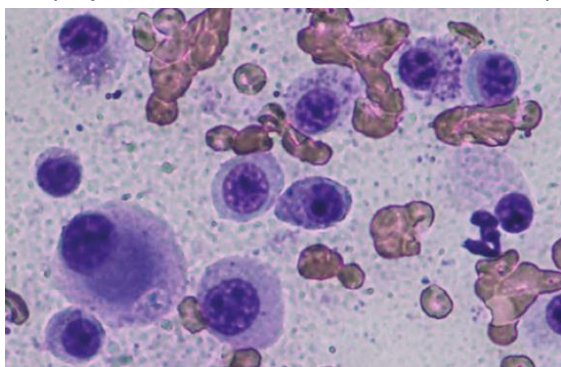


## Diagnostický postup u mastocytomů psa a kočky

Zlatým standardem v diagnostice mastocytomů je cytologie, resp. histologie. Klinický **staging** je založen na klinickém vyšetření, včetně vyšetření mizních uzlin (cytologicky/histologicky). Pro přesnější diagnostiku máme k dispozici imunohistochemické vyšetření a molekulárně genetické metody.

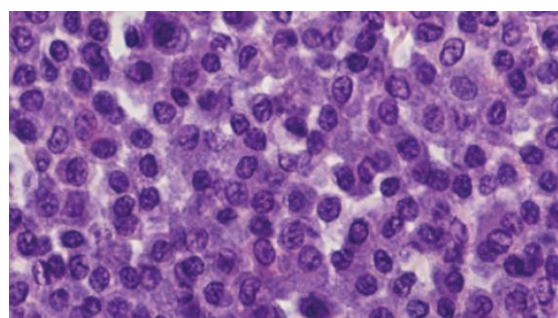
**Cytologické vyšetření** je vhodnou předoperační diagnostickou metodou a dále slouží i ke klinickému stagingu (detekci metastáz např. v mizních uzlinách nebo slezině). Cytologický grading kožního mastocytomu psa je sice publikovaný (Blackwood et al. 2012), ale má svá omezení. Cytologická kritéria malignity jsou často přeceňovaná a subkutánní mastocytomy nebývají odhaleny.



**Obrázek 1: Cytologie- špatně diferencovaný mastocytom**

**Histologické vyšetření** je schopné odlišit kožní mastocytom od subkutánního a je schopné posoudit čistotu okrajů resekovaných vzorků. Histologický **grading** umožňuje stanovit

prognózu ve vztahu k biologickému chování kožního mastocytomu psa (riziko metastáz, recidiva, doba přežití).



**Obrázek 2: Kožní mastocytom stupeň 1 dle Patnaik a kol. 1984, low grade dle Kiupel a kol. 2011**

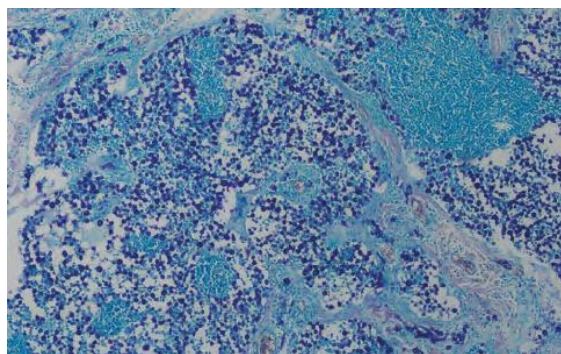
U kožních mastocytomů psa existují dva **systémy gradingu**:

Starší systém podle Patnaika a kol. (1984) rozlišuje 3 stupně (stupeň I dobře diferencovaný – obrázek 2, stupeň II středně diferencovaný a stupeň III špatně diferencovaný). Je založený mimo jiné na těchto kritériích: lokalizace tumoru, morfologie buněk, morfologie jader, počet mitóz a jejich vzhled. Jelikož tento systém obsahuje vícero kritérií, které nejsou objektivní, etabloval se dvoustupňový modifikovaný systém, který se opírá o měřitelné parametry (Kiupel et al. 2011). Dle publikovaného konsenzu (Berlato a kol. 2021) je aktuálně většinou používána kombinace obou systémů gradingu, která koreluje s prognostickou výpovědí (Stefanello a kol. 2015) (tabulka 1).

Grade	Prognóza	Úmrtí související s nádorem	Riziko metastáz do lymfatických uzlin	Riziko vzdálených metastáz
Grad I / low-grade	dobrá	zřídka	6 %	2 %
Grad II / low-grade	spíše dobrá	3 % až 17 % psů zemře v důsledku nádorů žírných buněk	16 %	2 %
Grad II / high-grade	zhoršená	14 % až 56 % psů umírá na následky žírných buněk. Střední doba přežití: 7,5 až 23,3 měsíce	15 %	2 %
Grad III / high-grade	velmi zhoršená až nepříznivá	67 až 75 % psů umírá na následky žírných buněk. Střední doba přežití: 3,6 až 6,8 měsíce	46 %	21 %

**Tabulka 1: Prognostická tvrzení pro psí kožní žírné nádory založená na kombinovaných systémech klasifikace podle Patnaik et al. (1984) a Kiupel a kol. (2011) – upraveno podle Stefanella et al. (2015)**

Pokud se mastocytom nachází subkutánně, je systém gradingu podle Patnaika a kol. (1984) a Kiupel a kol. (2011) nevhodný, protože podkožní mastocytomy jsou méně maligní než kožní mastocytomy (Bellamy a Berlato 2022). Až na výjimky jsou zpravidla lokálně dobře kontrolovatelné a v případě kompletního odstranění nevyžadují většinou žádnou další terapii (Betz 2021).



**Obrázek 3: histologie (barvení Giemsa): vysoký stupeň infiltrace mízních uzlin mastocyty, stádium HN3**

Dále můžeme vyšetřit mízní uzliny histologicky na přítomnost populace neoplastických buněk. Hodnocení probíhá na základě schématu podle Weishaar a kol. (2014). Prognóza je u stádií HN0/ HN1 signifikantně lepší než u stádií HN2/HN3.

**HN0:** žádné nebo ojediněle se vyskytující mastocyty (0-3 mastocyty/HPF), jednotlivé mastocyty rozptýlené v sinu (subkapsulárně, parakortikálně nebo medulárně) a/nebo v parenchymu. Hodnocení: žádná metastatická infiltrace (spíše reaktivní).

**HN1:** více než 3 jednotlivé mastocyty rozptýlené v sinu (subkapsulárně, parakortikálně nebo medulárně) a/nebo v parenchymu, minimálně ve 4 HPF.

Hodnocení: premetastatické (šedá zóna).

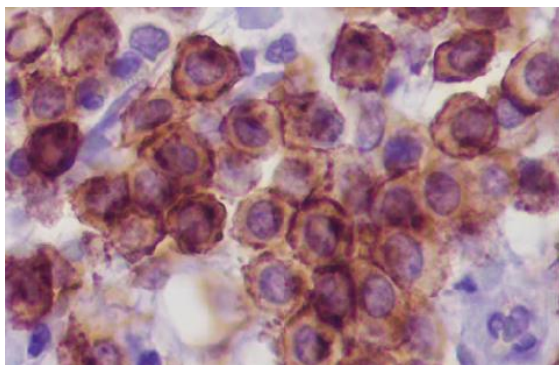
**HN2:** buněčné agregáty (cluster) mastocytů (>3 asociované buňky) v sinu (subkapsulárně, parakortikálně nebo medulárně) a/nebo parenchymální nebo sinové akumulace mastocytů. Hodnocení: rané stádium metastáz

**HN3:** destrukce normální architektury diskretními uzly nebo většími masami mastocytů (obrázek 3) Hodnocení: manifestní metastázy

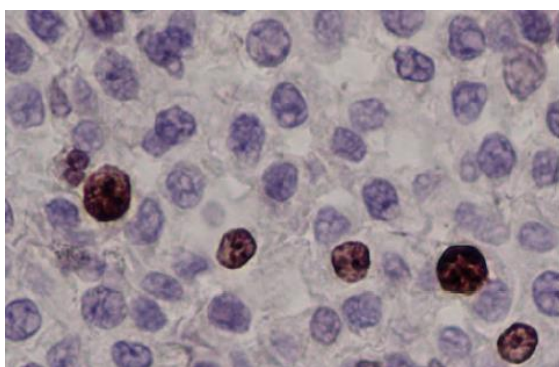
Dále je možné vyšetřit mastocytomy psů imunohistochemicky. Vzor exprese receptoru tyrozinkinázy c-KIT (membranózně, perinukleárně nebo difuzně/typ I, typ II nebo typ III), (c-KIT, obrázek 4a), (Freytag a kol. 2021;

Da Gil Costa a kol. 2011) a počet antigenu Ki-67 exprimovaného nádorovými buňkami vypovídá o stupni diferenciace, resp. o proliferační aktivitě mastocytomu (obrázek 4b).

Výsledek imunohistochemického vyšetření má čistě prognostickou (ne terapeutickou) relevanci. Průkaz atypického vzoru exprese c-KIT (typ 2 nebo 3) koreluje s horší prognózou (Freytag a kol. 2021). Více než 23 Ki-67 pozitivních buněk/zorné pole jsou spojené s nižší přežitelností (Webster a kol. 2007). Avšak pro některé kombinace nálezů neexistují žádné spolehlivé údaje (např. c-KIT vzor typ 1 a současně vysoký počet buněk pozitivních na antigen Ki-67). Neexistuje žádná spojitost mezi expresním vzorem c-KIT a přítomností genové mutace c-KIT nebo rezpozivitě na terapii inhibitory tyrosinkinázy.



**Obrázek 4a: Imunohistochemie - cKit, regulérní membránový vzor mastocytů**



**Obrázek 4b: mastocyty se barví pozitivně (hnědá)**

Mutace genu c-KIT, která vede k hyperaktivitě tyrosinkinázového receptoru KIT a k proliferaci mastocytů nezávislé na ligandech, může být prokázán molekulárně geneticky.

O toto vyšetření se opírá léčba pomocí tyrosinkinázových inhibitorů jako např. toceranibfosfát a masitinib u neoperabilních mastocytomů psa. Responzivnost na inhibitory tyrosinkinázy masitinibu je v případě přítomnosti mutace c-KIT na exonu 11 signifikantně lepší než u divokého typu alely. To však neznamená, že pokud tato mutace chybí, nebude léčba inhibitory tyrosinkinázy účinná (Hahn a kol. 2008).

Průkaz mutace c-KIT v exonu 11 u kožního mastocytomu signifikantně koreluje s kratší dobou přežití. Mastocyty s mutací v exonu 8 jsou pravděpodobně méně agresivní. Průkaz mutace c-KIT tedy umožňuje lépe vyhodnotit prognózu a stanovit individuální terapeutický

#### SPEKTRUM VYŠETŘENÍ

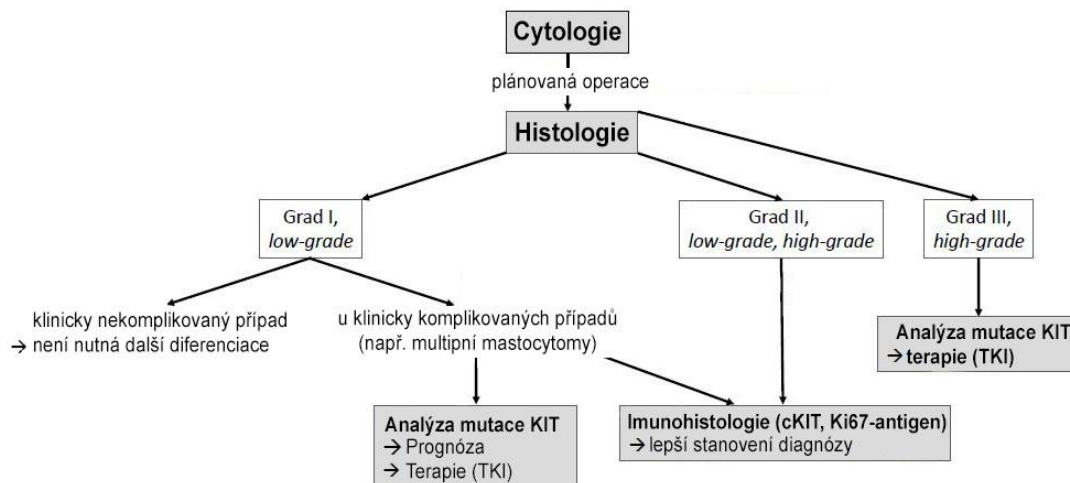
Cytologie

Histopatologie

Histologie se zvýšeným úsilím

C-Kit mutace

Imunohistochemické vyšetření



**Obrázek 5: diagnostický algoritmus kožních mastocytomů psa**

plán (Nardi a kol. 2022; Bellamy a Berlato 2022; Thamm a kol. 2019). Bohužel sekvenaci DNA někdy není možné provést kvůli enzymům obsaženým v granulech mastocytů, kvůli fixaci a kvůli zalití do parafinu (týká se nátěrů i histologických vzorků), jelikož získaná DNA není v dostatečné kvalitě pro sekvenaci.

Podkožní mastocytozy s mutací c-KIT v exonu 11 jsou s vyšší pravděpodobností histologicky klasifikovatelné jako „high-grade“ a vykazují vyšší počet mitóz (Chen a kol. 2022).

## Souhrn

**Souhrnně lze říci, že histologický grading, imunohistochemický náález a mutace c-KIT u kožních mastocytomů jsou jen jednotlivé prognostické faktory mezi dalšími, které korelují s klinickým průběhem onemocnění. Tato doplňková vyšetření jsou prováděna podle výsledků předchozích vyšetření (obrázek 5). Pro konečné posouzení případu je ale vždy nutné zapojit i klinické parametry jako je lokalizace mastocytomu (Willmann a kol. 2021; Blackwood a kol. 2012).**

*PD Dr. Heike Aupperle-Lellbach*

## Literatura

- Bellamy E, Berlato D. Canine cutaneous and subcutaneous mast cell tumours: a narrative review. *J Small Anim Pract* 2022; 63 (7): 497–511. doi:10.1111/jsap.13444
- Berlato D, Bulman-Fleming J, Clifford CA et al. Value, Limitations, and Recommendations for Grading of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors: A Consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Vet Pathol* 2021; 58 (5): 858–63. doi:10.1177/03009858211009785
- Betz DS. Chirurgie subkutaner Mastzelltumoren beim Hund: Prognosefaktoren und Outcome. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere* 2021;49 (3): 228. doi:10.1055/a-1351-3758
- Blackwood L, Murphy S, Buracco P et al. European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Vet Comp Oncol* 2012; 10 (3): e1-e29. doi:10.1111/j.1476-5829.2012.00341.x
- Chen P, Marconato L, Sabbatini S et al. Mutations in Exons 8 and 11 of c-kit Gene in Canine Subcutaneous Mast Cell Tumors and Their Association with Cell Proliferation. *Vet Sci* 2022; 9 (9): 493. doi:10.3390/vetsci9090493
- Da Gil Costa RM, Oliveira JP, Saraiva AL et al. Immunohistochemical characterization of 13 canine renal cell carcinomas. *Vet Pathol* 2011; 48 (2): 427–32. doi:10.1177/0300985810381909
- Freytag JO, Queiroz MR, Govoni VM et al. Prognostic value of immunohistochemical markers in canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis. *Vet Comp Oncol* 2021; 19 (3): 529–40. doi:10.1111/vco.12692
- Hahn KA, Oglivie G, Oglivie G et al. Masitinib is safe and effective for the treatment of canine mast cell tumors. *J Vet Intern Med* 2008; 22 (6): 1301–9. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0190.x

Kiupel M, Webster JD, Bailey KL et al. Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Vet Pathol* 2011; 48 (1): 147–55. doi:10.1177/0300985810386469

Nardi AB de, Dos Santos Horta R, Fonseca-Alves CE et al. Diagnosis, Prognosis and Treatment of Canine Cutaneous and Subcutaneous Mast Cell Tumors. *Cells* 2022; 11 (4):618. doi:10.3390/cells11040618

Patnaik AK, Ehler WJ, MacEwen EG. Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Vet Pathol* 1984; 21 (5): 469–74. doi:10.1177/030098588402100503

Stefanello D, Buracco P, Sabattini S et al. Comparison of 2- and 3-category histologic grading systems for predicting the presence of metastasis at the time of initial evaluation in dogs with cutaneous mast cell tumors: 386 cases (2009-2014). *J Am Vet Med Assoc* 2015; 246 (7): 765–69. doi:10.2460/javma.246.7.765

Thamm DH, Avery AC, Berlato D et al. Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and c-kit gene mutation in

canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working Group. *Vet Comp Oncol* 2019; 17 (4): 451–55. doi:10.1111/vco.12518

Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller RA et al. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol* 2007; 44 (3): 298–308

Weishaar KM, Thamm DH, Worley DR et al. Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *J Comp Pathol* 2014; 151 (4): 329–38. doi:10.1016/j.jcpa.2014.07.004

Willmann M, Yuzbasiyan-Gurkan V, Marconato L, et al. Proposed Diagnostic Criteria and Classification of Canine Mast Cell Neoplasms: A Consensus Proposal. *Front Vet Sci* 2021; 8: 755258. doi:10.3389/fvets.2021.755258