

Kutana mastcellstumörer på hund

Linnea Johnson



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 05

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Kutana mastcellstumörer på hund

Canine Cutaneous Mast Cell Tumors

Linnea Johnson

Handledare:

Gunnar Pejler, SLU, Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Examinator:

Mona Fredriksson, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Omfattning: 15 hp

Kurstitel: Självständigt arbete i veterinärmedicin

Kurskod: EX0700

Program: Veterinärprogrammet

Nivå: Grund, G2E

Utgivningsort: SLU Uppsala

Utgivningsår: 2011

Omslagsbild: Patricio Rivera

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 05
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

On-line publicering: <http://epsilon.slu.se>

Nyckelord: hund, mastcell, kutana mastcellstumörer, uppkomst, klassificering, KIT, kirurgi, strålning, kemoterapi.

Key words: canine, mast cell, cutaneous mast cell tumors, background, classification, KIT, surgery, radiation, chemotherapy.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder	3
Litteraturoversikt.....	3
Mastcellen	3
Mastcellens roll vid tumörtillväxt	3
Mastcellstumörer	4
Kutana mastcellstumörer.....	4
Bildning av mastcellstumörer.....	5
Att ställa en diagnos	6
Behandling	8
Kirurgi	8
Strålning	9
Prednison/vinblastin	10
Tyrosinkinasinhibitor	10
Behandling av systemiska symtom	11
Diskussion	11
Litteraturförteckning	13

SAMMANFATTNING

Mastcellens roll vid allergiska reaktioner är välkänd, men det är kanske inte lika känt att den har en påverkan vid till exempel cancer. Vid tumörtillväxt är det debatterat om mastcellens roll är hjälpare eller stjälpare. Troligtvis främjar mastcellerna angiogenesen, modulerar omgivande vävnad och är immunosuppressiva, men de kan även vara cytotoxiska. Kutana mastcellstumörer är en av hundens vanligaste hudtumörer och de kan variera mycket i utseende och lokalisering, och vara antingen solitära eller multipla. Det är inte känt varför mastcellstumörer bildas men det misstänks att de har en multifaktoriell bakgrund och forskning pågår om till exempel mutationer i tillväxtreceptorer på mastcellerna.

Att klassificera mastcellstumörerna rätt innan behandling sätts in är mycket viktigt, men inte alltid helt okomplicerat. Oftast används Patnaiks histologiska graderingssystem och Världshälsoorganisationens system grundat på kliniskt stadium, men även finnålsaspirat, histologiska silverfärgningar och immunohistokemi används och mycket forskning pågår inom dessa områden. Det pågår också forskning om vilka faktorer som påverkar prognosen, som till exempel tumördjup, lokalisering, lymfknutemetastaser eller om tumörerna är multipla eller solitära.

Det är framför allt kirurgi som används för att behandla hundar med kutana mastcellstumörer. Ibland tillåter dock inte tumörens lokalisering tillräckliga kirurgiska marginaler, eller så har tumören en hög histologisk gradering och då kan kompletterande behandlingar behövas. Ett alternativ om inte marginaler fria från tumörceller uppnås med kirurgi är strålning. Om lymfknutorna ska behandlas profylaktiskt eller ej med strålning är dock omdiskuterat. Kemoterapi och andra läkemedel som tyrosinkinashämmare eller glukokortikoider är andra behandlingsalternativ eller komplement som finns tillgängliga.

SUMMARY

The mast cells role in allergic responses is well known, but their function in cancer development is not. It is not yet clear whether the mast cell is helping or trying to work against the growing tumor. It is believed that mast cells promote the angiogenesis, remodel the surrounding extracellular matrix and modulate the immune response, but also that they can be cytotoxic. Cutaneous mast cell tumors are one of the most common cutaneous tumors in dogs and they can vary a lot in both appearance and location. It is not known why mast cell tumors appear, but it is suspected that they have a multifactorial background and research about the involvement of mutations in one of the growth factor receptors on the mast cell is in progress.

To classify mast cell tumors correctly is not easy but very important prior to treatment. The most commonly used method is histological grading according to Patnaik, and the second most used one is the World Health Organization's (WHO's) system of clinical stage. Other systems also used for prognostic information are fine-needle aspirates, argyrophilic staining and immunohistochemistry. Clinical prognostic factors that are thought to might be of value include tumor depth, localization, lymph node metastasis or if the tumor is solitary or multiple.

Most mast cell tumors are treated surgically, but sometimes the location does not allow enough margins or the tumor is of too high grade. In these cases further treatment is necessary, e.g., radiation. Other available treatments include chemotherapy, receptor tyrosine kinase inhibitors or glucocorticoids.

INLEDNING

Kutana mastcellstumörer är en av hundens vanligaste hudtumörer. Dessa tumörer kan variera väldigt mycket gällande malignitet, lokalisation, spridning och utseende. För att forskningen ska kunna gå framåt och hitta de bästa behandlingarna är det viktigt att förstå bakgrunden till sjukdomen. Detta arbetes frågeställningar är:

- Varför uppstår mastcellstumörer och varför det är så svårt att förutse deras beteenden?
- Vilka behandlingar verkar lovande inför framtiden och kommer att bestå?

MATERIAL OCH METODER

De informationskällor som har använts för denna uppsats är Web of knowledge, PubMed och Svensk Läkartidning. Sökorden som har använts har bland annat varit mast cell, tumor, tumors, canine, canines, dog, dogs, cutaneous, glucocorticoid, glucocorticoids, radiation, irradiation, radiotherapy, prednisone, vinblastine och receptor tyrosine kinase inhibitor. Sökningen har begränsats genom att välja att vissa ord ska ingå i titeln.

LITTERATURÖVERSIKT

Mastcellen

Mastcellen är kanske mest känd för sin roll vid allergiska reaktioner som till exempel astma, men på senare tid har forskning visat att den även har en roll vid till exempel inflammatoriska hudsjukdomar, artrit, ateroskleros och cancer. Mastcellen har också många goda sidor och utgör ett skydd mot en del patogener och kan ibland dämpa en inflammatorisk reaktion. I mastcellens cytoplasma finns stora mängder sekretoriska granula som bland annat innehåller histamin, cytokiner, proteaser och proteoglykaner som till exempel heparin. Vid aktivering av mastcellen frisätts ofta dessa granula och deras innehåll, men det pågår också en nysyntes av andra proinflammatoriska ämnen som till exempel prostaglandiner, leukotriener och fler cytokiner. Effekten när dessa mediatorer frisätts kan bli mycket kraftfull och i värsta fall leda till anafylaktisk chock (Pejler & Nilsson, 2009).

Mastceller härstammar från hematopoetiska stamceller. De cirkulerar i blodet som prekursorceller och mognar först när de kommer ut i vävnaden och där kan de vara mycket långlivade. Det finns forskning som tyder på att även fullt differentierade mastceller kan genomgå celledelning (Abraham & St John, 2010; Welle et al., 2008). Mastcellen finns främst i de vävnader som kommer i kontakt med omgivningen som till exempel huden, lungorna och tarmarna och där är de ofta lokaliserade nära blodkärl, lymfkärl och nerver (Welle et al., 2008).

Mastcellens roll vid tumörtillväxt

Forskning på framför allt möss har gett en inblick i mastcellens roll vid tumörtillväxt och bland annat visat att mastcellen är en av de tidigaste cellerna att infiltrera växande tumörer. De samlas i gränsen mellan tumör och frisk vävnad, ofta nära blodkärl. Det är ännu inte klarlagt om mastcellernas närvaro gynnar eller missgynnar tumörens tillväxt och det finns studier som styrker båda sidorna. Det är inte heller klarlagt om mastcellerna i tumörerna kommer från närliggande vävnad eller prekursorceller i blodet (Maltby et al., 2009).

Mastceller kan vara cytotoxiska för tumörceller men de uttrycker också många proangiogenetiska faktorer (till exempel VEGF, heparin, histamin, TNF α) och kan spela en roll i den tidiga kärlbildningen som är viktig både för tumörens tillväxt och för att möjliggöra metastasering. Dessutom innehåller mastcellen proteaser som tros bryta ned den extracellulära matrix som omger tumören vilket ger tumören mer utrymme och ytterligare ökar angiogenesen. Även detta gör det lättare för tumören att metastasera (Maltby et al., 2009).

Det finns inte så mycket forskning specifikt om mastcellens interaktioner med immunceller i miljön runt växande tumörer. Det är dock känt att en lokal inflammation på platsen för tumörtillväxt uppstår och att mastceller samlas runt tumören och påverkar immunförsvaret både genom att locka dit immunceller och genom immunosuppression. Andra celler som också samlas är makrofager, neutrofiler, eosinofiler, dendritiska celler, T-celler, NK celler och endotheliala prekursorer. I en studie (Maltby et al., 2009) föreslås det att mastceller lockar eosinofiler till platsen för tumörtillväxt och påverkar deras förmåga att döda tumörceller. Det finns mycket kunskap om mastcellens förmåga att rekrytera och aktivera immunceller i andra sjukdomar, till exempel rekrytering av eosinofiler och neutrofiler, och aktivering av T- och B-cells svar. Mastceller har dessutom rapporterats uttrycka antigenpresenterande molekyler, vilket tyder på att de har en initierande roll vid adaptiv immunitet, och att de därmed möjligen kan modulera avstötningen av tumören. Detta skulle i sådana fall ske genom aktivering av antitumöra T- och NK-celler, det är dock ej klarlagt om detta verkligen sker (Maltby et al., 2009).

Mastcellstumörer

Mastceller kan bilda både solitära och multipla kutana mastcellstumörer (mastocytom), samt kutan och systemisk mastocytos. De två sistnämnda formerna föregås oftast av en odifferentierad primär kutan tumör (Welle et al., 2008). Mastocytos är en myeloproliferativ sjukdom med mastcellshyperplasi i ett eller flera organ (Hägglund et al., 2008). Hos en hund med mastocytos kan splenomegali, hepatomegali och perifer lymfadenomegali ses (Govier, 2003). Primär mastcellsleukemi, vilket innebär onormalt stora mängder mastceller i blod och benmärg, är mycket ovanligt. Beteendet hos mastcellstumörer varierar mycket. De flesta mastcellstumörer som drabbar hundar uppkommer i dermis och subkutan vävnad. I ovanligare fall kan de drabba konjunktiva, spottkörtlarna, nasofarynx, larynx med mera (Welle et al., 2008).

Kutana mastcellstumörer

Hunden har en ovanligt hög risk att få kutana mastcellstumörer och de utgör 7-21% av alla hundens hudtumörer. Ofta upptäcks en kutan mastcellstumör som en nybildning på huden. Det är mindre vanligt att hundarna får kliniska symtom orsakade av degranulering från mastcellerna, och det är bara ca 5-25% av alla hundar med mastcellstumörer som drabbas av multipla tumörer (Welle et al., 2008). Medelåldern för hundar som drabbas av mastcellstumörer är ca 8 år (Dobson & Scase, 2007).

Över 50% av alla mastcellstumörer drabbar bålen, ca 25-40% drabbar extremiteterna och ca 10% huvudet och nacken (Welle et al., 2008). Tumörernas utseende kan variera kraftigt och de kan uppträda som fasta, solitära, gummiaktiga och långsamväxande knölar. Vissa mastcellstumörer kan förväxlas med lipom, som är en godartad tumör med ursprung i fettvävnaden (Dobson & Scase, 2007). Mastcellstumörer kan även vara hårlösa och ulcererande, se Figur 1. De kan också vara snabbväxande, orsaka irritation och ge upphov till små närliggande knölar. Eftersom mastcellstumörernas utseende kan variera så mycket ska

alla hudtumörer övervägas som möjliga kutana mastcellstumörer (Welle et al., 2008; Dobson & Scase, 2007).



Figur 1. En boxer med en ulcererande mastcellstumör av grad II (Foto: veterinär Patricio Rivera).

Palpering av mastcellstumörer kan ibland orsaka degranulering vilket resulterar i utsläpp av histamin och andra vasoaktiva substanser som leder till lokal vasodilatation, ödem och hudrodnad, vilket är känt som Darier's symtom. Aggressiva eller extensiva mastcellstumörer kan ge upphov till gastrointestinala ulcerationer vilket kan leda till anorexi, kräkningar, blod i avföringen, anemi med mera. Orsaken till detta tros vara kombinationen av kärlskador, stimulering av parietalcellernas H_2 receptorer vilket leder till kraftig magsyreproduktion, och hypermotilitet (Welle et al., 2008).

Bildning av mastcellstumörer

Orsaken till varför mastcellstumörer bildas är okänd, men troligtvis är den precis som hos många andra tumörer multifaktoriell. På grund av att vissa hundraser som till exempel boxer, bostonterrier och bullterrier har visat sig vara överrepresenterade gällande förekomst av mastcellstumörer misstänks även att det föreligger ett genetiskt samband (Welle et al., 2008).

Nyligen har ett samband upptäckts mellan uppkomst av mastcellstumörer och KIT, som är en ytreceptor för tillväxt. KIT uttrycks även på normala mastceller och kodas av proto-oncogenen c-KIT. Denna receptor har en transmembrandel med cytoplasmisk ligandberoende tyrosinkinasaktivitet (Welle et al., 2008). KITs ligand är stamcells faktorn och bindning till KIT i mastceller associeras med cellöverlevnad, proliferation, differentiering, fibronectin-adhesion, kemotaxi och degranulering (Webster et al., 2006).

Mutationer i c-KIT har hittats i juxtamembrandomänen, framför allt exon 11, och internal tandem duplications (ITDs) och deletioner har identifierats. Dessa mutationer förekommer i ca 9-30% av alla mastcellstumörer på hund och resulterar i en konstant aktiv form av KIT, även i frånvaro av stamcells faktorn. Det har också setts att ökad cytoplasmisk förekomst av KIT i hundens mastcellstumörer har ett signifikant samband med minskad överlevnadstid och sjukdomsfritt intervall jämfört med mastcellstumörer med KIT på cellmembranet (Webster et al., 2006; London et al., 2009).

Det har också föreslagits att kronisk kutan hudinflammation kan spela en roll i utvecklingen av mastcellstumörer (Govier, 2003). Dock är det bara ett fåtal fall av mastcellstumörer som kan associeras med kronisk dermatit, ärrömvandling eller hudirritation (Welle et al., 2008).

Att ställa en diagnos

Det är väldigt viktigt att klassificera mastcellstumörerna rätt innan behandling, eftersom valet av behandlingsmetod då skiljer sig åt (Krick et al., 2009). Det är också bra om metoderna är objektiva så att olika patologer kan bedöma tumörerna lika (Scase et al., 2006).

Mastcellstumörer kan identifieras genom cytologi och finnålsaspirat med färgade utstryk. De kan dock ej graderas endast genom cytologi utan histopatologi bör också alltid utföras. Med hjälp av histopatologi kan differentieringsgrad, mitotisk hastighet och invasivitet användas för att gradera tumören och på så sätt försöka förutspå dess beteende och prognos. Det finns flera histologiska graderingssystem publicerade och det som vanligtvis används är det utformat av Patnaik (1984), se Tabell 1. En stor brist i detta system är dock att det är mycket subjektivt (Dobson & Scase, 2007). Det kan vara så vanligt som att 50% av alla mastcellstumörer graderas olika histologiskt av olika patologer (Strefezzi et al., 2003). I Patnaiks studie överlevde 93% av hundarna med mastcellstumörer av grad I längre än 1500 dagar, 47% av hundarna med grad II och endast 6% med grad III (Patnaik et al., 1984).

Tabell 1. Histologiskt graderingssystem av kutana mastcellstumörer på hund (efter Patnaik et al., 1984)

Patnaiks histologiska graderingssystem

Grad	Mikroskopisk beskrivning
I	Begränsad till dermis och interfollikulära utrymmen. Väldifferentierade mastceller arrangerade i rader eller små grupper och separerade av kollagen från dermis. Runda och monomorfa celler med mycket cytoplasma som är tydligt avgränsad. De flesta celler har medelstora, intracytoplasmatiske granula och rund kärna innehållande kondenserat kromatin. Mitotiska celler är frånvarande. Minimalt med ödem och nekros kan iaktas.
II	Medel eller något förhöjd halt mastceller, som infiltrerar den lägre dermala eller subkutana vävnaden, ibland ända ner till skelettmuskulaturen eller omgivande vävnad. Något pleomorfa celler arrangerade i grupper med tunt fibrovaskulärt stroma. Runda till ovala celler, spindel- och jätteceller finns närvarande. Cytoplasman varierade från att vara tydligt avgränsad med granula lik grad I till att vara otydlig med stora hyperkromatiska granula. Rund eller indragen kärna med enstaka nukleoli. Diffust ödem och nekros kan iaktas, men mitotiska celler är sällsynta.
III	Stort antal celler, pleomorfa, vilket ersätter den normala subkutana och underliggande vävnaden. Mellanstora, runda, ovala eller spindelformade celler arrangerade i tätt packade lager. Cytoplasman är otydlig med otydliga intracytoplasmatiske granula. Tjockare stroma än föregående grad. Tvåkärniga- och mitotiska celler är vanliga. Det finns många jätteceller och det är vanligt med ödem, blödningar och nekros.

Världshälsoorganisationen (engelska: "World Health Organization", WHO) (1980) har ett klassificeringssystem för hundens mastcellstumörer som delar in dem i fem olika kategorier utifrån den kliniska bilden, se Tabell 2. En studie av Murphy visade dock att hundar med multipla tumörer inte hade sämre prognos än de med enstaka tumörer, och ifrågasätter WHO's klassificering av grad III tumörer (Murphy et al., 2006), vilket även stöds av flera andra studier (Poirier et al., 2006; Scase et al., 2006).

Tabell 2. Klassificeringssystem av hundens mastcellstumörer utifrån kliniskt stadie utformat av WHO (1980)

WHO's kliniska klassificeringssystem	
Stadie	Klinisk bild
0	En ofullständigt borttagen tumör från dermis, utan spridning till regionala lymfknutor a. Utan systemiska symtom b. Med systemiska symtom
I	En tumör begränsad till dermis, utan spridning till regionala lymfknutor a. Utan systemiska symtom b. Med systemiska symtom
II	En tumör begränsad till dermis, med spridning till regionala lymfknutor a. Utan systemiska symtom b. Med systemiska symtom
III	Multipla dermala tumörer eller en stor infiltrerande tumör med eller utan spridning till regionala lymfknutor a. Utan systemiska symtom b. Med systemiska symtom
IV	Alla tumörer med avlägsna metastaser eller återkommande tumörer med metastaser (även blod- och benmärgsinblandning)

En studie (Krick et al., 2009) visar att cytologisk lymfknuteundersökning ger värdefull information som hjälper till att gradera mastcellstumörerna rätt. Studien visade att hundar med lymfknutemetastaser hade en kortare överlevnadstid än de hundar som inte hade lymfknutemetastaser. Finnålsaspirat av lymfknutor är en relativt billig, snabb och icke-invasiv metod som ofta utförs på klinikerna. Eftersom mastceller även finns i friska lymfknutor är inte enbart närvaron av mastceller tillräcklig för att påvisa metastatisk sjukdom. I studien av Krick fanns flera olika kriterier och grader från normal, då inga mastceller kunde ses, till säkert metastatisk, då bland annat icke-differentierade och aggregat av fler än tre mastceller kunde ses (Krick et al., 2009).

Histokemisk silverfärgning av nukleolära organiserande regioner (engelska: "argyrophilic nucleolar organising regions", AgNORs), används både inom human- och veterinärmedicinen som en markör för tumörkinetik och metabolisk aktivitet. Antalet AgNORs per neoplastisk

kärna är proportionellt till cellernas dubbleringstid *in vitro* och tumörens tillväxthastighet *in vivo*. Studier har visat att höga AgNOR-värden har ett samband med sämre prognos, men detta diagnostiseringsalternativ är ej självständigt från Patnaiks histologiska grad, vilket gör denna metod mindre användbar (Scase et al., 2006; Dobson & Scase, 2007; Welle et al., 2008).

Under cellcykeln uttrycks proteinet Ki67 som kan upptäckas med immunohistokemi, vilket har visat sig ha ett stort samband med prognos. De kanske största fördelarna med Ki67 är att det är en objektiv bedömning och att den är oberoende av histologisk grad (Dobson & Scase, 2007). Både Ki67 och AgNOR har visat sig ge en bättre bild av antalet celler som delar sig än räkning av mitotiska figurer (Scase et al., 2006). I en studie av Scase sågs att om Patnaiks grad II mastcellstumörer delades in i två grupper beroende på Ki67 värden kunde en väsentlig skillnad i överlevnadschansen ses (Scase et al., 2006).

I en studie (Kiupel et al., 2005) undersöktes om tumördjupet eller lokaliseringen av tumören hade någon betydelse för prognosen. Utifrån hur långt ner tumören sträckte sig delades tumörerna in i de fyra grupperna: superficial dermis, superficial och djupare dermis, endast djupare dermis och muskulär invasion. För att se om något samband fanns med lokaliseringen av tumörerna delades de in i fyra andra grupper utifrån tumörer lokaliserade på: huvud och nacke, kroppen, extremiteterna och inguinal/perineal regionen. Resultatet visade att varken tumördjupet eller lokaliseringen har någon betydelse för ytterligare utveckling av mastcellstumörer eller överlevnadstid. Studien visade också att multipla mastcellstumörer har ett samband med minskad överlevnadstid hos hundar som endast behandlas med kirurgi. Tidigare studier har inte funnit något samband mellan multipla mastcellstumörer och minskad överlevnadstid, men dessa försök har ej gjorts med enbart kirurgi utan med strålning eller kemoterapi (Kiupel et al., 2005; Poirier et al., 2006).

Behandling

Kirurgi

Det finns många behandlingsalternativ för hundar med kutana mastcellstumörer men kirurgi är den vanligaste metoden. Det krävs dock att tumören har en lokalisering som tillåter kirurgiska marginaler. Rekommendationen för marginaler till tumören har varit 3 cm av normal vävnad lateralt och ett fascialplan djupt. När 3 cm av normal vävnad tas bort i marginal blir det dock en stor påverkan på huden. Detta kan leda till stora rekonstruktionprocesser vilket i sin tur är associerat med ökad morbiditet och operationstid (Simpson et al., 2004; Fulcher et al., 2006). Att mastcellstumörer sprider sig utanför den synliga tumören är utrett, men hur långt är dock inte känt (Simpson et al., 2004).

I en studie (Simpson et al., 2004) på 21 hundar undersöktes om neoplastiska celler kunde hittas 1, 2 och 3 cm från den synliga tumören för att se vilka marginaler som behövdes för att helt avlägsna tumörerna. En marginal på ett fascialplans djup användes. Resultatet blev att alla grad I-tumörer var helt avlägsnade vid 1-, 2- och 3-cm marginaler. Av grad II-tumörerna var 15 av 20 (75%) komplett avlägsnade vid 1 cm-marginaler, vid 2 cm-marginaler fanns inga neoplastiska celler. Inget samband mellan tumörstorlek och lyckad operation kunde iakttas. Ingen lokal återkomst av mastcellstumörer kunde ses i denna studie som hade en median uppföljningstid på 351 dagar. Detta tyder på att 2-cm marginal är tillräckligt för att avlägsna grad I- och II-tumörer och att 1 fascialplan djup marginal var tillräckligt (Simpson et al., 2004). Detta stöds även av en studie (Fulcher et al., 2006) som gjordes på 16 hundar för att utvärdera om 2 cm marginaler och ett fascialplan djup var tillräckligt för att avlägsna

mastcellstumörer av grad I och II. I den studien avlägsnades 91% av alla grad I- och II-tumörer. I de övriga fallen upptäcktes mastceller vid marginalen. Det är dock ej klarlagt om dessa celler var neoplastiska eller ej. Trots att antalet hundar i denna studie var mycket litet tyder resultatet på att kirurgi med 2 cm marginal ger ett liknande utfall som med större marginaler (Fulcher et al., 2006).

I en studie på 55 hundar med mastcellstumörer av grad II (Seguin et al., 2001) sågs att 95% av tumörerna inte återkom när dessa hundar endast behandlades med kirurgi. Av hundarna var 84% helt fria från mastcellstumörer efter operationen. Median uppföljningstid i studien var 540 dagar (77-1804 dagar). Forskarna i denna studie anser att ytterligare lokal behandling inte behövs efter lyckad kirurgi av mastcellstumörer av grad II (Seguin et al., 2001).

Strålning

Om en mastcellstumör inte kan avlägsnas helt genom kirurgi behandlas den ofta med lokal strålning efter ingreppet (London et al., 2009). En studie (Poirier et al., 2006) gjordes för att se effekt och toxicitet av två strålningsterapier för behandling av hundar med mastcellstumörer, histologisk grad II och kliniskt stadie 0, som genomgått otillfredsställande kirurgi. I studien ingick 45 hundar och av dessa behandlades 24 dessutom profylaktiskt med strålning av regionala lymfknutor. Den totala överlevnaden efter 1, 2 och 3 år var 97,6% , med en median uppföljningstid på 933 dagar. Totalt fick tre hundar (6,7%) tumörer som återkom på platsen för den behandlade tumören, två hundar (4,4%) fick metastaser och 14 hundar (31%) utvecklade en ny kutan mastcellstumör. Ingen skillnad kunde ses i överlevnadstid mellan hundar som fick profylaktiskt behandling av regionala lymfknutor och de som ej fick detta. Därför anser Poirier et al. att strålning av regionala lymfknutor utan dokumenterade metastaser inte är nödvändigt. Resultatet i denna studie visar att postoperativ strålningsbehandling minskar chansen för lokalt återkommande av tumören när inte hela tumören har lyckats avlägsnats med kirurgi. I denna studie var metastasförekomsten låg (4%) vilket tyder på att rutin användning av systemisk terapi efter ofullständig kirurgi av grad II mastcellstumörer följt av strålning inte behövs. Av de 45 hundarna i studien fick 18 (40%) grad 1 och 2 toxicitet vilket visar sig som rodnad, fjällning med alopeci och fläckvis fuktig fjällning utan ödem. 26 (58%) hundar utvecklade grad 3 toxicitet vilket inkluderar ömsning av hud på trampdynorna och fjällning med ödem. Akut toxicitet sågs inte hos någon hund. Sena toxiska effekter, vilket inkluderar viss grad av alopeci eller att håret blir vitt inom området som bestrålades, sågs hos 31 respektive 8 hundar (Poirier et al., 2006).

Utan ytterligare behandling av ofullständigt kirurgiskt behandlade mastcellstumörer av histologisk grad III återkommer ofta dessa tumörer lokalt. En studie (Hahn et al., 2004), för att bestämma effekten av strålningsbehandling av ofullkomligt bortopererade mastcellstumörer av histologisk grad III och kliniskt stadie 0, kom fram till att strålning postoperativt kan vara effektivt. I studien ingick 31 hundar och av dessa metastaserade mastcellstumörerna till den regionala lymfknutan hos 16 av hundarna. En hund fick systemisk spridning av mastcellstumören. 17 hundar dog eller avlivades på grund av kliniska symtom associerade med återkommande tumörer eller progression, 3 hundar dog av orelaterade orsaker och 11 hundar levde och var utan tumörprogression vid sista uppföljningen, som varierade från 12 till 52 månader med en median på 25 månader. Alopeci kunde ses hos de flesta hundarna men inga uppehåll behövde tas under behandlingsperioden på grund av komplikationer som ödem, fuktig fjällning eller rodnad. Ett år efter strålningsbehandlingen var återhämtningsvärdet 65% och överlevnadsvärdet 71%. Slutsatserna forskarna drog var att när fullständig kirurgi inte kan åstadkommas är efterföljande strålning ett bra komplement (Hahn et al., 2004).

Prednison/vinblastin

Kemoterapi med prednison, ett kortisonpreparat mot inflammation, och vinblastin är väl tolererat när det handlar om mastcellstumörer med stor risk att metastasera. Vinblastin är en antimikrotubulär alkaloid som har använts för behandling av hemolymfatiska neoplasier hos hund och även på humansidan för diverse maligna tumörer (Thamm et al., 2006). Vinblastin verkar genom att minska mikrotubulis aktivitet, vilket leder till att cellcykeln stannar i metafasen. Det finns även förslag om att vinblastin kan ha en cytolytisk effekt på icke-delande celler, inducera apoptos, påverka tumörens kärlförsörjning med mera (Rassnick et al., 2008). En studie (Thamm et al., 2006) på 61 hundar visade att stödande behandling med prednison och vinblastin förlängde överlevnadstiden hos hundar med mastcellstumörer av grad III jämfört med tidigare uppmätt överlevnadstid hos hundar behandlade enbart med kirurgi (Patnaik et al., 1984; Thamm et al., 2006). Hos 16 av 61 hundar (26%) noterades bieffekter, detta skedde oftast efter den första dosen vinblastin. Bieffekterna yttrade sig bland annat som kräkningar, neutropeni, diarré, anorexi och slöhet (Thamm et al., 2006).

Tyrosinkinasinhibitor

Hundar med aggressiva mastcellstumörer överlever sällan längre än 6 månader efter att de har fått diagnosen, även om de behandlas med kirurgi, kemoterapi och/eller strålning. Toceranib Phosphate (SU11654, Palladia) är en tyrosinkinasinhibitor för behandling av mastcellstumörer. Palladia har både antitumör- och antiangiogenetisk aktivitet genom inhibering av KIT, vaskulär endotel tillväxtfaktor receptor 2 (engelska: "vascular endothelial growth factor receptor 2") och PDGFR β (engelska: "Platelet Derived Growth Factor β "). I en sponsrad placebokontrollerad studie av London et al. (London et al., 2009) testades om Palladia under 6 veckor efter kirurgi hade någon effekt på hundar med återkommande mastcellstumörer av grad II och III. Syftet med studien var att bestämma den objektiva responsraten till följd av behandling av mastcellstumörer med Palladia. Prevalensen för KIT mutationer i mastcellstumörer är uppskattningsvis 9-30%, och den är ännu vanligare i högt graderade tumörer. På grund av detta och KIT's roll i mastcellers tillväxt och överlevnad ansågs det troligt att en liten molekylinhibitor av KIT skulle kunna påverka tumörerna. Eftersom mastceller producerar vaskulär endotel tillväxtfaktor (VEGF) och bidrar till angiogenesen misstänktes även att inhibering av VEGF-receptor 2 signalering möjligen kunde hindra mastcellerna något. Inom den Palladia-behandlade gruppen sågs att hundarna med tumörer som var positiva för muterat c-KIT i högre grad svarade på behandlingen än de utan mutationen, 60% respektive 31%. Biverkningar som noterades hos >10% av de Palladia-behandlade hundarna var bland annat diarré, blod i avföringen, neutropeni och viktnedgång. Studien visade att det fanns en statistiskt signifikant skillnad i svar på behandling mellan gruppen som fick Palladia och placebogruppen (37,2% respektive 7,9%). Efter 6 veckor slogs de båda grupperna ihop och alla fick Palladia, den objektiva responsraten blev då 42,8%. Detta resultat konfirmerar att Palladia har klinisk aktivitet på mastcellstumörer på hund. Rutininplanerade behandlingsuppehåll ansågs inte var nödvändigt under behandling med Palladia (London et al., 2009).

Den objektiva responsraten för vinblastin är 7 – 30%, men när vinblastin kombineras med prednison ökar den objektiva responsraten till ca 27 – 64%. Palladias objektiva responsrate är 42,8%, men dess effekt tillsammans med prednison är ännu okänd. I framtiden kanske en kombination av Palladia och prednison kan vara möjlig och ytterligare förbättra behandlingsresultatet (London et al., 2009). KIT-mutationer var associerade med objektiv respons, men ej tid till tumörprogression. Detta tyder på att oavsett det molekylära svaret så

kan mekanismen för resistensutveckling mot Palladia vara likartad bland alla tumörer. Anledningen till resistensen utreddes inte i denna studie (London et al., 2009). Tidigare studier av små KIT-inhibitorer har dock visat att läkemedelsresistensen kan vara sekundär till utveckling av nya mutationer i KIT som minskar läkemedelsbindning, kraftigt ökat uttryck av KIT vilket minskar effekten av läkemedlet och/eller aktivering av andra signalvägar vilket minskar behovet av KIT fosforyleringen. Små-molekylinhibitorer används även för att behandla cancer på människor och de har visat sig ha effekt. Dock har toxicitet och resistensutveckling observerats. Råttjurmodeller misslyckas ofta i att visa både toxicitet och lämplig dosering, men studier som denna kan hjälpa till att förutspå både toxicitet och svar på terapi (London et al., 2009).

Behandling av systemiska symtom

Mastcellstumörcellernas granula, som innehåller vasoaktiva ämnen som histamin och heparin, kan orsaka kliniska symtom som magsår och blödningsbenägenhet på hundar. Oftast behandlas hundarna med kirurgi, men ibland metastaserar tumören och det förekommer också en systemisk påverkan på grund av de vasoaktiva ämnena. För att undvika detta förekommer det till exempel att kemoterapi efter kirurgi och/eller strålning kombineras med glukokortikoider, vincristin och/eller cyclophosphamid. En studie (Takahashi et al., 1997) om glukokortikoiders inhiberande effekt på mastcellstumörer på hund hade positiva resultat. Den skedde både *in vitro* och *in vivo* på möss injicerade med spontana medeldifferentierade mastcellstumörer från hund. *In vitro*-resultaten visade att tillväxten av de kutana mastcellerna var signifikant hämmad och apoptos-liknande celledöd kunde ses. Även *in vivo*-resultaten visade att kutana mastcellstumörceller svarade på glukokortikoidbehandlingen (Takahashi et al., 1997).

Glukokortikoider verkar genom att interagera med glukokortikoidreceptorerna i cytosolen och kärnan och i lymfoida celler induceras då cytolys. Eftersom mastceller härstammar från hematopoetiska stamceller skulle samma mekanism kunna ligga bakom den celledödande effekten av glukokortikoider på tumörcellerna. Det finns en allmän misstanke att lågt differentierade mastcellstumörer förlorar sina glukokortikoidreceptorer och därför är resistenta mot glukokortikoidbehandling, eller att tumör-resistenta kloner med färre eller ineffektiva glukokortikoidreceptorer kan börja växa. Den ligandbindande förmågan hos cellerna i denna studie var dock intakt, men det finns andra studier som föreslår att förekomsten av glukokortikoidreceptorer inte alltid betyder att cellen behöver svara på glukokortikoidbehandling (Takahashi et al., 1997).

Resistensutvecklingen beror delvis på mutationer i glukokortikoidreceptorerna. Den ligandbindande förmågan kan vara intakt men andra funktioner kan vara påverkade. Även ett överuttryck av plasmamembran P-glycoprotein och onormalt heat shock protein-uttryck kan orsaka resistens (Takahashi et al., 1997).

DISKUSSION

Varför uppstår mastcellstumörer och varför det är så svårt att förutse deras beteenden? Det är svårt att helt säkert säga varför de uppstår, men litteraturen är enig om att det troligtvis finns en multifaktoriell bakgrund. Statistiken visar att det finns en viss ärftlighet eftersom vissa raser är överrepresenterade. Den senaste forskningen har identifierat en mutation i juxtamembrandomänen på framför allt exon 11, vilket leder till en muterad KIT-receptor, i 9-30% av alla mastcellstumörer (Webster et al., 2006; London et al., 2009). Det är troligt att det

finns andra mutationer som är orsaken till de andra mastcellstumörerna, men det behövs mer forskning om detta.

Anledningen till varför det är så svårt att förutse mastcellstumörers beteenden kan, förutom att mastcellstumörerna har ett mycket varierande beteende, vara att dagens graderingssystem är subjektiva och inte alltid relevanta för prognosen. Det finns studier som ifrågasätter WHO's klassificeringssystem, framför allt på grund av stadie III där hundarna ges en sämre prognos på grund av att tumörerna är multipla eller sträcker sig djupt ner i vävnaden, vilket i flera studier har visat sig sakna prognostiskt värde (Kiupel et al., 2005; Murphy et al., 2006; Dobson and Scase, 2007; Welle et al., 2008). Ett nytt klassificeringssystem borde införas där till exempel Ki67 används för att dela in Patnaiks grad II tumörer i två olika klasser, eftersom det finns bevis för att överlevnadschanserna då skiljer sig åt och det är en objektiv metod (Scase et al., 2006).

Vilka behandlingar verkar lovande inför framtiden och kommer att bestå? Denna fråga är inte helt lätt att svara på och eftersom det ofta visat sig vara en kombination av olika behandlingar som ger de bästa resultaten blir det hela ännu svårare att reda ut. Kirurgi verkar dock vara ett säkert och beprövat grundval. Något bevis för att 3 cm marginaler för kirurgi av Patnaiks grad I- och II-tumörer skulle vara befogat har inte hittats i denna litteraturstudie, dock har flertalet bevis hittats för att 2-cm marginaler är tillräckliga (Simpson et al., 2004; Fulcher et al., 2006). Strålning efter att tumörceller hittats i marginalerna efter kirurgi verkar också vara väl beprövat och framgångsrikt, men strålning av regionala lymfknutor utan konfirmerad metastas verkar det dock inte finnas något bevis för att det har någon positiv effekt (Poirier et al., 2006).

Det finns också många olika läkemedel och läkemedelskombinationer för kemoterapeutisk behandling av mastcellstumörer på hund. Den kombinationen som denna litteraturstudie har funnit mest utredd och framgångsrik är prednison tillsammans med vinblastin. Det har dock varit svårt att jämföra olika studier då de har rört sig om olika grad av mastcellstumörer, olika kombinationer av läkemedel, olika behandlingslängder och doser. Även studiestorlekarna har skiljt sig kraftigt vilket har gjort att resultaten de kommit fram till i vissa studier inte har varit statistiskt signifikanta. Större och mer standardiserade studier med samma begrepp och kriterier för överlevnad, återfall med mera skulle underlätta detta betydligt. Det flesta studierna som tagits upp i denna litteraturstudie har använt sig av de hundar som besökt ett visst djursjukhus under en viss period, och då är det ganska naturligt att inte patientantalet alltid blir så stort. Någon bra lösning på detta är dock svår att finna, eventuellt kunde de låtit studierna fortgå under en ännu längre period eller använt större djursjukhus.

Tyrosinkinashämmare hämmar KIT och är framför allt effektiva mot mastcellstumörer som uppkommit på grund av mutationer i c-KIT. Detta visar tydligt hur viktigt det är att komma underfund med orsaken till bildningen av mastcellstumören för att kunna hitta mer specifika behandlingar. Det är troligt att denna och liknande behandlingar kommer att bli allt vanligare i framtiden. Med tanke på det förbättrade behandlingsresultatet som kan uppnås när olika behandlingar kombineras skulle det vara spännande att se till exempel Palladia kombineras med prednison.

LITTERATURFÖRTECKNING

- ABRAHAM, S. N. & ST JOHN, A. L. 2010. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nature Reviews Immunology*, 10, 440-452.
- DOBSON, J. M. & SCASE, T. J. 2007. Advances in the diagnosis and management of cutaneous mast cell tumours in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 48, 424-431.
- FULCHER, R. P., LUDWIG, L. L., BERGMAN, P. J., NEWMAN, S. J., SIMPSON, A. M. & PATNAIK, A. K. 2006. Evaluation of a two-centimeter lateral surgical margin for excision of grade I and grade II cutaneous mast cell tumors in dogs. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 210-215.
- GOVIER, S. M. 2003. Principles of treatment for mast cell tumors. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 18, 103-106.
- HAHN, K. A., KING, G. K. & CARRERAS, J. K. 2004. Efficacy of radiation therapy for incompletely resected grade-III mast cell tumors in dogs: 31 cases (1987-1998). *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224, 79-82.
- HÄGGLUND, H., GÜLEN, T., SÄÄF, M., SANDER, B. & NILSSON, G. 2008. Mastocytos - en sjukdom med många ansikten. Utredning och behandling bör ske i samråd med Karolinska Universitetssjukhuset. *Läkartidningen*, 105, 3341-3347.
- KIUPEL, M., WEBSTER, J. D., MILLER, R. A. & KANEENE, J. B. 2005. Impact of tumour depth, tumour location and multiple synchronous masses on the prognosis of canine cutaneous mast cell tumours. *Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine*, 52, 280-286.
- KRICK, E. L., BILLINGS, A. P., SHOFER, F. S., WATANABE, S. & SORENMO, K. U. 2009. Cytological lymph node evaluation in dogs with mast cell tumours: association with grade and survival. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 130-138.
- LONDON, C. A., MALPAS, P. B., WOOD-FOLLIS, S. L., BOUCHER, J. F., RUSK, A. W., ROSENBERG, M. P., HENRY, C. J., MITCHENER, K. L., KLEIN, M. K., HINTERMEISTER, J. G., BERGMAN, P. J., COUTO, G. C., MAULDIN, G. N. & MICHELS, G. M. 2009. Multi-center, placebo-controlled, double-blind, randomized study of oral toceranib phosphate (SU11654), a receptor tyrosine kinase inhibitor, for the treatment of dogs with recurrent (either local or distant) mast cell tumor following surgical excision. *Clin Cancer Res*, 15, 3856-65.
- MALTBY, S., KHAZAIE, K. & MCNAGNY, K. M. 2009. Mast cells in tumor growth: Angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation. *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Cancer*, 1796, 19-26.
- MURPHY, S., SPARKES, A. H., BLUNDEN, A. S., BREARLEY, M. J. & SMITH, K. C. 2006. Effects of stage and number of tumours on prognosis of dogs with cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Record*, 158, 287-+.
- PATNAIK, A. K., EHLER, W. J. & MACEWEN, E. G. 1984. CANINE CUTANEOUS MAST-CELL TUMOR - MORPHOLOGIC GRADING AND SURVIVAL-TIME IN 83 DOGS. *Veterinary Pathology*, 21, 469-474.
- PEJLER, G. & NILSSON, G. 2009. Mastcellen - både ond och god. Dags att omvärdera mastcellens roll vid hälsa och sjukdom [summary]. *Läkartidningen*, 106, 845-849.

- POIRIER, V. J., ADAMS, W. M., FORREST, L. J., GREEN, E. M., DUBIELZIG, R. R. & VAIL, D. M. 2006. Radiation therapy for incompletely excised grade II canine mast cell tumors. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42, 430-434.
- RASSNICK, K. M., BAILEY, D. B., FLORY, A. B., BALKMAN, C. E., KISELOW, M. A., INTILE, J. L. & AUTIO, K. 2008. Efficacy of vinblastine for treatment of canine mast cell tumors. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22, 1390-1396.
- SCASE, T. J., EDWARDS, D., MILLER, J., HENLEY, W., SMITH, K., BLUNDEN, A. & MURPHY, S. 2006. Canine mast cell tumors: Correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 151-158.
- SEGUIN, B., LEIBMAN, N. F., BREGAZZI, V. S., OGILVIE, G. K., POWERS, B. E., DERNELL, W. S., FETTMAN, M. J. & WITHROW, S. J. 2001. Clinical outcome of dogs with grade-II mast cell tumors treated with surgery alone: 55 cases (1996-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218, 1120-+.
- SIMPSON, A. M., LUDWIG, L. L., NEWMAN, S. J., BERGMAN, P. J., HOTTINGER, H. A. & PATNAIK, A. K. 2004. Evaluation of surgical margins required for complete excision of cutaneous mast cell tumors in dogs. *Javma-Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224, 236-240.
- STREFEZZI, R. D. F., XAVIER, J. G. & CATAO-DIAS, J. L. 2003. Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 40, 268-275.
- TAKAHASHI, T., KADOSAWA, T., NAGASE, M., MOCHIZUKI, M., MATSUNAGA, S., NISHIMURA, R. & SASAKI, N. 1997. Inhibitory effects of glucocorticoids on proliferation of canine mast cell tumor. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59, 995-1001.
- THAMM, D. H., TUREK, M. M. & VAIL, D. M. 2006. Outcome and prognostic factors following adjuvant Prednisone/vinblastine chemotherapy for high-risk canine mast cell tumour: 61 cases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 68, 581-587.
- WEBSTER, J. D., YUZBASIYAN-GURKAN, V., KANEENE, J. B., MILLER, R., RESAU, J. H. & KIUPEL, M. 2006. The role of c-KIT in tumorigenesis: Evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia*, 8, 104-111.
- WELLE, M. M., BLEY, C. R., HOWARD, J. & RUFENACHT, S. 2008. Canine mast cell tumours: a review of the pathogenesis, clinical features, pathology and treatment. *Veterinary Dermatology*, 19, 321-339.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1980. TNM Classification of Tumours in Domestic Animals, 53pp.