campionatura più attendibile; i problemi in cui si può incorrere rimangono senza dubbio il reperimento della reale stima della popolazione, che deve appartenere ad un bacino di riferimento prestabilito, ed una codificazione dei reperti uniformata per tutti i registri, solo in tal modo sarà possibile effettuare comparazioni e studi incrociati attendibili.

4. OBIETTIVI

Lo studio ed il lavoro effettuato in questa tesi prendono origine dalla nascita del Registro Oncologico Veterinario Toscano (RoVet) nato agli inizi del 2006 con la collaborazione della Regione Toscana, le aziende ASL 10 di Firenze e ASL 12 di della Versilia ed il Dipartimento di Patologia Animale Profilassi ed Igiene degli Alimenti dell'Università di Pisa.

Lo scopo ultimo di tale registro è quello di raccogliere in modo coordinato i tumori animali sul territorio toscano.

Il reperimento dei campioni oncologici è stato svolto, nel comprensorio della provincia di Firenze da strutture veterinarie territoriali che provvedono al prelievo del tessuto neoplastico ed al recapito di questo alle ASL 10 o direttamente al Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti per le analisi istopatologiche. Il campione finora analizzato è stato accompagnato da una scheda anamnestica opportunamente allestita e reperibile in rete presso i siti delle Aziende Sanitarie (Allegato 1).

La fase successiva del progetto, una volta raggiunto un campione significativamente ampio, è stata invece caratterizzata dall'analisi critica e crociata dei dati raccolti nella fase precedente, definendo precisamente le zone di provenienza dei campioni grazie all'indirizzo riportato dai proprietari sulla scheda anamnestica, in tal modo lo studio potrà volgersi verso la ricerca di possibili fattori di rischio, utilizzando in futuro studi di caso-controllo.

Nella stessa fase i dati saranno messi in comunione con gli analoghi umani a disposizione del Registro Oncologico Toscano.

Sono ancora molti i problemi nella compilazione della scheda da parte dei colleghi che spesso non utilizzano il modello sopraccitato od omettono alcune voci come ad esempio il numero del tatuaggio o del microchip e soprattutto la zona di provenienza dell'animale. Inoltre sono ancora molti i

campioni che in conclusione risultano essere di natura non neoplastica e che incidono in maniera importante sulla casistica e quindi sullo scopo ultimo del Registro.

In questi primi anni di ricerca, nonostante la casistica sia ancora ridotta è stato possibile giungere ad alcune considerazioni che se confermate nel tempo porterebbero ad individuare alcuni rischi specifici caratteristici delle zone sotto studio.

Le variabili più frequentemente utilizzate negli studi sulle neoplasie degli animali domestici sono l'età, il sesso e la razza, ma potenzialmente possono essere estese ad altri elementi di provata significatività, quali la taglia, lo stato immunitario, eventuali anomalie cromosomiche e soprattutto l'ambiente di vita del soggetto neoplastico.

Una volta identificata, per un determinato tumore, una differenza in alcune variabili tra animali con il tumore e quelli che non lo presentano dalla stessa popolazione, si potranno ottenere indicazioni per la prevenzione oppure dare nuove informazioni sull'eziologia di una neoplasia in particolare.

L'analisi delle neoplasie presenti in un registro che raccolga un bacino di utenza piuttosto ampio è il primo valido strumento per individuare la frequenza delle neoplasie e la prevalenza di certe neoplasie rispetto ad altre. Grazie alla raccolta dei dati si potranno pertanto gettare le basi per studi epidemiologici di tipo analitico.

Le fonti del Registro Oncologico Veterinario della Regione Toscana (ROVeT) possono essere riassunti nei seguenti punti:

- dati codificati ed informatizzati raccolti dalle ASL per anagrafe canina.
- Dati clinici e conferma istopatologica su campioni provenienti dall'attività di strutture veterinarie private.
- Analisi progettazione e realizzazione di stime di mortalità, incidenza e prevalenza per aree del territorio regionale.
- Comunione dei dati veterinari con Registro Oncologico Toscano

Per quanto riguarda la prima fase della ricerca, questa è stata improntata alla socializzazione del personale con le procedure tecniche, si è provveduto infatti ad approntare un sistema integrato di recepimento dei dati e alla creazione di un'apposita scheda da divulgare alle strutture afferenti al progetto. Sono stati coinvolti infatti veterinari liberi professionisti operanti sul territorio della provincia di Firenze che dovranno essere coordinati dall'Unità Sanitaria in modo da creare un flusso di informazioni coerente ed il più preciso possibile sulle caratteristiche dei campioni inviati per meglio definire il rischio.

Al termine di questa prima parte è stato quindi indicato un modello tipo di scheda anamnestica dove oltre ai dati dell'animale e del proprietario sono state inserite voci particolareggiate riguardo la zona di residenza dell'animale correlata ai maggiori rischi epidemiologici conosciuti.

La seconda fase è stata invece caratterizzata dall'analisi critica e crociata dei dati raccolti nella fase precedente, definendo precisamente le zone di provenienza dei campioni acquisendo eventuali ulteriori elementi suggestivi di rischio specifico. Le verifiche istopatologiche dei campioni conferiti al dipartimento di Patologia animale della Facoltà di Medicina veterinaria di Pisa sono state e vengono tutt'ora registrate nel database del registro oncologico della facoltà ed inviate alle strutture ambulatoriali di provenienza. Nella stessa fase i dati saranno messi in comunione con gli analoghi umani a disposizione del Registro Oncologico Toscano.

Nello specifico i dati verranno utilizzati per stimare le varie tipologie neoplastiche nel corso dei singoli anni e durante un periodo di tempo più ampio in modo da confrontare le differenze di andamento; inoltre si cercherà di dimostrare differenze sia tra le due specie in esame, ma anche attraverso le altre categorie (sesso, razza ed età).

5. ALLEGATO 1



Pisa

ROVet (Registro Oncologico Veterinario Toscano) ASL 10/ASL 12/Dipartimento di Patologia Animale,

Data _____ MEDICO VETERINARIO: Dr. _____ Tel. _____

PROPRIETARIO Nome: _____ Cognome _____ Indirizzo (dettagliato):

Attitudini particolari (fumo o altro) _____

SEGNALAMENTO E ANAMNESI

Specie _____ Razza _____ Sesso M [] F [] intero [] castrato [] Età _____

Quadro sintomatologico

Residenza dell'animale: ambiente urbano [] rurale [] altro _____

Presenza di insediamenti industriali o altre fonti di inquinamento nella zona in cui l'animale vive:

TESSUTO PATOLOGICO

Tumore primario [] Metastasi [] Recidiva [] Non valutabile []

Sede topografica del prelievo:

Organo	Topografia	Rilevato in data	Dimensioni (cm)

Tipo di prelievo: bioptico [] chirurgico [] autoptico []

Prelievo chirurgico: parziale [] totale con linfonodo []

Dimensioni: _____ Tempo di insorgenza: _____ Interessamento linfonodale: si [] no [] non valutabile []

Precedenti neoplasie: si [] no [] non valutabile []

(Se si descrivere o allegare la diagnosi della/delle neoplasie precedenti)

5. MATERIALI E METODI

5.1. Raccolta e catalogazione dei casi in esame

Il Registro tumori animali della regione Toscana, è nato agli inizi nel 2006 con la collaborazione della Regione Toscana, l' Aziende USL 10 di Firenze ed il Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti dell'Università di Pisa. La prima attività del Registro è stata quella di individuare i metodi diagnostici e di classificazione dei tumori animali utili per il confronto con gli analoghi umani. A questo scopo è apparso evidente che la Classificazione Internazionale per i tumori degli animali domestici (WHO) risultava ottimale per gli obiettivi del registro rispetto ad altri criteri classificativi quale la Standard Nomenclature of Veterinary Diseases and Operations (SNVDO) ampiamente utilizzata negli Stati Uniti. Allo scopo di paragonare le neoplasie animali con quelle dell'uomo, basandoci sulle caratteristiche morfologiche e topografiche, è stata scelta l'International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) ormai giunta alla sua decima revisione (ICD-O X).

La classificazione internazionale delle malattie (ICD) è finalizzata a tradurre in codici alfa numerici le diagnosi di malattia e nel nostro specifico il capitolo dei tumori identifica numericamente il tipo di tumore conosciuto, la sede del tumore, la topografia, la morfologia ed il comportamento di una neoplasia (0=benigno, 1=incerto se benigno o maligno, 2=in situ, 3=maligno, 6=metastatico, 9=incerto se maligno primitivo o metastatico) (*Guzzinati e spitale 2004*).

Tranne che per poche eccezioni (le neoplasie del sistema linfatico ed emopoietico e i melanomi maligni della pelle), il capitolo sui tumori dell' ICD-09 è organizzato su base topografica. Esso identifica ogni tipo di tumore conosciuto con un codice numerico che individua l'organo colpito o la parte di esso nel quale è originariamente insorta la neoplasia.

Ogni tumore è così classificato secondo un codice a 9 cifre, ad esempio un adenocarcinoma duttale infiltrante della ghiandola mammaria viene

rappresentato dal codice 174 8500/3:

174 identifica la sede (mammella femminile)

8500 adenocarcinoma duttale infiltrante

3 identifica la malignità del tumore.

Il reperimento dei campioni oncologici è stato svolto nel comprensorio fiorentino e nella provincia di Firenze da strutture veterinarie territoriali che provvedono al prelievo del tessuto neoplastico ed al recapito di questo alle ASL 10 o direttamente al Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti per le analisi istopatologiche.

I campioni analizzati sono stati raccolti a partire dal Settembre 2006 e gli studi che verranno presentati fanno riferimento al periodo 2006-2009.

I medici veterinari liberi professionisti da cui provengono i campioni costituiscono un campione rappresentativo del territorio in esame, attuando la loro attività infatti in maniera omogenea su tutta la provincia presa in esame.

La raccolta dei campioni è tutt'ora in corso.

Il campione finora analizzato è stato accompagnato da una scheda anamnestica opportunamente allestita e reperibile in rete presso i siti delle Aziende Sanitarie, cui sono stati forniti i veterinari che hanno aderito al progetto.

La scheda prevede infatti la segnalazione dei principali dati del proprietario e dell'animale (specie, razza, sesso, età ecc.), con particolare riguardo alla zona di residenza dell'animale, dato che permetterà di studiare gli indici di prevalenza, e quindi l'ipotetico rischio epidemiologico da fattori ambientali, in base alle zone geografiche. La scheda prevede inoltre la raccolta dei dati anamnestici dell'animale (ambiente di vita, abitudini alimentari, malattie pregresse, ecc.) nonché informazioni riguardo la patologia neoplastica (o presunta tale) per cui è richiesto l'accertamento diagnostico, il tessuto di origine, la sede topografica di insorgenza, la data in cui è stata rilevata la lesione, se è

presente interessamento linfonodale e la modalità di campionamento. Viene inoltre richiesto di specificare se il campione inviato rappresenta eventualmente una recidiva od una metastasi.

Nella scheda viene inoltre richiesto di segnalare il codice identificativo dell'Anagrafe Canina dell'animale (se si tratta di individuo di specie canina) in modo tale da avere un riscontro diretto con il censimento in nostro possesso.

La casistica è stata raccolta grazie alla collaborazione di 19 veterinari liberi professionisti più un referente per i campioni provenienti dal canile sanitario di Firenze, provenienti da 18 comuni diversi.

I dati raccolti durante il periodo 2006-2009 sono stati catalogati grazie alle refertazioni eseguite presso il Dipartimento di Patologia Animale, Profilassi ed Igiene degli Alimenti, quindi sono stati immessi in un software predisposto allo scopo di archiviare la casistica e permettere una facile elaborazione statistico-descrittiva e la condivisione di tali dati con le anagrafi canine operanti nei territori sotto studio. La catalogazione è stata eseguita direttamente attraverso l'ICD-O, grazie ad un programma facilmente accessibile contrassegnando ogni caso con un numero di protocollo, l'identificazione dell'animale e del proprietario, il medico referente ed il referto del patologo. Le verifiche istopatologiche dei campioni conferiti al Dipartimento di Patologia Animale della Facoltà di Medicina Veterinaria di Pisa vengono inoltre registrate nel database del registro oncologico della Facoltà e consegnati alle strutture ambulatoriali da cui sono stati inviati i campioni.

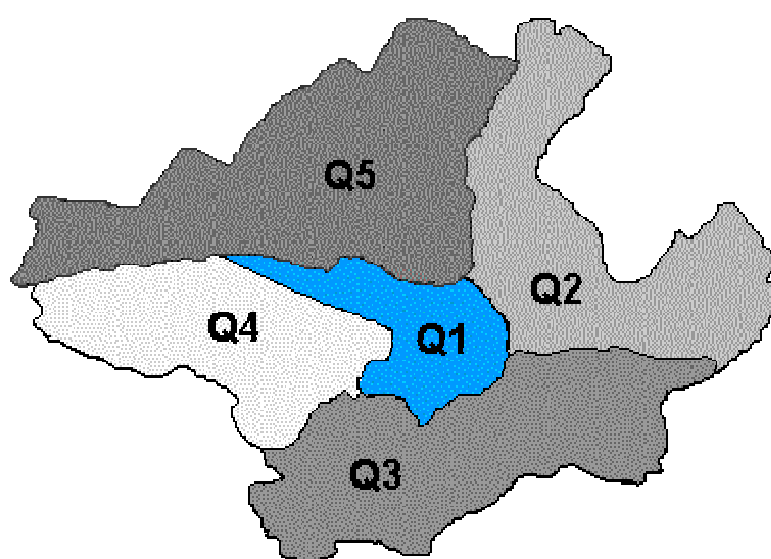
I prelievi sono stati repertati nella quasi totalità dei casi per escissione totale, in minor parte da piccole biopsie e prelievi tru-cut, oltre ad esami citologici effettuati come misura preventiva o nei casi in cui non fosse risultato possibile attuare l'asportazione chirurgica (ad esempio nelle leucemie); questo avviene quasi sempre perché il proprietario si accorge più facilmente della presenza di una "massa" palpabile sul proprio

animale, mentre i tumori localizzati su organi interni vengono rinvenuti soprattutto durante accertamenti post-mortem.

Effettuata l'escissione chirurgica i campioni sono stati fissati in formalina tamponata al 10%, pH 7,4, dopo di che sono state prelevate porzioni rappresentative delle lesioni che sono state incluse in paraffina secondo le normali metodiche. I blocchetti di paraffina vengono dunque sezionati allo spessore di 5 micron e colorati con ematossilina-eosina (E-E), secondo le modifiche di routine.

5.2. Determinazione dell'area geografica in esame e della popolazione a rischio

La scelta di utilizzare il comune di Firenze e la sua provincia come area per la refertazione della casistica è stata effettuata in modo da avere come bacino di utenza aree dissimili tra loro; con tale scelta infatti i campioni in esame provengono da zone prettamente urbane, rurali in senso stretto (ad es. collinari) ed industriali, potendo valutare in tale maniera gruppi di individui che differiscono per clima, altitudine ed inquinamento industriale od urbano. Questo potrà gettare basi anche per studi futuri e contemporaneamente portare a risultati più omogenei.



Rappresentazione dell'area urbana di Firenze



Cartografia della provincia di Firenze suddivisa in comuni

La stima della popolazione canina utilizzata è stata calcolata utilizzando i dati schedati dall'anagrafe canina della ASL 10 di Firenze presente dal 1978, pratica divenuta ormai obbligatoria ai sensi di legge. Il database dell'Anagrafe canina identifica la popolazione canina in maniera esaustiva registrando gli animali identificandoli per razza, sesso ed età insieme ai dati relativi ai proprietari, compresa la zona di residenza, passaggi di proprietà e di conseguenza spostamenti territoriali.

E' stato effettuato un controllo sugli animali deceduti , ma che ancora risultavano registrati come vivi all'interno dell'anagrafe, grazie ad un controllo sulla data di nascita registrata, in tal modo l'errore che si presenta durante il calcolo della popolazione a rischio viene costituito solo dai cani deceduti recentemente e non ancora segnalati alle autorità competenti attraverso la certificazione di morte.

E' stato possibile inoltre ottenere, grazie a questi canali, i censimenti parziali dei cani all'interno dei cinque quartieri fiorentini e dei singoli comuni della provincia dai quali sono provenuti i campioni, tale suddivisione ha portato la possibilità di effettuare studi territoriali.

La stima della popolazione felina è stata calcolata in parte in base ai dati provenienti dall'Ufficio Diritti degli Animali (UDA) del comune di Firenze per gli animali liberi suddivisi in colonie, in parte grazie ad uno studio utilizzando dati presunti sulla popolazione felina toscana e sul numero di famiglie nella provincia di Firenze per gli animali di proprietà; l'UDA collabora con la ASL 10 censendo le colonie feline presenti sul territorio urbano assegnando a ciascuna un numero identificativo e riportandone il numero di animali che la compongono, le sterilizzazioni effettuate e quelle ancora da effettuare.

Per la stima della popolazione felina di proprietà è stato utilizzato un dato presunto della stessa sul territorio toscano fornito dalle ASL al Ministero della Salute (www.governo.it/governoinforma/dossier), calcolando la media di gatti per famiglia all'interno della regione grazie al censimento dei nuclei familiari (www.regione.toscana.it) moltiplicando poi il coefficiente trovato per le famiglie residenti nei comuni di studio (www.comuni_italiani.it/048/lista.html).

La stima ottenuta può considerarsi attendibile non esistendo infatti corrispettivi dei canili riguardo alla specie felina.

5.3. Calcolo dei tassi di incidenza delle neoplasie

L'archiviazione dei casi è stata il primo passo per lo studio delle incidenze tumorali in campo animale, infatti la costituzione di un registro tumori ha reso facilmente individuabili le variabili oggetto di studio rendendo la casistica analizzabile secondo più vie.

I campioni sono stati catalogati inserendo età, sesso, razza, specie e residenza dell'animale assegnando ad ogni campione un numero di

protocollo, veterinario referente, sede primaria della lesione, tipo istologico e comportamento biologico del tumore (benigno o maligno), differenziando il tipo di campione (ago aspirato o escissione bioptica) e segnalando come casi separati neoplasie diverse appartenenti al medesimo animale.

E' stato innanzi tutto calcolato un tasso grezzo di incidenza annuale delle neoplasie esaminate, poi il calcolo globale di tutti i 39 mesi di ricerca per valutare differenze eventuali tra andamento annuale ed, in questo caso, triennale tra comportamento ed istotipo neoplastico.

Successivamente il calcolo si è rivolto al tasso specifico di incidenza per razza, sesso ed età, separando preventivamente le due specie in esame; per quanto riguarda la specie canina è stata valutata la differenza tra le percentuali di neoplasie benigne e maligne rispettivamente nei cani di razza pura ed in quelli di razza non pura.

Gli studi hanno portato poi ad individuare la percentuale dei tessuti maggiormente colpiti dalle lesioni identificandone poi i vari istotipi concentrandosi maggiormente sull'apparato tegumentario; i calcoli delle percentuali hanno sempre riportato la differenziazione del comportamento tumorale, studiando quindi in maniera separata le neoplasie benigne e maligne.

Particolare riguardo è stato dato allo studio dell'età dei pazienti riportandola sia come età media (per maschi e femmine) in cui maggiormente si sviluppa una lesione a carattere neoplastico, sia suddividendo gli animali colpiti in classi di età e riportando per ciascuna i tumori riscontrati, individuando così la classe di età maggiormente a rischio.

In ultima analisi i campioni sono stati studiati rispetto alla zona di residenza dell'animale, calcolando un tasso grezzo di incidenza delle neoplasie riferite alla popolazione di una specifica area, e nel caso specifico della città di Firenze, anche all'interno dei singoli quartieri

evidenziando i soggetti a rischio e le neoplasie maggiormente rilevate in ogni zona.

Quest'ultimo calcolo "a quartiere" è stato possibile soltanto per la specie canina, avendo infatti individuato per quella felina solo la popolazione totale del comune di Firenze.

L'incidenza è stata calcolata separatamente tra cani e gatti, individuando per ognuna delle due specie il tasso l'incidenza delle neoplasie maligne e benigne.

Inoltre per alcune neoplasie di particolare interesse delle due specie in esame è stata evidenziata la probabilità di contrarre tele tumore in base al sesso dell'individuo, oltre a mostrare l'incidenza di alcuni istotipi tumorali riguardanti uno specifico apparato.

Per il lavoro è stato utilizzato un foglio di lavoro (Excel) riportando tutti i dati percentuali ottenuti in rispettivi grafici utilizzando come dati i casi tumorali raccolti e la popolazione stimata, e l'incidenza è stata espressa in termini di densità (100.000/cani/anno).

7. BIBLIOGRAFIA

1. **Arnesen K, Gramlem H, Glattre E, Grandalen J, Moe L, Nordstoga K.** Hundekreftregisteret i Norge 1990-1998. Norsk Veterinaertidskrift; 112: 137-147, 2000
2. **Bergman P.J., McKnight J., Novosad A., Charney S., Farrelly J., Craft D., Wulderk M., Jeffers Y., Sodelain M., Hohenhaus A: E. et al.** Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xerogeneic human tyrosinase: a phase I trial. Clin. Cancer res. 9: 1284-1290, 2003.
3. **Broenden LB.** Dansk Veterinaert Cancer register <http://www.vetcancer.dk>, 2006
4. **Bonnet, B. N., Egenvall, A., Olson, P. e Hedhammar, A.** Mortality in insured Swedish dogs: rates and causes of death in various breeds. Veterinary Record 141, 40-44 1997
5. **Brodey RS.** The use of naturally occurring cancer in domestic animals for research into human cancer: general considerations and a review of canine osteosarcoma. Yale J Biol Med 52:345-361, 1979.
6. Bukowski JA, Wartenberg D, Goldschmidt M. **Environmental causes for sinonasal cancers in pet dogs, and their usefulness as sentinels of indoor cancer risk. J Toxicol Environ Health A;54(7):579-91, 1998**
7. John A. Bukowski and Daniel Wartenberg. **An Alternative Approach for Investigating the Carcinogenicity of Indoor Air Pollution: Pets**

as Sentinels of Environmental Cancer Risk. Environmental Health Perspectives Volume 105, Number 12, December 1997.

8. Cole P. The evolving case-control study. J Chron Dis 32:15-27 1979

9. Cross FT, Palmer RF, Filipy RE, Dagle DE, Stuart BO. Carcinogenic effect of radon daughters, uranium ore dust and cigarette smoke in beagle dogs. Health Phys 42(1):33-52, 1982.

10. J. M. Dobson, S. Samuel, H. Milstein, K. Rogers and J. L. N. Wood. Canine neoplasia in the UK: estimates of incidence rates from a population of insured dogs. Journal of Small Animal Practice 43, 240–246, 2002

11. Dorn CR, Taylor DO, Schneider R, Hibbard HH, Klauber MR. Survey of animal neoplasm in Alameda and Contra Costa countries, California. II. Cancer morbidity in dogs and cats from Alameda country. J Natl Cancer Inst; 40: 307-318, 1968

12. Garbe PL: The Companion Animal as a Sentinel for Environmentally Related Human Diseases. Acta Veterinaria Scandinavica, suppl. 83-84:290-2, 1988

13. Glickman LT, Domanski LM, Maguire TG, Dubielzig RR, Churg A. Mesothelioma in pet dogs associated with exposure of their owners to asbestos. Environ Res 32:305-313, 1983.

14. **Glickman LT, Shofer FS, McKee LJ, Reif JS, Goldschmidt MH.** Epidemiologic study of insecticide exposures, obesity, and risk of bladder cancer in household dogs. *J Toxicol Environ Health* 28:407-414, 1989.
15. **Glickman LT, Domanski LM.** An alternative to laboratory animal experimentation for human health risk assessment: epidemiological studies of pet animals. *Altern Lab Anim* 13:267-285, 1986.
16. **Guzzinati S, Spitale A.** La rete dei registri tumori italiana (AIRT). *Epidemiol prev*; 28: 7-11, 2004
17. **Hammond EC, Auerbach O, Kirman D, Garfinkel L.** Effects of cigarette smoking on dogs: I. Design of experiment, mortality, and findings in lung parenchyma. *Arch Environ Health* 21:740-753, 1970.
18. **Harbison ML, Godleski JJ.** Malignant mesothelioma in urban dogs. *Vet Pathol* 20:531-540, 1983.
19. **Hardy W. D. Jr, Hess P.W., Mac Ewen E.G., McClelland A.J., Zuckerman E.E., Essex M., Cotter S.M., Jarrett O.:** Biology of Feline Leukemia Virus in the Natural Environment. *Cancer Res.* 36: 582-588, 1976.
20. **Hartmann K., Kuffer M., Balzarini J., Naesens L., Goldberg M., Erfle V., Goebel F.D., De Clercq E., Jindrich J., Holy A., Bischofberger N., Kraft W.:** Efficacy of the acyclic nucleoside phosphonates (S)-9-(3-fluoro-2-phosphonyl-methoxypropyl) adenine (FPMPA) and 9-(2-phosphonyl-methoxyethyl) adenine (PMEA) against feline immunodeficiency virus. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retroviral.* 17:120-128, 1998.

21. **Hayes HM Jr, Hoover R, Tarone RE.** Bladder cancer in pet dogs: a sentinel for environmental cancer? *Am J Epidemiol* 114(2):229-233, 1981.
22. **Hayes HM, Tarone RE, Cantor KP, Jessen CR, McCurnin DM, Richardson RC.** Case-control study of canine malignant lymphoma: positive association with dog owner's use of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. *J Natl Cancer Inst* 83:1226-1231, 1991.
23. **Hayes HM.** The comparative epidemiology of selected neoplasms between dogs, cats and humans. A review. *Eur J Cancer* 00:1299-1308 1978.
24. **Hayes HM, Wilson GP.** Comparative aspects of nasal passage carcinoma in dogs with man. In: *Nasal Tumors in Animals and Man* (Reznik G, Stinson SF, eds). Boca Raton, FL:CRC Press, 1983.
25. **Lengerich EJ, Teclaw RF, Mendlein JM, Mariolis P, Garbe PL.** Pet populations in the catchment area of the Purdue Comparative Oncology Program. *J Am Vet Med Assoc*; 200: 51-56, 1992
26. **Leslie E. F.** Cancer: We Can Treat It! Morris Animal Foundation. Results from Companion Animal News, August 1997 Animal Health Survey.
27. **MacVean DW, Monlux AW, Anderson PS, Silberg SL, Roszell JF.** Frequency of canine and feline tumors in a defined population. *Vet Pathol* 15:700-715, 1978.
28. **Merlo DF, Rossi L, Pellegrino C, Ceppi M, Cardellino U, Capurro C, Ratto A, Sambucco PI, Sestito V, Tanara g, Bocchini V.** Cancer

Incidence in pet dogs: findings of the animal tumour registry of Genoa, Italy. *J Vet Int Med*; 22: 976-984, 2008

29. **Misdorp W:** Veterinary Cancer Epidemiology. *Veterinary Quarterly*, 8:32-6, 1996

30. **Michell, A. R.** Longevity of British breeds of dog and its relationships with sex, size, cardiovascular variables and disease. *Veterinary Record* 145, 625-629, 1999.

31. **Muir CS, Demaret E, Boyle P.** The cancer registry in cancer control: an overview. *IARC Sci Publ*; 66:13-26, 1985

32. **Porrello A., Cardelli P., Spugnini E.P.:** Oncology of Companion Animals as a Model for Humans. An Overview of Tumor Histotypes. *J. exp. Clin. Cancer Res.*, 1: 97-105, 2006.

33. **Ragland WL, Gorham JR.** Tonsillar carcinoma in rural dogs. *Nature* 214:925-926, 1967.

34. **Reid-Smith, R. J., Bonnett, B. N., Martin, S. W., Kruth, S. A., Abrams-Ogg, A. & Hazlett, M. J.** The incidence of neoplasia in the canine and feline patient populations of private veterinary practices in southern Ontario. *Proceedings of the 9th Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics*. August 2000, Colorado. pp 935-955, 2000

35. **Reif JS, Cohen D.** The environmental distribution of canine respiratory tract neoplasms. *Arch Environ Health* 22:136-140, 1971.

36. **Reif JS, Dunn K, Ogilvie GK, Harris CK.** Passive smoking and canine lung cancer risk. *Am J Epidemiol* 135(3):234-239, 1992.
37. **Reif JS, Lower KS, Ogilvie GK.** Residential exposure to magnetic fields and risk of canine lymphoma. *Am J Epidemiol* 141:352-359, 1995.
38. **Reynolds PM, Reif JS, Ramsdell HS, Tessari JD.** Canine exposure to herbicide-treated lawns and urinary excretion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 33:233-237, 1994.
39. **Rothman, K. Modern Epidemiology.** Little Brown, Boston, 1986.
40. **Schlesselman JJ.** Case-Control Studies. New York:Oxford University Press, 1982.
41. **Schneider R.** Comparison of age, sex, and incidence rates in human and canine breast cancer. *Cancer* 26:419-426, 1970.
42. **Schuster NH.** Pulmonary asbestosis in a dog. *J Pathol Bacteriol* 34:751-757, 1931.
43. **Thomas CW, Rising JL, Moore JK.** Blood lead concentrations of children and dogs from 83 Illinois families. *J Am Vet Med* 169(11): 1237-1240, 1976.
44. **Thrusfield M. V.** Application of computer technology to the collection, analysis and use of veterinary data. *Veterinary Record* 112, 538-543, 1983

45. **Tjalma RA.** Canine bone sarcoma: estimation of relative risk as a function of body size. *J Natl Cancer Inst* 36:1137-1150, 1966.
46. **Vascellari M., Baioni E., Ru G., Carminato A. and Mutinelli F.** Animal tumour registry of two provinces in northern Italy: incidence of spontaneous tumours in dogs and cats. *BMC Veterinary Research*, 5:3,. 2009
47. **Worch J, Matthay KK, Neuhaus J, Goldsby R, Dubois SG.** Ethnic and racial differences in patients with Ewing sarcoma. , 2010
48. **Zwicker FM, Filipy RE, Park JF, Loscutoff SM, Ragan HA, Stevens DL.** Clinical and pathological effects of cigarette smoke exposure in beagle dogs. *Arch Pathol Lab Med* 102:623-628, 1978.