



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Orsaker till osteosarkom hos hund

Ida Victorsson

Självständigt arbete i veterinärmedicin, 15 hp

Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 28

Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Uppsala 2012



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap

Orsaker till osteosarkom hos hund

Causes of osteosarcoma in dogs

Ida Victorsson

Handledare:

Eva Hellmén, 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: 2012

Omslagsbild: -

Serienamn, delnr: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen Nr. 2012: 28
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, SLU

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

Nyckelord: Rb, retinoblastom, hund, osteosarkom, p53, ärflighet

Key words: Rb, retinoblastoma, dog, inheritability, osteosarcoma, p53

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

SAMMANFATTNING.....	2
SUMMARY.....	2
INLEDNING.....	3
MATERIAL OCH METODER	4
LITTERATURÖVERSIKT	4
<i>Ärftlighet.....</i>	<i>4</i>
<i>Tumörsuppressorgener och cancer.....</i>	<i>6</i>
<i>p53.....</i>	<i>6</i>
<i>Retinoblastom.....</i>	<i>8</i>
DISKUSSION	9
LITTERATURFÖRTECKNING	12

SAMMANFATTNING

Osteosarkom, (OS) är hundens vanligaste primära bentumör. Appendikulärt OS förekommer oftare än axialt, med långa rörbenens metafysregion som predilektionställe. Etiologin bakom tumören är ännu okänd men flertalet riskfaktorer som t ex. ålder och storlek har identifierats. Det är framförallt stora och äldre hundar som drabbas. Vissa raser som t ex. rottweiler och grand danois har visat en högre prevalens, och detta har bidragit till studier på om OS är ärftligt.

OS hos människa och hund har mycket gemensamt, som t ex. predilektionsställen, malignitet och metastasförmåga. Även genetiska förändringar har visat stora likheter mellan arterna och detta har gjort hunden till ett modelldjur för forskning på OS.

Tumörbildning beror i många fall på förändringar av tumörsuppressorgener som *p53* och retinoblastom, *Rb*. Dessa gener skall normalt skydda kroppen från förändrade celler genom att hindra mitos för att kunna reparera skadan, eller försätta alltför skadade celler i apoptos. Förändringar på tumörsuppressor- och onkogener spelar en central roll i tumörgenes. OS har visat sig innehålla återkommande förändringar av dessa gener hos både människa och hund. Det är dock ännu oklart exakt hur dessa förändringar påverkar initiering, utveckling, och prognos av tumörformen.

SUMMARY

Osteosarcoma, (OS) is the most common malignant bone tumour in dogs. OS occurs more frequently in the appendicular skeleton than the axial, and predilection site is the metaphyseal region of long bones.

The aetiology behind OS is still unknown but several risk factors have been identified, such as age and body size. Mainly old, large and giant dogs are affected and some breeds like Rottweiler and Grand danois show an increased susceptibility. This higher prevalence among certain breeds has contributed to studies on inheritability of OS.

OS in men and dogs share similarities such as predilection sites, malignancy and tendency to metastasize. There are also genetic alterations in patients with OS that has shown similar features in these two species, and it has made the dog to an osteosarcoma research model.

Tumour genesis is often due to alterations of tumour suppressor genes like *p53* and retinoblastoma, *Rb*. These genes are normally protecting the body from altered cells by

inhibiting mitosis, either for cell reparation or to induce apoptosis. Changes in tumour suppressor- and oncogenes have a central role in tumour genesis. OS has shown to exhibit recurrent alterations of these genes in both men and dog. Still it remains unknown how these changes in detail are affecting initiation, progression and prognosis of this tumour.

INLEDNING

Osteosarkom, (OS) är hundens vanligaste primära, maligna bentumör, och utgör 75-85 % av de primära benneoplasierna (Chun & de Lorimier, 2003). Tumören utgår från mesenkymala stamceller som har eller kan börja producera osteoid. OS är en aggressiv tumör som främst drabbar de långa rörbenens metafysregion, hos stora och tunga raser. Upp till 75 % av alla OS drabbar det appendikulära skelettet. Framben drabbas oftare än bakben, med distala radius och proximala humerus som predilektionsställen. Appendikulärt OS hos hund metastaserar ofta till lungorna innan den primära tumören har upptäckts (Loukopoulos et al., 2003). Åldersfördelningen av drabbade hundar är bimodal. Främst drabbas medelålders hundar i 7års åldern, samt en mindre andel yngre individer mellan 18-24 månader (Mueller et al., 2007). Hundar med OS kommer in för hälta, svullnad av extremiteter och i vissa fall patologiska frakturer (Phillips et al., 2007).

OS hos människor är inte vanligt, men ofta allvarligt då 30-40 % av de drabbade personerna fortfarande avlider. Hundar drabbas oftare än människor. Sjukdomen hos dessa två arter delar många likheter, som predilektionsställen, malignitet och förmåga att bilda lungmetastaser (Ru et al., 1998). Även på molekylär och genetisk nivå finns många likheter (Kirpensteijn et al., 2008). Andra faktorer som gör hundar intressanta för forskning på OS är att vi lever i samma miljö och liknar varandra storleksmässigt. En högre prevalens av drabbade samt en relativt kort livslängd gör hunden till ett bra modelldjur, som ger både större och billigare forskningsmaterial jämfört med studier på människa (Mueller et al., 2007).

Etiologin bakom OS är än idag okänd, men faktorer som ras, ålder, kön, höjd och vikt visar ett återkommande mönster. Däremot skiljer sig teorierna om hur viktiga dessa faktorer är för etiologin och prognos åt mellan olika studier (Phillips et al., 2007). Framförallt stora raser som Irländsk varghund, Grand danois och Rottweiler drabbas. Den tydliga predisponeringen hos vissa raser har bidragit till att stärka teorin om att det inte bara är storlek och vikt, men att även genetiska faktorer spelar en viktig roll för uppkomst och progression av tumören (Thomas et al., 2009).

Mitt syfte med uppsatsen är att belysa de genetiska predisponerande faktorerna för utveckling av osteosarkom (OS) hos hund. Målet är att studera ärftligheten hos vissa raser samt att se närmare på utvalda gener som kan ha en predisponerande effekt. De faktorer jag valt att studera närmare är tumörsuppressorgenerna *p53* och Retinoblastom, *Rb*. Dessa geners produkter skall normalt inhibera mitos och stimulera apoptos vid skada på DNA och är oftast associerade med OS på humansidan (Levine & Fleischli, 2000). När det i arbetet syftas på generna *p53* eller *Rb* används kursiv stil, och när det är deras protein som beskrivs används versaler (P53 och RB).

OS hos hund är en intressant tumör då det är hundens vanligaste primära bentumör, och har en ännu oklar etiologi. Den delar många biologiska likheter med motsvarande tumör hos människa och utgör därför en viktig källa för forskning även på humansidan.

MATERIAL OCH METODER

I sökandet efter artiklar har databasen Pub Med främst använts. Till en början söktes det endast efter review artiklar, för att få information om ämnet samt för att finna en inriktning. Sökorden som användes var bland andra ”Osteosarcoma AND dog/canine” som gav 40 träffar totalt, varav några få valdes ut. När ämne och frågeställning var bestämt gjordes en mer specificerad sökning, och sökord som t ex ”osteosarcoma AND p53 AND dogs” och ”Osteosarcoma AND p53 OR Rb” användes. Även kursboken i speciell patologi samt internet har använts i mindre utsträckning för att få en översikt över begrepp eller termer.

LITTERATURÖVERSIKT

Ärftlighet

Hos vissa raser som t ex skotsk hjorthund har inavel orsakat en minskad genetisk variation och ökad genetisk homogenitet inom populationen. Detta har minskat betydelsen av polygenetiska effekter, och således ökat riskerna för effekter av dominanta gener. Vissa raser som t ex rottweiler (Thomas et al., 2009) och skotsk hjorthund (Phillips et al., 2007) har visat en högre incidens av spontant OS. Detta har bidragit till teorin om att sjukdomen kan vara ärftlig. I en undersökning studerades det om det finns en tydlig association mellan ras och predisponering för OS. Renrasiga hundar som drabbas oftare än andra hundar, anses vara en bra modell för att studera ärftlighet, då ett relativt homologt genom underlättar sökandet efter specifika genetiska förändringar. Teorin är att om genomet är mer homologt kan det bli lättare att finna dessa återkommande ändringar hos individer med OS, till skillnad mot att leta efter dessa hos människor som har ett mer heterogent genom (Thomas et al., 2009).

I en studie undersöktes med hjälp av en generaliserad mendelsk linjär modell ärftligheten för att utveckla OS hos skotsk hjorthund. Genom att identifiera olika riskfaktorer kunde ett tydligt mönster av nedärvning ses. Studien visade att det är troligt att en dominant högrisk-allel kan nedärvas inom populationen och orsaka OS (Phillips et al., 2007).

Thomas et al., (2009) undersökte ras-relaterade cytogeniska förändringar genom att studera tumörens karyotyp. Karyotypen beskriver individens samling av kromosomer. Det är möjligt att studera karyotypen för att undersöka förändringar på kromosomantal och/eller struktur. I normala fall har en hund 39 par kromosomer, varav 38 par är akrocentriska autosomer och 2 är metacentriska könskromosomer. Forskarna visade att numeriska kromosomavvikelser var vanligt hos hundar med OS. Detta antogs vara en OS-associerad defekt, som kan orsaka initiering och progression av cancer. Med olika tekniker kunde det visas att appendikulärt OS hos hund innehöll både numeriska och strukturella kromosomförändringar som var återkommande och skiljde sig åt mellan olika raser. I studien som gjordes var det t ex endast rottweiler som hade en deletion av tumörsuppressorgenerna *w1*, *p53* och *cdkn2a*, vilket kan tyda på att särskilda loci hos vissa raser bär på en ärftlig känslighet. 76 % av alla rottweilers hade deletioner av minst 1 av tumörsuppressorgenerna *w1*, *cdkn2a*, *p53*, *PTEN* och *Rb*. Samtidigt som detta visar hur viktiga dessa gener är för överlevnad, progression och metastasförmåga för tumören, visar det också att en stor andel drabbas av andra orsaker. Prevalens och sjukdomsförlopp skiljde sig också åt mellan raserna. Detta kan innebära att en individuell genetisk bakgrund, likt inom en viss ras kan vara betydande gällande predisponering och prognos.

Karyotypiska förändringar som påvisats hos hundar med OS innebär troligtvis en påverkan av balansen mellan tumörsuppressorgener som *p53* och *Rb*, samt onkogener (Thomas et al., 2009). Forskare har hittills konstaterat att förändringar på tumörsuppressorgenerna *p53* samt *Rb* är centrala för etiologin av OS hos både djur och människor. Man har däremot inte kunnat förklara exakt hur dessa faktorer påverkar induktion och progression av tumören (Gorlick & Khanna, 2010).

Ärftlighet och prevalens har även studerats hos greyhound. I undersökningen jämfördes antalet hundar med OS hos tre olika raser jämfört med blandraser. En återkommande stress och belastning av de långa rörbenen som kapplöpningshundar utsätts för kan vara en anledning till att Greyhound är en överrepresenterad ras. Forskningen visade att prevalensen var i fallande ordning högst hos greyhounds följt av rottweilers och därefter grand danois. Alla dessa raser visade sig drabbas betydligt oftare än blandraser (Rosenberger et al., 2007).

Tumörsuppressorgener och cancer

Det är ännu oklart vilka faktorer som krävs för att OS skall uppstå. Dock verkar det vara en tumör med en multikomplex etiologi som omfattar flera olika genetiska riskfaktorer. Dessa kan grupperas in i två olika kategorier; de gener eller genfamiljer som påverkar tillväxt och proliferation, samt de som inte lyckas reparera skadat DNA och leder till förlorad cellcykelkontroll. Förändrad tillväxt eller hämmad apoptos är inte på något sätt unikt för OS, och de tumörsuppressor- och onkogener som associeras med tumörer är även påverkade i de flesta andra cancertyper (Gorlick & Khanna, 2010).

p53

Omvandling från normalt ben till tumör orsakas med stor sannolikhet av molekylära förändringar av tumörsuppressor gener. *p53* skyddar kroppens celler mot mutationer, genom att koda för ett protein med en tumörsuppressor funktion (Loukopoulos et al., 2003). *P53* visar på ökat uttryck vid en DNA skada (Sagartz et al., 1996a). Om en skada på DNA sker under normala förhållanden, skickas signaler ut som får *p53* att interagera med *p21^{WAF1/CIP1}* som är en cyklin beroende kinashämmare. Detta leder till att tumörsuppressorgen *Rb* inte kan hyperfosforeras, och cellens mitos försätts i arrest vid kontrollpunkten G1. Detta ger tid för reparation av DNA, men om skadan är för stor för att repareras, inducerar istället *p53* apoptos av cellen (Chun & de Lorimier, 2003). Om *p53* saknas, är skadad eller uttrycker ett förändrat protein, leder detta till att förändrade celler lättare kan proliferera och bilda neoplastiska kloner (Loukopoulos et al., 2003).

p53 har bevarats genom evolutionen och visar stor homologi mellan olika arter. *p53* är också den gen som oftast visar alterationer hos tumörer på humansidan (Loukopoulos et al., 2003). Då mutationer på *p53* har visat sig vara vanliga även hos hundar med OS, har detta studerats för att undersöka om det kan användas prognostiskt. Hos hund har tidigare studier visat att *p53*mutationer varierat mellan 24-47 % av patienterna. De visade sig vara nästintill identiska med de som funnits hos människa med samma diagnos, dvs. inom de väl bevarade regionerna på exon 4-8 (Johnson et al., 1998). Procentantalet med alterationer på *p53* kan dock vara högre än så då man bara undersökte en del av genomet samt att undersökningsmaterialet var relativt litet. I en senare studie undersöktes hela genomet för mutationer, och inte bara de inom exon 4-8. Då påvisades som väntat en liten ökning av mutationer (40,7 %), men de flesta fanns fortfarande inom exon 4-8. Hundar med mutationer på *p53* visade sig även vara de med lägst antal överlevnadsdygn, och en generellt sett aggressivare tumörtyp (Kirpensteijn et al., 2008).

Immunohistokemi, IHC används ofta som ett komplement till histopatologi vid diagnostisering av tumörer. Metoden är användbar för att kunna detektera antigena cellstrukturer eller proteiner i vävnadssnitt. IHC är en process med flera steg och många olika komponenter. Metoden kan varieras med många olika antikroppar och enzym. För att kontrollera resultaten och minimera risken för felaktiga sådana används positiva och negativa kontroller. Principen för detektion är att ett enzym binds till sekundära antikroppar. Om dessa binder till en primär antikropp på ett specifikt antigen, katalyserar enzymet en reaktion i en kromogen som fälls ut och blir detekterbar (Loukopoulos et al., 2003).

Ett ökat uttryck av *p53* kan mätas med IHC. Under normala förhållanden finns en liten mängd vild-typ P53 i alla celler, men med en kort halveringstid som gör det svårt att upptäcka. Om det har skett en förändring, t ex en mutation eller komplexformationer mellan virala eller endogena proteiner, kan detta resultera i ett mer stabilt protein med en kraftigt (10-20 gånger) ökad halveringstid. Den ökade halveringstiden leder till en ackumulation och ett ökat uttryck i cellen. Detektion med IHC indikerar därför en förändring av *p53*genen eller dess produkt (Loukopoulos et al., 2003).

Resultatet av IHC graderas utifrån hur infärgningen fixeras och med vilken intensitet, detta uttrycks som ett *p53*index. *p53*index visade sig vara betydligt högre i OS jämfört med andra tumörer som t ex kondrosarkom eller benigna tumörer (Loukopoulos et al., 2003). *p53*index var även högst på de ställen där OS främst angriper, dvs. det appendikulära framför det axiala (Sagartz et al., 1996a) samt distala framför proximala skelettet (Loukopoulos et al., 2003). En anledning till att OS oftast ses på angivna predilektionsställen tros vara ökad belastning på dessa delar (Rosenberger et al., 2007).

IHC kan användas för att finna ett samband mellan patologiska parametrar för OS, som t. ex vart tumören sitter, mitotiskt index samt pleomorfism och IHC uttryck. Loukopoulos et al., (2003) undersökte tumörers mitotiska index, som är antal mitoser inom en viss yta, samt nukleär pleomorfism. De tumörer som hade högst mitotiskt index och påvisade nukleär pleomorfism var också de som visade högst *p53*index. Detta betyder att både alterationer av *p53* samt ökat uttryck av dess protein kan vara av prognostiskt värde hos individer med OS, då båda har indikerat en mer aggressiv tumörtyp, en sämre prognos samt färre överlevnadsdygn (Kirpensteijn et al., 2008).

Loukopoulos et al., (2003) visade också att det kan finnas ett samband mellan *p53*index i OS gällande malignitet, lokalisering av tumören samt skillnader mellan olika raser. De såg att

rottweilers hade ett generellt högre *p53*index än de andra raser som ingick i studien, t ex grand danois.

I en undersökning konstaterade författarna ett ökat uttryck av *p53* i 84 % av appendikulära- och endast 56 % av axiala OS. Därför anses ett ökat uttryck av *p53* i appendikulärt OS kunna vara en viktig indikation för hur tumören utvecklar sig, då hundar med appendikulärt OS har färre överlevnadsdygn och en generellt sämre prognos jämfört med de som har axiellt OS (Sagartz et al., 1996a).

Retinoblastom

Rb är en tumörsuppressorgen som likt *p53* har en viktig kontrollfunktion vid celledelning (M. Donald McGavin & James F. Zachary, 2007). *Rb* är en familj av tumörsuppressorgener och består av *Rb*, *p107* och *p130* (Levine & Fleischli, 2000). *Rb* är mest aktiv i mitosens G₁fas och dess funktion är att kontrollera tillgänglighet samt aktivitet av transkriptionsfaktorer, som E2F, en negativ regulator av *p53*. Vid skada på *Rb* kan E2F aktiveras oreglerat och leda till att *p53* hämmas och förlorar sin funktion (Chun & de Lorimier, 2003). Då *Rb* fosforyleras inaktiveras den tillväxthämmande aktiviteten, och cellen kan fortsätta över till S-fas (Weinberg, 1995). Vid skada på DNA inducerar den aktiverade *p53* transkription av *mdm2* som har en negativ verkan på P53-proteinstabilitet, samt *p21* som i sin tur hindrar *Rb* från att fosforyleras (Levine & Fleischli, 2000). Om *Rb* förlorar sin funktion saknar cellen ett viktigt skydd mot ohämmad celledelning (Weinberg, 1995). Hos människor orsakar mutationer på *Rb* bara retinoblastom och OS (CW et al., 1996). Retinoblastom är dock inte en vanlig tumör hos hund. Man tror att anledningen till att bara dessa tumörer bildas kan vara att *Rb* endast inhiberar mitos i specifika cellinjer som retinoblaster och osteoblaster, och/eller endast under vissa utvecklingsstadier (PA et al., 1993).

Tumörer som saknar funktionella *p53* och *Rb* har visat sig vara mer resistent mot apoptos och det är troligt att de även ackumulerar ytterligare mutationer som driver tumörprogressionen framåt. I en undersökning som gjordes på möss konstaterades att inaktivering av *p53* hade en nyckelroll i utvecklingen av OS och att processen ytterligare accelererades vid förändringar på *Rb* (Thomas et al., 2009).

Som tidigare nämnts har ett ökat uttryck av P53 och mutationer på dess gen vid OS hos hund påvisats. Det har även konstaterats att förändringar av specifika *Rb*-fragment hittats, som inte har kunnat påvisas hos friska kontrollfall. Inaktivering av *p53* och *Rb* har således antagits vara en viktig bidragande faktor i utvecklingen av OS. Det är dock oklart om en direkt skada på *Rb*

har en lika viktig funktion för utvecklingen av OS hos hund, som den har hos människa. Cellinjer från hundar med OS har istället visat sig innehålla mutationer som indirekt inaktiverar alla tre medlemmarna av *Rb* familjen, *Rb*, *p107* och *p130* (Levine & Fleischli, 2000). Detta betyder att det kan finnas många gener som kan påverka tumörsuppressoren *Rb* och inaktivera alla tre medlemmarna även om man inte alltid kan se en direkt förändring på genomet (Thomas et al., 2009).

DISKUSSION

Vad är då orsaken till att OS drabbar främst stora hundar inom vissa raser? Finns det en specifik etiologi som kan förklara uppkomsten för tumören hos alla individer, eller finns det många anledningar och orsaker? Mutagena effekter pga. strålning, mindre trauma i samband med implantat och genetiska förändringar har associerats med uppkomsten av OS (Mueller et al., 2007). Även ålder, höjd, vikt och ras, samt kön och könsstatus visar ett återkommande mönster (Ru et al., 1998). Dock är ännu förklaringen till initiering och progression av tumören odefinierad (Gorlick & Khanna, 2010).

En högre prevalens inom vissa raser, samt att blandraser inte drabbas lika ofta, har lett till teorin om att OS kan vara ärftligt. Flera studier har gjorts inom detta område. Raser som visat sig vara speciellt predisponerade är som tidigare nämnt greyhound, rottweiler och grand danois. Dessa tre raser är stora hundar vars skelett troligen utsätts för extra belastning jämfört med små och lätta raser. En anledning till att man först på senare år börjat se en ökande prevalens hos greyhound kan vara att pensionerade kapplöpningshundar i allt större utsträckning adopteras och blir sällskapsdjur. Greyhounds har ofta utsatts för stor belastning vid träning och kapplöpning. Detta kan ge mikrofrakturer som bidrar till initiering av OS. Då prevalensen för OS hos Greyhound undersöktes, hade alla hundar någon gång tränats eller tävlat. Detta gjorde att det inte gick att säga om de som utsatts för extra belastning drabbades oftare än de som inte gjort det (Rosenberger et al., 2007).

Ras-associerade genomiska förändringar har även hittats genom att studera karyotypiska förändringar. Tydliga skillnader sågs gällande numeriska förändringar emellan raserna, vilket styrker teorin om ärftlighet. Viss andel av dessa förändringar skulle dock kunna förklaras med att vara vanligt förekommande generella defekter, som bidrar till initiering och progression av tumörer (Thomas et al., 2009).

OS hos hund och människa har många likheter som gör hunden till ett möjligt modelldjur (Mueller et al., 2007). Trots likheterna finns det också skillnader. De största skillnaderna

mellan arterna är ålder vid uppkomst av tumören och incidens, då hundar drabbas oftare än människor och tumörprogressionen har ett relativt snabbt förlopp (Gorlick & Khanna, 2010).

Kan alterationer på *p53* och *Rb* användas prognostiskt? Ännu har ingen specifik orsak hittats som säkert kan förklara uppkomsten av OS (Gorlick & Khanna, 2010). Frekvensen av *p53* mutationer vid OS skiljer sig enligt vissa studier åt mellan människa och hund, då människor oftare har mutationer på *p53* än hundar (Kirpensteijn et al., 2008). Detta kan betyda att mutationer på *p53* är en viktigare indikator för uppkomst och utveckling av tumören hos människa än hos hund. Hundar kan drabbas av OS utan att det går att se mutationer på *p53* och *Rb*, samtidigt som faktiska förändringar på *p53*, tycks kunna säga något om hur tumören kommer att utvecklas, då ett ökat uttryck av genen visat korrelationer med malignitet och lokalisation etc. (Sagartz et al., 1996b).

Vad orsakar då OS hos de hundar där man inte kunnat påvisa förändringar på *p53* och *Rb*? Ännu har ingen OS-specifik genetisk förändring kunnat identifieras, vilket tyder på att orsaken är en defekt i någon basal process, som cell-proliferation och reparation (Gorlick & Khanna, 2010). *p53* och *Rb* är ju inte heller de enda gener som kan initiera cancer vid skada. Fler tumörsuppressorer (PTEN och RECQ helikaser) - samt onko-gener (c-myc, c-fos, MET, SAS och GLI) har associerats med OS hos människa, men ännu har inte alla undersökts hos hund. Även Insulin like growth factor-1, (IGF-1) och IGF bindande proteiner (IGFBPs), som har en viktig roll i regleringen av osteoblaster, är möjliga bidragande faktorer (Mueller et al., 2007).

Jag tror att förändringar på både *p53* och *Rb* generna och/eller deras funktion är centrala för uppkomsten av OS hos både människor och djur, då detta har påvisats i flertalet studier. Jag tror också att det finns fler orsaker till uppkomsten av OS, som t ex. andra gener, eller att flera gener och dess produkter interagerar med varandra och påverkas, som t ex. *p53* och *Rb* gör. Det skulle även kunna vara en kombination av belastning av skelettet hos stora hundar, inavel som ökat effekten av dominant gener samt nedärvning av vissa loci som är extra känsliga för mutationer. Mer kunskap om hur *p53* inaktiveras och nedärvs skulle eventuellt kunna användas för att ge kunskap om förebyggande avel hos predisponerade raser.

Det går ännu inte att förklara exakt hur *p53* och *Rb* påverkar initiering och progression hos tumören, men hoppet om att finna svaret på gåtan läggs på de nya metoder och tekniker som är under utveckling. Under 80- och 90-talet fanns endast cell-linjer att tillgå. Under sent 90-tal skapades en nationell OS-vävnadsbank som idag innehåller en stor mängd material att

använda för forskning. Nya tekniker gör det möjligt att utföra mer omfattande studier av tumörvävnad som t ex sekvensering av tumörers genom. Denna teknik förväntas kunna påvisa återkommande mutationer och alterationer som kan bidra till en lösning. Om det blir så får framtida resultat visa (Gorlick & Khanna, 2010).

LITTERATURFÖRTECKNING

- Chun, R. & de Lorimier, L. P. (2003). Update on the biology and management of canine osteosarcoma. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 33, 491-516, vi
- CW, M., A, A., A, W., M, T., B, L. & HP, K. (1996). Alterations of the p53, Rb and MDM2 genes in osteosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncology*, 559-565
- Gorlick, R. & Khanna, C. (2010). Osteosarcoma. *J Bone Miner Res*, 25, 683-91
- Johnson, A. S., Couto, C. G. & Weghorst, C. M. (1998). Mutation of the p53 tumor suppressor gene in spontaneously occurring osteosarcomas of the dog. *Carcinogenesis*, 19, 213-7
- Kirpensteijn, J., Kik, M., Teske, E. & Rutteman, G. R. (2008). TP53 gene mutations in canine osteosarcoma. *Vet Surg*, 37, 454-60
- Levine, R. A. & Fleischli, M. A. (2000). Inactivation of p53 and retinoblastoma family pathways in canine osteosarcoma cell lines. *Vet Pathol*, 37, 54-61
- Loukopoulos, P., Thornton, J. R. & Robinson, W. F. (2003). Clinical and pathologic relevance of p53 index in canine osseous tumors. *Vet Pathol*, 40, 237-48
- M. Donald McGavin, M., Phd, FACVSc & James F. Zachary, D., Phd. (2007). Pathologic basis of veterinary disease. St. Louis, Missouri: Mosby elsevier. 291-292
- Mueller, F., Fuchs, B. & Kaser-Hotz, B. (2007). Comparative biology of human and canine osteosarcoma. *Anticancer Res*, 27, 155-64
- PA, H., RA, P., M, M. & BL, G. (1993). Speculations on the roles of RB1 in tissue-specific differentiation, tumor initiation, and tumor progression. 846-54
- Phillips, J. C., Stephenson, B., Hauck, M. & Dillberger, J. (2007). Heritability and segregation analysis of osteosarcoma in the Scottish deerhound. *Genomics*, 90, 354-63
- Rosenberger, J. A., Pablo, N. V. & Crawford, P. C. (2007). Prevalence of and intrinsic risk factors for appendicular osteosarcoma in dogs: 179 cases (1996-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 231, 1076-80
- Ru, G., Terracini, B. & Glickman, L. T. (1998). Host related risk factors for canine osteosarcoma. *Vet J*, 156, 31-9
- Sagartz, J. E., Bodley, W. L., Gamblin, R. M., Couto, C. G., Tierney, L. A. & Capen, C. C. (1996a). p53 Tumor Suppressor Protein Overexpression in Osteogenic Tumors of Dogs. *Vet Pathol*,
- Sagartz, J. E., Bodley, W. L., Gamblin, R. M., Couto, C. G., Tierney, L. A. & Capen, C. C. (1996b). p53 tumor suppressor protein overexpression in osteogenic tumors of dogs. *Vet Pathol*, 33, 213-21
- Thomas, R., Wang, H. J., Tsai, P. C., Langford, C. F., Fosmire, S. P., Jubala, C. M., Getzy, D. M., Cutter, G. R., Modiano, J. F. & Breen, M. (2009). Influence of genetic background on tumor karyotypes: evidence for breed-associated cytogenetic aberrations in canine appendicular osteosarcoma. *Chromosome Res*, 17, 365-77
- Weinberg, R. A. (1995). The Retinoblastoma Protein and Cell Cycle Control. 81, 323-330