

Prognose, mitose-index en proliferatiemarkers in mastocytomen van de hond

R.J.T. van der Luer^I, E. Teske^{II}, G.R. Rutteman^{II} en
T.S.G.A.M. van den Ingh^I

.....

Voor de clinicus is het van belang te weten met welk type tumor hij te maken heeft. Deze morfologische diagnose wordt geleverd door de veterinaire patholoog met behulp van cytologie en vooral histopathologie en eventueel aanvullende (immuun)histochemische kleuringen.

Net zo belangrijk is vervolgens het zo goed mogelijk bepalen van de prognose. Onder prognose wordt echter niet altijd hetzelfde verstaan. Er is een prognose van het verloop van een ziekte zonder behandeling, en een prognose na behandeling. Het begrip prognose kan nog verder worden onderverdeeld op basis van de tijd die verloopt tussen de therapie en het optreden van recidief of metastasen, de ziektevrije periode na therapie of de overlevingstijd al of niet na een therapie. Een prognose wordt bepaald op basis van één of een aantal criteria dat varieert per tumortype. Deze criteria zijn van klinische en deels ook van pathologische aard.

MASTOCYTOMEN

Wat betreft mastocytomen van de hond is een aantal factoren van belang voor de prognose en het resultaat van de therapie, zoals het klinische stadium (staging), de locatie en de groeisnelheid. De histopathologische grading van mastocytomen is een belangrijk prognostisch criterium. Meestal wordt hiervoor gebruikgemaakt van de gradatie volgens Patnaik et al. (2) waarin de locatie in dermis en/of subcutis, cel- en kernkenmerken en het aantal mitosefiguren een rol spelen. Graad I (goed gedifferentieerde)-tumoren geven na verwijdering bijna nooit problemen, graad III (slecht gedifferentieerde)-tumoren recidiveren en metastaseren frequent. Graad II-tumoren nemen een tussenliggende positie in en vormen een groep waarbij additionele methoden om de prognose te bepalen van belang zijn. Recent is een aantal artikelen verschenen over het belang van de mitose-index (MI) en het gebruik van

proliferatiemarkers, zoals AGNOR, PCNA en Ki67, bij het vaststellen van de prognose van mastocytomen bij de hond.

Proliferatiemarkers

PCNA en Ki67 zijn beide immunohistochemische kleuringen (IHC), die gerelateerd zijn aan het aantal cellen dat zich in de cyclische fase bevindt (dus in de interfase of in de mitosefase). Het is een maat voor alle cellen die zich in de actieve groeifase bevinden (growth fraction, GF). De AGNOR is een histochemische kleuring en is een maat voor de snelheid van het doorlopen van die cyclische fase (generation time, GT). De celproliferatie en dus meestal ook de groeisnelheid van een proces zijn het resultaat van de GF in combinatie met de GT.

De PCNA- en Ki67-positieve cellen worden met behulp van de lichtmicroscop of via een digitale opname bij een vergroting van honderd tot vierhonderd maal geteld in een vaststaand aantal tumorcellen of in een vaststaande oppervlakte en dat getal wordt meestal weergegeven als het aantal positieve cellen per honderd tumorcellen. Het aantal AGNOR-positieve plekje wordt bij een vergroting van duizend maal geteld in honderd tumorcellen en vervolgens wordt het gemiddelde per cel berekend.

In enkele recent verschenen artikelen (1, 5, 6, 8) werden mastocytomen histologisch gegradeerd volgens Patnaik en werden de bovengenoemde proliferatiemarkers beoordeeld. De resultaten daarvan werden gerelateerd aan enkele prognostische criteria. Alhoewel de gebruikte methoden voor het vaststellen van deze proliferatiemarkers en ook de conclusies met betrekking tot de waarde van deze proliferatiemarkers voor de prognose varieerden, stelden de auteurs in het algemeen dat zowel PCNA, Ki67 als AGNOR een voorspellende waarde hebben voor de prognose. Zo vinden bijvoorbeeld Webster et al. (8) in een studie van 56 mastocytomen dat het voor de Ki67-waarden en de Ag67 (AGNOR-waarde x Ki67-waarde) mogelijk was praktisch toepasbare grenswaarden ('cut off values', CU) vast te stellen tussen de groep mastocytomen met een gunstige prognose en de groep met een recidief en/of mastocytomgerelateerde sterfte. Ki67 bleek daarbij een betere maat voor de identificatie van mastocytomen met een afgenomen overlevingsduur, terwijl de Ag67 een betere maat was voor het ziektevrije interval. Alle Patnaik graad I-tumoren vertoonden waarden lager dan de grenswaarden voor zowel Ki67 als Ag67. Ook lag de waarde van alle graad III-mastocytomen boven die grenswaarden. Van de 41 graad II-mastocytomen bleken de Ki67-waarde en een Ag67-waarde bij 26 lager dan de respectievelijke CU-waarden. Daarentegen vertoonden 15 graad II-mastocytomen waarden die hoger waren dan de CU-waarden.

- I Drs. R.J.T. van der Luer, specialist Veterinaire Pathologie en dr. T.S.G.A.M. van den Ingh, specialist Veterinaire Pathologie, Europees specialist ECVF; VALUEPATH, Praktijk voor veterinaire pathologie, Postbus 144, 6300 AC Valkenburg, www.valuepath.nl.
II Dr. G.R. Rutteman, specialist Interne Geneeskunde, Europees specialist ECVIM-CA Int. Med-Oncology en dr. E. Teske, specialist Interne Geneeskunde, Europees specialist ECVIM-CA Int. Med-Oncology. Universiteitskliniek voor Gezelschapsdieren, faculteit Diergeneeskunde, Yalelaan 8, Utrecht.

Mitose-index (M₁)

De mitose-index (M₁) is een indirecte maat voor celproliferatie. Hierbij worden in een histologisch preparaat bij een vergroting van vierhonderd keer in vijf of tien velden mitosefiguren geteld. De M₁ wordt onder andere gebruikt bij melanomen, 'soft tissue'-tumoren, mammatumoren en mastocytomen. Deze techniek is eenvoudig en kan worden uitgevoerd tijdens routine-histopathologie.

In een recent verschenen artikel over een studie van 148 hondenmastocytomen (4) bleek de M₁, weergegeven als de som van het aantal mitosefiguren in tien microscopische beelden, een bruikbare voorspeller te zijn van het biologisch gedrag. Er bleek een significante associatie te bestaan tussen de M₁ en de gradering van de tumor, net als tussen de M₁ en de mate waarin metastasering optrad. Hoe groter de M₁, hoe groter de kans op metastasering. Hetzelfde bleek te gelden voor de gemiddelde overlevingsduur (MST), waarbij een M₁ kleiner of gelijk aan 5 gepaard bleek te gaan met een significant langere overleving (zeventig maanden) dan bij een M₁ groter dan 5 (twee maanden). Voor het op basis van gradering moeilijk voorspelbare gedrag van graad II-tumoren bleek dat een M₁ kleiner of gelijk aan 5 paste bij een MST van zeventig maanden, en bij een M₁ groter dan 5 was dat vijf maanden. Zelfs binnen de groep met graad III bleek een M₁ kleiner dan 5 gekoppeld te zijn met een gunstige prognose, wat mogelijk een aanwijzing vormt voor het bestaan van een subpopulatie binnen groep III die duidelijk minder agressief is. In een ander recent artikel (3) wordt het relatieve belang van de M₁, alsmede de aanwezigheid van invasieve groei in de gradering volgens Patnaik en de daarmee samenhangende prognose benadrukt ten opzichte van meer subjectieve en voor de prognose niet significante criteria zoals cellulaire differentiatie en kernbeeld.

CONCLUSIE

De mitose-index is een eenvoudige en goedkope methode (hij is namelijk tijdens routine-histopathologie uit te voeren) om het biologisch gedrag en de overlevingsduur van caniene mastocytomen te prognosticeren. Daarbij dient te worden opgemerkt dat de mitosen door de sterke cytoplasmagranulatie van de mastcellen niet altijd even makkelijk als zodanig herkenbaar zijn. Vergelijkbare prognostische criteria kunnen worden verkregen met PCNA-, Ki67- en AgNOR-bepalingen. Deze vergen echter additionele (immuno)histochemische kleuringen, waarbij bovendien als complicatie wisselende aankleuring kan optreden door verschillen in mate en duur van de fixatie van het materiaal.

Deze histopathologische prognostische gegevens zullen gecombineerd moeten worden met andere prognostische factoren zoals het klinische stadium en de grade-ring, en ook de radicaliteit van verwijdering (7). Hierbij moet tevens worden opgemerkt, dat in een studie van 28 honden met incompleet verwijderde graad II-mastocytomen slechts 17 procent binnen één jaar en 33 procent binnen vijf jaar lokaal recidief vertoonden. Aanvullende therapie bij onvolledig verwijderde mastocytomen is

daarom misschien niet altijd noodzakelijk. Een lokaal recidief kan de overlevingsduur van de aangetaste honden echter negatief beïnvloeden (6).

Literatuur

1. Newman SJ, Mrkonjich L, Walker KK and Rohrbach BW. Canine subcutaneous mast cell tumour: diagnosis and prognosis. *J Comp Path* 2007; 136: 231-239.
2. Patnaik AK, Ehler WJ and MacEwen EG. Canine cutaneous mast cell tumor. Morphological grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol* 1984; 21: 469-474.
3. Preziosi R, Scarli G and Paltrinieri M. Multivariate survival analysis of histological parameters and clinical presentation in canine mast cell tumours. *Vet Research Communications* 2007; 31: 287-296.
4. Romansk EM, Reilly CM, Kass PH, Moore PF and London CA. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol* 2007; 44: 335-341.
5. Scase TJ, Edwards D, Miller J, Henley W, Smith K, Blunden A and Murphy S. Canine mast cell tumors: Correlation of apoptosis and proliferation markers with prognosis. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 151-158.
6. Séquin B, Besancon ME, McCallan JL, Tenwolde MC, Wong EK and Kent MS. Recurrence rate, clinical outcome and cellular proliferation indices as prognostic indicators after incomplete surgical excision of cutaneous grade II mast cell tumors: 28 dogs (1994-2002). *J Vet Intern Med* 2006; 20: 933-940.
7. Teske E, Kirpensteijn J en Rutteman GR. Een mastocytoom bij een hond. *Tijdschr Diergeneesk* 2007; 132: 122-126.
8. Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller RA, Kaneene JB and Kiupel MK. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-kit and its role in prognostication. *Vet Pathol* 2007; 44: 298-308.



FlexVet personeels- en managementdiensten
voor de veterinaire sector

**waarnemingen
werving & selectie
pay-roll
managementdiensten**

**Wij Zoeken
Dierenartsen M/V**
(bij voorkeur met enige ervaring)

Het betreft:
Vaste banen
Waarnemingen
Full-time en part-time
Onregelmatige diensten
Weekenddiensten

FlexVet B.V.
Bouwstraat 5
7483 PE Haaksbergen
Tel. 053 - 5725548
Fax 053 - 5721315
E-mail: info@flexvet.nl

www.flexvet.nl