



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Gradering av kutana mastcelltumörer hos hund

Sandra Lundgren



Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 26

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2011



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Gradering av kutana mastcelltumörer hos hund

Grading of canine cutaneous mast cell tumors

Sandra Lundgren

Handledare:

Ebba Nilsson, Rodrigo Grandon, SLU, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

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: Joel Mills, bild tagen från Wikimedia Commons

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2011: 26
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Patnaik, mastcelltumör, kutan, hund, gradering

Key words: Patnaik, mast cell tumor, cutaneous, canine, dog, grading

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING	1
SUMMARY	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER.....	3
LITTERATURÖVERSIKT	3
Patologiska fynd och symptom	3
Histologisk gradering och dess relation till prognosen	4
Utvärdering av Patnaiks graderingssystem och förslag till ett bättre system	5
Multivariabel analys av Patnaiks graderingssystem.....	5
Jämförelser mellan olika alternativa diagnostiska metoder	6
Differentiera MCT från andra typer av rundcellstumörer.....	7
Subkutana mastcelltumörer.....	8
DISKUSSION	8
REFERENSER	11

SAMMANFATTNING

Mastcelltumörer är den vanligaste kutana tumörformen hos hund och maligniteten varierar mycket. Det idag vanligaste systemet för att gradera tumörerna är utarbetat av Patnaik et al. och delar in mastcelltumörerna i tre grader, där grad I är de mest benigna, väldifferentierade tumörerna, grad II intermediära, och grad III lågt differentierade, maligna tumörer. Flera studier har genomförts där Patnaiks gradering har utvärderats genom att jämföra överensstämmelsen mellan olika patologers gradering av samma tumörer, och det har visat sig finnas stora skillnader. Andra diagnostiska metoder har föreslagits för att bättre kunna förutsäga tumörernas biologiska beteende, och en eller flera av dem bör kombineras med den histologiska graderingen för att kunna ge säkrare prognoser.

SUMMARY

Mast cell tumors are the most common cutaneous tumors in dogs and the malignancy varies from case to case. The system for grading the tumors that is most commonly used today is made by Patnaik et al. It divides the mast cell tumors into three distinct grades, where grade I are the most benign, well differentiated tumors, grade II intermediate, and grade III poorly differentiated tumors. The grading system of Patnaik has been evaluated thoroughly by comparing the concordance of the gradings made by different pathologists of the same tumors. The studies have shown that the concordance is as low as 63% for lower grade tumors. Other diagnostic methods have been proposed to predict the biological behavior of the tumors more accurately, and one or more of them should be combined with the histological grading system in order to provide a correct prognosis.

INLEDNING

Mastcelltumörer (MCT) är den vanligaste kutana tumörformen hos hund och står för 7-21% av dessa. De uppkommer vanligen hos medelålders till äldre hundar, med en medelålder på 7-10 år (Patnaik et al., 1984; Macy & MacEwan, 1989; Kiupel et al., 2011). Hundar av alla raser kan drabbas men vissa raser så som boxer, labrador retriever, golden retriever, bostonterrier, mops, schnauzer och även blandraser anges ha en högre prevalens av MCT (Patnaik et al., 1984; Nelson et al., 2009; Kiupel et al., 2011). Mastcelltumörers biologiska beteende beskrivs ofta som oförutsägbart och tumörerna varierar från att vara relativt benigna till maligna med hög dödlighet (Patnaik et al., 1984; Nelson et al., 2009). Det är därför av största vikt att korrekt gradera dem för att kunna ge rätt prognos och välja rätt behandling.

Syftet med den här litteraturgenomgången är att undersöka hur MCT vanligen graderas, hur väl den graderingen korrelerar med eventuella recidiv och överlevnad samt några alternativa sätt att diagnosticera tumörerna som har studerats.

MATERIAL OCH METODER

Sökning efter artiklar och annan litteratur har skett i databaserna PubMed, Web of Knowledge, Scopus och Science Direct. Vissa sökningar har även gjorts i LUKAS. Olika kombinationer av sökorden ”mast cell” tumor*, tumour*, mastocytom*, dog*, canine* och cutaneous har använts, till exempel frasen: [cutaneous AND ”mast cell” AND (tumor* OR tumour*) AND (dog* OR canine*)]. Sökning skedde även efter artiklar från referenslistorna i review- och originalartiklar.

LITTERATURÖVERSIKT

Patologiska fynd och symptom

Kutana MCT hos hund är vanligen solitära, upp till fyra centimeter stora och lokaliserade i kutis, ibland med utsträckning till subkutis. Större tumörer och multipla neoplasier på samma hund förekommer också. MCT hittas till exempel på bål, extremiteter och huvud, men även perinealregionen och andra mucokutana vävnader kan drabbas (Thamm & Vail, 2001; Nelson et al., 2009). MCT kan uppträda i mycket varierande former, men grovt generaliserat så är väldifferentierade MCT runda, långsamväxande och ibland hårlösa, medan lågt differentierade MCT tenderar att vara snabbväxande och ulcerösa (Thamm & Vail, 2001). I 52-59 % av tumörerna ses ett stort antal eosinofiler men tumörer utan eosinofiler förekommer också (Preziosi et al., 2007; Simoes et al., 1994). Även en subkutan form av MCT, utan dermalt ursprung, har beskrivits (Thamm & Vail, 2001) och 10-15% av alla MCT kan inte kliniskt särskiljas från vanliga subkutana lipom (Nelson et al., 2009). För att säkert kunna diagnosticera MCT räcker inte enbart kliniska fynd utan kompletterande diagnostik krävs (Nelson et al., 2009).

Mastcellerna kan frisätta granula med bland annat histamin och heparin vid mekanisk manipulation, till exempel i samband med palpation av tumören eller kirurgiskt borttagande av densamma. Det kan ge ett fenomen som kallas Darier's sign där erytem och en diffus rund svullnad kan ses runt tumören (Macy & MacEwan, 1989; Thamm & Vail, 2001; Nelson et al., 2009).

Frisättning av histamin från mastcellsgranula kan ge gastrointestinal ulceration genom att verka på parietalcellernas H₂-receptorer vilket leder till en ökad frisättning av saltsyra samtidigt som den normala negativa feedbacken inte fungerar. Symptom som kan ses är buksmärta, kräkningar (ibland blodiga), melena och anorexi. Histamin har även vasoaktiva egenskaper och kan orsaka hypotension vid kirurgiskt borttagande av tumören. Mastcellerna kan också frisätta heparin, som påverkar koagulationen, vilket kan ge blödningar i samband med kirurgi. Även förlängd sårhelningstid kan ses ibland (Thamm & Vail, 2001).

Om tumörerna metastaserar så sker det vanligen till den regionala lymfknutan i första hand och därefter till mjälte, lever och ibland till andra inre organ, men sällan till lungorna. Även i benmärg och blod kan neoplastiska mastceller hittas vid systemisk spridning (Thamm & Vail, 2001; Nelson et al., 2009).

Histologisk gradering och dess relation till prognosen

Det mest använda histologiska graderingssystemet för MCT är Patnaiks tregradiga skala (Preziosi et al., 2007; Kiupel et al., 2011), där grad I är väl differentierade, grad II intermediärt och grad III lågt differentierade tumörer. I studien som ligger till grund för systemet ingick 83 hundar med MCT som togs bort kirurgiskt med goda marginaler. Hundarna följdes i 1500 dagar efter operationen och erhöll ingen annan behandling. 46% (38/83) av hundarna dog eller avlivades p.g.a. MCT under uppföljningsperioden. Den morfologiska graderingen av tumörerna jämfördes med överlevnadstiden för varje hund (Patnaik et al., 1984).

36% (30/83) av hundarna diagnosticerades med tumörer av grad I. De karakteriserades av rader eller små grupper av väl differentierade mastceller i dermis, separerade av kollagenfibrer. Cellerna var monomorfa, runda och oftast med tydligt avgränsad cytoplasma innehållande mediumstora granula. Kondenserat kromatin sågs i de runda kärnorna. Mitoser observerades ej. 93% (28/30) av de här hundarna överlevde minst hela uppföljningsperioden (Patnaik et al., 1984).

43% (36/83) av tumörerna ansågs vara av grad II. Måttlig till hög cellularitet sågs och neoplasierna infiltrerade eller ersatte subkutan och djupare dermal vävnad. I vissa fall var även annan närliggande vävnad, till exempel skelettmuskulatur, involverad. En varierande mängd stroma omgav grupper av måttligt pleomorfa, runda till ovala celler. Spolformade celler och jätteceller observerades. I de flesta cellerna sågs en distinkt cytoplasma med små granula men en del celler hade hyperkromatiska, stora granula och mindre tydlig cytoplasma. Cellerna hade en, i vissa fall två, runda till ojämna kärnor, en nukleol och utspritt kromatin. 0 till 2 mitoser per high power field (hpf, ett mikroskopfält vid högsta förstoring) och områden med nekroser och ödem syntes. 47% (16/36) av hundarna med mastcelltumörer av grad II levde längre än 1500 dagar (Patnaik et al., 1984).

20% (17/83) av hundarna hade tumörer av grad III. Neoplasierna hade hög cellularitet och ersatte subkutan och djupare liggande vävnad. Cellerna sågs i täta flak och var runda, ovala eller spolformade, pleomorfa och medelstora. Tydlig cytoplasma saknades och granula var små och otydliga. En, eller ofta två, kärnor observerades, vilka var runda eller ojämna, med

minst en tydlig nukleol. Både multinukleära celler och jätteceller, liksom mitoser (3 till 6 per hpf) var vanliga. Stromat var rikligt och nekroser, ödem samt blödningar var vanligt förekommande. Bland de 17 hundarna med tumörer av grad III var det bara 6% (1 hund) som levde hela uppföljningsperioden (Patnaik et al., 1984).

Utvärdering av Patnaiks graderingssystem och förslag till ett bättre system

Northrup et al. (2005) utvärderade Patnaiks system genom att låta 10 veterinärpatologer gradera 60 kutana mastcelltumörer. 16 av tumörerna diagnosticerades med samma grad av alla 10 patologerna. Statistiska beräkningar gjordes för alla graderingarna och medelöverensstämmelsen mellan patologernas graderingar var 62,1%. 8 av de 10 patologerna var överens om graden på mer än 80% av tumörerna.

I en annan studie (Kiupel et al., 2011) fick 28 veterinärpatologer, blint och oberoende av varandra, gradera 95 kutana mastcelltumörer enligt Patnaiks system och därefter beräknades överensstämmelsen mellan de olika patologernas diagnoser av tumörerna. Studien visade att för mastcelltumörer av grad III var samstämmigheten 75% medan den för grad I och II bara var 63%. Patologerna tenderade att gradera tumörerna som grad II när de var gränsfall mellan grad I och II. Det sågs inte heller någon signifikant ökad MCT-relaterad död hos hundar med tumörer av grad II jämfört med grad I. I studien föreslås att grad I och II kanske inte är två skilda grupper utan bara variationer av låggradiga mastcelltumörer. De faktorer som var gemensamma för de tumörer som de flesta diagnosticerade som grad III var kärnatypi och många mitoser.

Kiupel et al. (2011) föreslår att ett nytt 2-gradigt system, där mastcelltumörerna delas in i låg- och höggradiga, skulle vara mer korrekt och av större kliniskt värde för att bättre kunna förutsäga prognosen och välja lämplig behandling. De anser att ett höggradigt MCT uppfyller minst ett av följande kriterier: minst 3 multinukleära (3 eller fler kärnor) celler i var och ett av 10 hpf, minst 7 mitoser i 10 hpf, minst 3 atypiska kärnor i 10 hpf, eller karyomegaly (minst 10% av de neoplastiska mastcellerna har kärnor vars diameter avviker med minst det dubbla). Däremot kunde inte någon association ses mellan tumörens grad och samtidig förekomst av multipla tumörer.

6 nya patologer fick gradera de tidigare nämnda 95 tumörerna enligt det föreslagna 2-gradiga systemet. Överensstämmelsen mellan patologernas gradering av tumörerna ökade till 99,3%. Graderingen jämfördes med överlevnaden och en signifikant association sågs mellan höggradiga MCT och ökad mortalitet, en ökad risk för, och kortare tid till, metastaser/utveckling av ytterligare tumörer samt kortare överlevnadstid. Hundar med låggradiga tumörer hade en medianöverlevnadstid på över två år, medan motsvarande tid för hundar med höggradiga MCT var mindre än fyra månader (Kiupel et al., 2011).

Multivariabel analys av Patnaiks graderingssystem

En studie genomfördes av Preziosi et al. (2007) där de olika parametrarna i Patnaiks graderingssystem analyserades separat för att identifiera vilka av dem som var mest relevanta för överlevnad och tiden från operation till recidiv. Kutana mastcelltumörer från 32 hundar användes och graderades enligt Patnaiks system. De parametrar som utvärderades var

invasivitet, antal mitoser, differentieringsgraden, kärnmorfologin och celldistribueringsmönster. Var och en av parametrarna delades upp i flera grader där varje tumör bedömdes individuellt. Även antalet eosinofiler och multipla tumörer på samma hund togs med i bedömningen.

31% (10/32) av tumörerna var av grad I, 44% (14/32) av grad II, och 25% (8/32) av grad III, när de graderades enligt Patnaiks skala. Tumörerna återkom hos 37,5% (12 hundar) och 25% (8 hundar) dog eller avlivades på grund av sjukdom relaterad till mastcelltumören (Preziosi et al., 2007).

Av de analyserade parametrarna var det bara invasivitet och multipla tumörer som hade ett signifikant samband med både överlevnadstiden och tiden från operation till att tumören återkom. Histologisk grad, antal mitoser, differentieringsgraden och celldistribueringsmönstret hade ett signifikant samband enbart med överlevnadstiden. Invasivitet och antal mitoser var de histologiska parametrarna som visade högst känslighet vad gäller korrekt prognos. I 59% av tumörerna sågs en stor mängd eosinofiler, men något samband med prognosen kunde inte påvisas (Preziosi et al., 2007).

Jämförelser mellan olika alternativa diagnostiska metoder

I en studie av Simoes et al. (1994) jämfördes histologisk gradering, antalet mitoser, AgNOR-antal (chromosome nucleolar organizer regions stained with silver) och PCNA (antikroppar mot prolifererande cellkärnantigen) som markörer för att kunna ge en korrekt prognos. AgNOR och PCNA är proteiner som används vid RNA-transkriptionen respektive proteinsyntesen och antalet speglar celldelningshastigheten (Bravo et al., 1987; Thompson et al., 2011).

122 mastcelltumörer användes. 112 av tumörerna undersöktes histologiskt och graderades enligt Patnaiks kriterier. Frekvensen av återkommande tumörer och mortalitet var signifikant högre hos hundar med tumörer av grad III än grad I. Mitoser räknades i anti-PCNA-färgade snitt. Medelantalet mitoser per 1000 celler var 4,2 för grad I, 8,3 för grad II och 11,0 för grad III, vilket var statistiskt signifikanta skillnader (Simoes et al., 1994).

Histologiska, signifikanta skillnader vad gäller antal mitoser samt förekomst av celler med varierande storlek och form konstaterades mellan återkommande och icke återkommande tumörer. Medelantalet mitoser per 1000 celler var 9,4 och 5,8 i de som recidiverade respektive de som inte gjorde det. Det mitotiska indexet uppvisade dock inte signifikanta skillnader mellan tumörer som metastaserade eller inte. Storlek och form var mer enhetlig bland cellerna i tumörerna som inte återkom. Det gick inte att påvisa en signifikant skillnad i graden av infiltration mellan återkommande och icke återkommande tumörer. I 52% av tumörerna sågs ett stort antal eosinofiler, medan det i 8 % av tumörerna inte observerades några eosinofiler alls. Det fanns inte en signifikant koppling mellan antal eosinofiler och prognosen (Simoes et al., 1994).

När AgNOR räknades i cellerna (mörkt bruna till svarta prickar associerade med nukleolen) sågs signifikanta skillnader i antal både mellan återkommande och icke återkommande tumörer samt mellan de som metastaserade och inte gjorde det. Även de PCNA-positiva

cellerna (orange till röda kärnor) uppvisade signifikanta skillnader med högre antal i återkommande respektive metastaserande tumörer än i icke återkommande respektive icke metastaserande tumörer (Simoes et al., 1994).

Resultaten ovan tillsammans med hundarnas ålder jämfördes mellan gruppen som återfick tumörer och gruppen som inte fick tillbaka dem för att bestämma vilka prognostiska markörer/metoder som är bäst för att förutsäga tumörfrihet 3, 6 respektive 9 månader efter operationen. De olika metoderna var olika bra över de olika tidsperioderna så en kombination av histologisk klassificering, AgNOR-räkning bland 100 celler (AgNOR 100) och andelen PCNA-märkning i fem hpf (PCNA-5HPF) föreslogs och visade sig korrekt kunna förutsäga eventuell återkomst av tumörer i 80,6% (71st.) av fallen. En signifikant längre överlevnadstid kunde påvisas hos hundar med AgNOR 100 lägre än 2,25; PCNA-5HPF lägre än 261; och histologisk grad I eller II (Simoes et al., 1994).

KIT- och tryptas-färgningsmönster undersöktes av Kiupel et al. (2004) som sätt att ge säkrare prognoser för olika mastcelltumörer. KIT är en receptor i bland annat mastceller (Yarden, Y., 1987) för en tillväxtfaktor, SCF (stem cell factor) (Tsai, M., 1991). KIT-proteinet kommer från en c-kit proto-oncogen (Yarden, Y., 1987) som har visats vara muterad i många MCT (Ma, Y., 1999). 100 kutana MCT från hund, där kirurgi var enda behandlingen, användes i studien. De var histologiskt graderade enligt Patnaiks system som 17st grad I, 72st grad II, och 11st grad III MCT. 98 av dem färgades med anti-KIT-antikroppar och lika många med anti-tryptas-antikroppar. De KIT-färgade tumörerna delades sedan in i tre grupper utifrån hur de blev färgade. I grupp 1 placerades MCT där färgningen i huvudsak var längs membranet, i grupp 2 tumörer där membranet var mindre färgat men färgade prickar kunde ses i cytoplasman och i grupp 3 hamnade de tumörer som hade en diffus färgning av hela cytoplasman. (Icke-neoplastiska mastcellers membran blir bara svagt färgat och deras cytoplasma helt ofärgad). 42,9% av tumörerna hade KIT-färgningsmönster 1, 43,9% mönster 2, och 13% mönster 3. Resultatet jämfördes med överlevnadstiden och eventuella recidiverande tumörer, och det visade sig finnas en signifikant koppling mellan KIT-färgningsmönstergrupperna 2 samt 3 och en ökad frekvens av lokalt recidiverande tumörer samt kortare överlevnadstid. De tryptas-färgade tumörerna delades också in i tre grupper utifrån färgningsmönster, men där kunde inte mönstret kopplas till varken överlevnad eller recidivrisk (Kiupel et al., 2004).

Differentiera MCT från andra typer av rundcellstumörer

Hos hundar finns tre undergrupper av mastceller, baserat på granulainnehåll: de som innehåller enbart tryptas, respektive enbart chymase samt en tredje grupp med både tryptas och chymase, vilken är den vanligaste typen i hundens hud. Dessutom innehåller granula serotonin, men det är inte mastcellspecifikt så som tryptas och chymase är (Kube, P., 1998). I en studie av Fernandez et al. (2005) användes snitt från 72 olika kutana rundcellstumörer från hund i ett försök där olika immunohistokemiska och histokemiska färgningar skulle utvärderas för att differentiera mellan olika typer av rundcellstumörer. 21 av tumörerna var histologiskt diagnostiserade som mastcelltumörer, varav 7 stycken vardera av grad I, II och III enligt Patnaiks graderingssystem. En panel av olika monoklonala antikroppar valdes, och till mastcelltumörerna användes sådana som kände igen tryptas, chymase samt serotonin och

dessutom testades en histokemisk färgning för chymaseaktivitet samt toluidineblått. Chymase IHC och serotonin IHC färgade ej mastcellerna tillfredsställande och utvärderades ej vidare. 17 av de 21 tumörerna (80,9%) färgades på ett sätt som var karakteristiskt för mastcelltumörer. 7/7 (100%) av tumörerna av grad I, 6/7 (85,7%) av grad II och 3/7 (42,9%) av grad III, det vill säga totalt 16/21 (76%), var positiva för både chymaseaktivitet och tryptasantigen. Det var samma tumörer som var positiva för de båda färgerna. 17/21 var positiva för toluidineblått. En tumör (histologiskt grad III MCT) var positiv för toluidineblått trots att den var negativ för chymaseaktivitet och tryptaseantigen. Inga andra rundcellstumörer var positiva för chymaseaktivitet och tryptasantigen vilket stärker teorin om deras mastcellsspecificitet (Fernandez et al., 2005).

Subkutana mastcelltumörer

I två studier (Newman et al., 2007; Thompson et al., 2011) studerades subkutana mastcelltumörer som en egen typ, istället för som kutana MCT av högre grad.

I den första studien (Newman et al., 2007) valdes 53 hundar med primära subkutana mastcelltumörer ut. Tumörerna var begränsade till den subkutana fettvävnaden, utan involvering av dermis och skilde sig därför från neoplasier med dermalt ursprung som infiltrerar subkutan vävnad. Neoplasierna kändes utifrån som avgränsade, mjuka, subkutana strukturer av liknande typ som benigna lipom. Trots att 66% (35/53) av tumörerna inte var borttagna med rena marginaler så var det bara 9% (5/53) av hundarna som fick återkommande tumörer (uppföljningstiden var i medel 459 dagar). 6% (3/53) av hundarna utvecklade metastaser efter operationen. Olika parametrar jämfördes för att kunna gradera även de subkutana tumörerna, men skillnaderna var så små att författarna ansåg det onödigt. Resultaten från studien tyder på att de här tumörerna har bättre prognos än dermala MCT av högre grad och borde därför diagnosticeras som en egen typ.

I den andra studien (Thompson et al., 2011) valdes 306 hundar med subkutana mastcelltumörer ut. 27 (9%) av dem dog under studiens gång till följd av en mastcellsrelaterad sjukdom (uppföljningstiden var i medel 848 dagar). 171 (56%) av tumörerna togs bort med ofullständiga marginaler och trots det så återkom de lokalt hos endast 24 hundar (8%) och på andra delar av kroppen hos 35 hundar (11%). Metastaser (i lokala lymfknutor och inre organ) förekom hos 13 hundar (4%). Ett samband sågs mellan minskad överlevnadstid och antal mitoser, infiltrativ växt samt multinukleära celler. Antal mitoser hade även en koppling till lokalt återkommande tumörer och metastaser, men däremot inte till uppkomst av tumörer på andra delar av kroppen. Författarna drog slutsatsen att subkutana mastcelltumörer inte automatiskt ska klassificeras som kutana MCT samt att majoriteten av dem inte är aggressiva och har bra prognos.

DISKUSSION

Mastcelltumörer har väldigt varierande malignitet och många studier har gjorts för att hitta metoder som korrekt förutsäger prognosen. Den idag mest använda metoden är histologisk gradering enligt ett system med tre grader (grad I är väl, grad II intermediära, och grad III lågt differentierade tumörer) som Patnaik et al. (1984) tog fram. Studier har dock gjorts som visar på en stor diskrepans mellan olika patologers gradering av samma tumörer vilket gör att

prognosen blir mer osäker. (Northrup et al., 2005; Kiupel et al., 2011) Överensstämmelsen är relativt stor (75%) vad gäller MCT grad III (Kiupel et al., 2011) och den är kopplad till en signifikant kortare överlevnadstid jämfört med tumörer av histologisk grad I eller II (Patnaik et al., 1984; Simoes et al., 1994). Kiupel et al. (2011) kunde, till skillnad från Patnaik et al. (1984), inte se någon signifikant skillnad i överlevnad mellan hundar med MCT grad I och II. Dessutom tenderade patologerna i studien (Kiupel et al., 2011) att gradera gränsfall mellan grad I och II som grad II, som enligt Patnaik et al. (1984) har nära 50% överlevnad, vilket ger diagnosen väldigt låg klinisk relevans.

Kiupel et al. (2011) föreslog och testade ett nytt system där MCT istället delades in i låg- och höggradiga tumörer och kunde då påvisa en markant ökad samstämmighet mellan patologernas diagnoser. De såg även en signifikant korrelation mellan höggradiga MCT och en ökad mortalitet samt fler recidiv. Det 2-gradiga systemet är dock bara testat med en mycket liten grupp patologer (6 stycken) och är därför i behov av vidare utvärdering för att säkerställa sambanden. En tänkbar nackdel med det föreslagna nya systemet är att låggradiga MCT får en mer varierande prognos än nuvarande grad I om de mer maligna tumörerna inte korrekt klassificeras som höggradiga.

Preziosi et al. (2007) utvärderade de olika parametrarna i Patnaiks system individuellt och undersökte även betydelsen av antalet eosinofiler och multipla tumörer. De fann att invasivitet, multipla tumörer och antalet mitoser var de viktigaste markörerna för prognosen (recidiv och överlevnad). Det var dock bara fyra hundar av 32 som hade multipla tumörer så det kan tyckas något förhastat att dra för stora slutsatser om dess betydelse. Även Simoes et al. (1994) såg ett samband mellan antal mitoser och recidivrisk, men däremot inte med metastasrisken. Till skillnad från Preziosi et al. (2007) kunde de dock inte finna någon korrelation mellan invasivitet och recidiv. En möjlig anledning till att olika studier uppvisar olika resultat kan vara att det i en del av dem enbart ingår MCT som tagits bort med rena marginaler, medan det i andra antingen ingår även MCT med ofullständiga marginaler eller med okänd marginalstatus.

Andra metoder som undersökts på senare tid, och funnits relevanta för prognosen, är PCNA- och AgNOR-märkning (Simoes et al., 1994) och KIT-färgningsmönster (Kiupel et al., 2004). Tryptasantigen studerades av Kiupel et al. (2004) och Fernandez et al. (2005) med motsägande resultat. Lågt differentierade MCT har mindre och otydligare granula än högt differentierade, vilket gör teorin om att de skulle färgas olika av en tryptasfärgning rimlig. I studien av Kiupel et al. (2004) undersöktes tryptasantigenfärgning i 98 MCT och avfärdades sedan som en dålig diagnosmetod, medan det i studien av Fernandez et al. (2005) bara ingick 21 MCT, vilket borde göra att den första studien väger tyngre. Det som ändå talar för att tryptasfärgning skulle vara relevant är att samma 16/21 tumörer färgades av både tryptas, chymase och toluidineblått på ett sätt som är karakteristiskt för MCT. Knappt 20% av de MCT som ingick i studien (Fernandez et al., 2005) färgades dock inte som förväntat och däri skulle möjligen förklaringen kunna finnas till att Kiupel et al. (2004) fick motsägande resultat i sin studie. Fler undersökningar bör göras för att utröna varför vissa tumörer som histologiskt klassificerats som MCT inte färgas som förväntat med tryptasantigen. Kan förklaringen vara

så enkel som att färgningen utförts felaktigt eller att fel histologisk diagnos ställts på dessa tumörer?

Studierna (Newman et al., 2007; Thompson et al., 2011) om subkutana MCT som en egen grupp, utan dermalt ursprung är intressant både för att de tycks ha bättre prognos än kutana MCT med infiltration av subkutan vävnad, men även för att de kan misstas för benigna lipom om provtagning ej sker. Det torde även finnas en risk att resultaten i studier där MCT graderats enligt Patnaiks system är felaktiga på grund av att subkutana tumörer misstolkats som kutana MCT av grad II. Det skulle kunna vara en av förklaringarna till att vissa studier, till exempel Kiupel et al. (2011), inte kunnat påvisa någon skillnad i överlevnad och/eller recidivförekomst mellan MCT grad I och II.

Dagens 3-gradiga histologiska diagnosmetod har en styrka i att den är välbeprövad och relativt bra klarar att förutsäga prognosen för MCT grad I och III, medan den inte fungerar så väl för intermediärt differentierade MCT. En svaghet med systemet är att det bygger på en subjektiv bedömning av en rad olika parametrar vilket visat sig ge stora variationer mellan olika patologers gradering av samma MCT. Det nuvarande systemet bör omarbetas för att öka relevansen av en grad II-diagnos och även för att få en gradering som blir lika oavsett vem som gör den. Det tidigare föreslagna 2-gradiga systemet kan vara ett alternativ om det först studeras och utvärderas mer. Oavsett om ett 2- eller 3-gradigt histologiskt graderingssystem används så bör det kombineras med andra diagnosmetoder. Flera immunohistokemiska och histokemiska metoder har studerats och diskuterats och flera av dem har uppvisat lovande resultat. Mer forskning på dessa alternativa diagnosmetoder bör göras för att sedan välja en eller ett par som komplement till 2- eller 3-gradig histologisk gradering.

REFERENSER

- Bravo, R., Frank, R., Blundell, P.A. & Macdonald-Bravo, H. (1987). Cyclin/PCNA is the auxiliary protein of DNA polymerase-delta. *Nature*, 326, 515-517.
- Couto, C.G. (2009). Selected neoplasms in dogs and cats. Mast cell tumors in dogs. I: R.W. Nelson, & C.G. Couto, eds. *Small animal internal medicine*. St. Louis. Mosby. sid. 1200-1203.
- Fernandez, N.J., West, K.H., Jackson, M.L. & Kidney, B.A. (2005). Immunohistochemical and histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. *Veterinary Pathology*, 42, 437-445.
- Kiupel, M., Webster, J.D., Kaneene, J.B., Miller, R. & Yuzbasiyan-Gurkan, V. (2004). The use of KIT and tryptase expression patterns as prognostic tools for canine cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 41, 371-377.
- Kiupel, M., Webster, J.D., Bailey, K.L., Best, S., DeLay, J., Detrisac, C.J., Fitzgerald, S.D., Gamble, D., Ginn, P.E., Goldschmidt, M.H., Hendrick, M.J., Howerth, E.W., Janovitz, E.B., Langohr, I., Lenz, S.D., Lipscomb, T.P., Miller, M.A., Misdorp, W., Moroff, S., Mullaney, T.P., Neyens, I., O'Toole, D., Ramos-Vara, J., Scase, T.J., Schulman, F.Y., Sledge, D., Smedley, R.C., Smith, K., Snyder, P.W., Southorn, E., Stedman, N.L., Steficek, B.A., Stromberg, P.C., Valli, V.E., Weisbrode, S.E., Yager, J., Heller, J. & Miller, R. (2011). Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary Pathology*, 48, 147-155.
- Kube, P., Audigé, L., Küther, K. & Welle, M. (1998). Distribution, density and heterogeneity of canine mast cells and influence of fixation techniques. *Histochemistry and Cell Biology*, 110, 129-135.
- Ma, Y., Longley, B.J., Wanf, X., Blount, J.L., Langley, K. & Caughey, G.H. (1999). Clustering of activating mutations in *c-KIT*'s juxtamembrane coding region in canine mast cell neoplasms. *Journal of Investigative Dermatology*, 112, 165-170.
- Macy, D.W. & MacEwen, E.G. (1989). Mast cell tumors. I: S.J. Withrow, & E.G. MacEwen, eds. *Clinical veterinary oncology*. Philadelphia. J.B. Lippincott Company. sid. 156-166.
- Newman, S.J., Mrkonjich, L., Walker, K.K. & Rohrbach, B.W. (2007). Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. *Journal of Comparative Pathology*, 136, 231-239.
- Northrup, N.C., Howerth, E.W., Harmon, B.G., Brown, C.A., Carmicheal, K.P., Garcia, A.P., Latimer, K.S., Munday, J.S., Rakich, P.M., Richey, L.J., Stedman, N.L. & Gieger, T.L. (2005). Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17, 561-564.
- Patnaik, A.K., Ehler, W.J. & MacEwan, E.G. (1984). Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary Pathology*, 21, 469-474.
- Preziosi, R., Sarli, G. & Paltrinieri, M. (2007). Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine cutaneous mast cell tumours. *Veterinary Research Communications*, 31, 287-296.
- Simoes, J.P.C., Schoning, P. & Butine, M. (1994). Prognosis of canine mast cell tumors: a comparison of three methods. *Veterinary Pathology*, 31, 637-647.
- Thamm, D.H. & Vail, D.M. (2001). Mast cell tumors. I: S.J. Withrow, & E.G. MacEwen, eds. *Small animal clinical oncology*. Philadelphia. W.B. Saunders Company. sid. 261-282.

Thompson, J.J., Pearl, D.L., Yager, J.A., Best, S.J., Coomber, B.L. & Foster, R.A. (2011). Canine subcutaneous mast cell tumor: characterization and prognostic indices. *Veterinary Pathology*, 48, 156-168.

Tsai, M., Takeishi, T., Thompson, H., Langley, K.E., Zsebo, K.M., Metcalfe, D.D., Geissler, E.N. & Galli, S.J. (1991). Induction of mast cell proliferation, maturation, and heparin synthesis by the rat c-kit ligand, stem cell factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88, 6382-6386.

Yarden, Y., Kuang, W-J., Yang-Feng, T., Coussens, L., Munemitsu, S., Dull, T.J., Chen, E., Schlessinger, J., Francke, U. & Ullrich, A. (1987). Human proto-oncogene *c-kit*: a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *The EMBO Journal*, 6, 3341-3351.