

L'iter diagnostico dei mastocitomi nel cane e nel gatto

PD Dott.ssa Heike Aupperle-Lellbach

L'esame gold standard nella diagnosi dei mastocitomi (MCT) è la citologia o l'istopatologia. La **stadiazione** clinica si basa sul quadro clinico compreso lo stato dei linfonodi (citologia/istologia). Sono disponibili anche metodiche immunoistologiche e genetiche per una loro caratterizzazione più precisa.

La **citologia** viene utilizzata per la diagnosi preoperatoria (Fig. 1) e la stadiazione clinica (ad es. linfonodi, milza). La classificazione citologica dei mastociti canini è stata pubblicata (Blackwood et al. 2012), ma presenta limitazioni perché i criteri di malignità citologica sono spesso sovrastimati e l'MCT sottocutaneo non può essere identificato.

La **diagnosi istopatologica** può distinguere i mastocitomi cutanei da quelli sottocutanei e può valutare i margini di resezione. Il **grading** istologico consente di formulare valutazioni sul comportamento biologico (probabilità di recidiva, rischio di metastasi, tempi di sopravvivenza) dei mastocitomi cutanei nel cane.

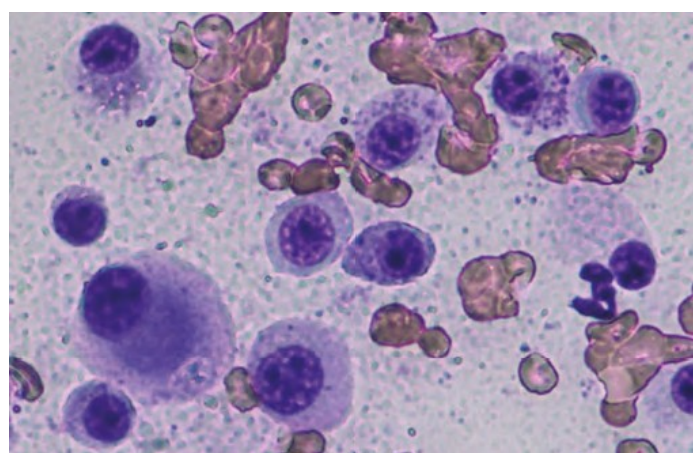


Fig. 1 - Citologia: mastocitoma scarsamente differenziato

Immagine: Laboklin

Esistono due **sistemi di classificazione** istopatologica per i *mastociti cutanei* nei cani: il vecchio sistema di classificazione secondo Patnaik et al. (1984) distingue tre gradi tumorali (grado I ben differenziato - Fig. 2 -, grado II moderatamente differenziato e grado III scarsamente differenziato). Si basa, tra l'altro, sui criteri: localizzazione del tumore, morfologia cellulare, morfologia nucleare, architettura complessiva e numero di mitosi. Poiché questo sistema comprende diversi criteri non facili da oggettivare, è stato istituito un sistema modificato a due livelli, basato su parametri più misurabili (Kiupel et al. 2011). In conformità con le raccomandazioni del Consensus Group (Berlato et al. 2021), attualmente viene solitamente fornita una combinazione di entrambi i sistemi di classificazione, che è correlata alle dichiarazioni prognostiche (Tab. 1) (Stefanello et al. 2015).

Se un *mastocitoma* è *sottocutaneo*, allora i sistemi di classificazione secondo Patnaik et al. (1984) e Kiupel et al. (2011) non possono essere utilizzati perché l'MCT sottocutaneo è generalmente meno maligno dell'MCT cutaneo (Bellamy e Berlato 2022). Con poche eccezioni, possono venire controllati bene localmente e di solito non richiedono alcuna ulteriore terapia se sono stati completamente rimossi (Betz 2021).

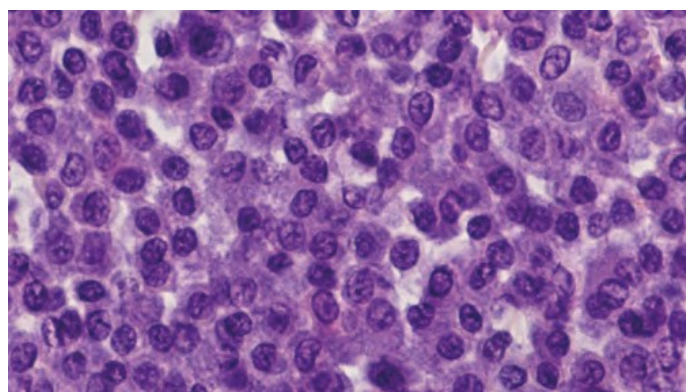


Fig. 2 - Istopatologia: mastocitoma cutaneo di grado I secondo Patnaik et al. 1984, basso grado secondo Kiupel et al. 2011

Immagine: Laboklin

Tab. 1 - Dichiarazione prognostica per i mastociti cutanei nei cani, basata sui sistemi di classificazione combinati di Patnaik et al. (1984) e Kiupel et al. (2011) – modificata da Stefanello et al. (2015)

Classificazione	Prognosi	Morti correlate al tumore	Rischio di metastasi linfonodali	Rischio di metastasi a distanza
Grado I / <i>low-grade</i>	buono	rare	6 %	2 %
Grado II / <i>low-grade</i>	per lo più buona	dal 3% al 17% dei cani muore a causa dei mastocitomi	16 %	2 %
Grado II / <i>high-grade</i>	con riserva	dal 14% al 56% dei cani muore a causa dei mastocitomi. Tempo di sopravvivenza medio: da 7,5 a 23,3 mesi	15 %	2 %
Grado III / <i>high-grade</i>	con riserva fino a infausta	dal 67 al 75% dei cani muore a causa dei mastocitomi. Tempo di sopravvivenza medio: da 3,6 a 6,8 mesi	46 %	21 %

Inoltre, i **linfonodi** possono essere esaminati istologicamente per la ricerca di una popolazione di cellule tumorali neoplastiche. La valutazione viene effettuata utilizzando lo schema di Weishaar et al (2014). La prognosi è significativamente migliore negli stadi HN0/HN1 rispetto a quelli HN2/HN3.

HN0: da assenti a sparsi (0-3 mastociti/HPF), sparsi e solitari nel seno (sottocapsulare, paracorticale o midollare) e/o nel parenchima. Valutazione: nessuna infiltrazione metastatica (piuttosto reattiva).

HN1: più di 3 mastociti sparsi e solitari nel seno (sottocapsulare, paracorticale o midollare) e/o nel parenchima in almeno 4 HPF. Valutazione: pre-metastatica (zona grigia).

HN2: aggregati (cluster) di mastociti (>3 cellule associate) nel seno (sottocapsulare, paracorticale o midollare) e/o accumuli parenchimali o sinusoidali di mastociti.
Valutazione: stadio iniziale delle metastasi.

HN3: distruzione della normale architettura linfonodale da parte di focolai distinti, noduli o masse più grandi di mastociti (Fig. 3).
Valutazione: metastasi manifeste.

Inoltre, sono possibili anche **esami immunostologici** per i mastociti canini. Il modello di distribuzione (membranoso, perinucleare o diffuso) del recettore tirosina chinasi KIT (**cKIT**, Fig. 4a) (Freytag et al. 2021; Da Gil Costa et al. 2011) e il numero delle cellule tumorali che esprimono l'**antigene Ki-67** (Fig. 4b) danno informazioni sul grado di differenziazione o sull'attività di proliferazione del MCT.

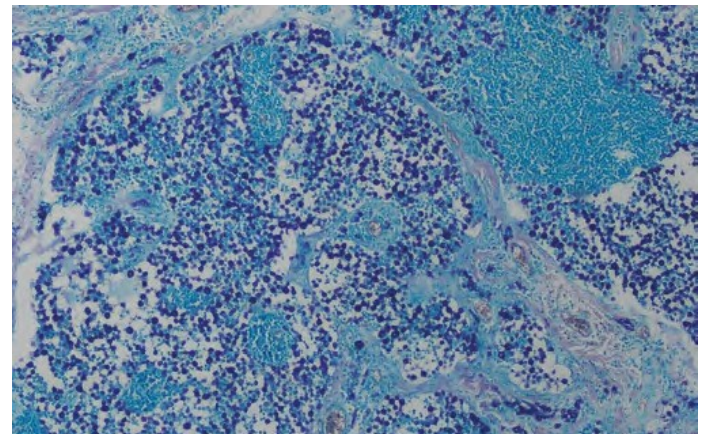


Fig. 3 - Istologia (colorazione Giemsa): elevata infiltrazione dei linfonodi con mastociti, stadio HN3

Immagine: Laboklin

I risultati immunostologici hanno solo rilevanza prognostica (non terapeutica).

Il rilevamento di un pattern di espressione cKIT atipico (tipo 2 o 3) è correlato ad una prognosi peggiore (Freytag et al. 2021). Più di 23 cellule positive al Ki-67/1 area della griglia oculare, sono associate a un tempo di sopravvivenza più breve (Webster et al. 2007).

Tuttavia, non esistono informazioni attendibili per alcune combinazioni di risultati (ad es. pattern cKIT di tipo 1 e allo stesso tempo un numero elevato di cellule tumorali positive all'antigene Ki-67). Non esiste alcuna connessione tra il pattern di espressione immunostologica di cKIT e la presenza di una mutazione del gene KIT o la risposta alla terapia con inibitori della tirosina chinasi!

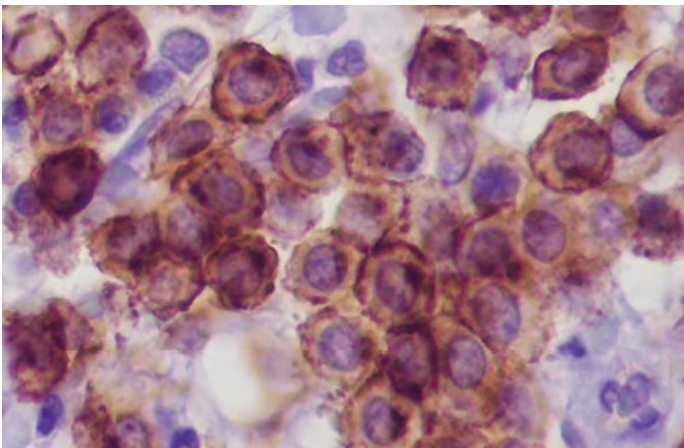


Fig. 4a – cKIT, immunohistologia: pattern di espressione membranosa regolare dei mastociti

Immagine: Laboklin

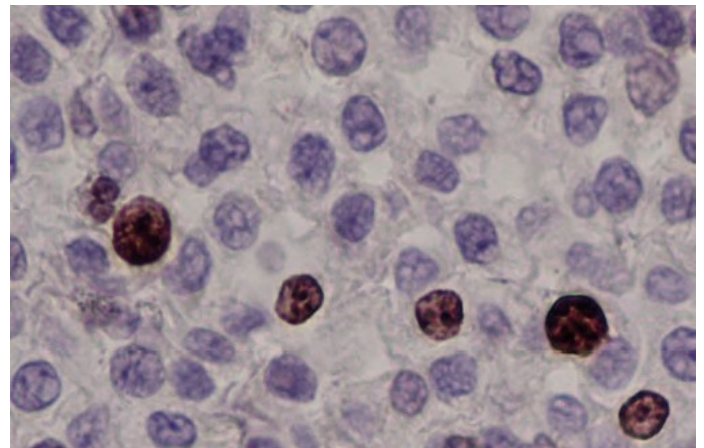


Fig. 4b - Antigene Ki-67, immunohistologia: i nuclei dei singoli mastociti reagiscono positivamente (marrone).

Immagine: Laboklin

Una **mutazione del gene KIT**, che porta all'iperattività del recettore della tirosina chinasi KIT e alla proliferazione dei mastociti ligando-indipendente, può essere rilevata utilizzando metodi di **genetica molecolare**. Sulla base di questa patogenesi, gli inibitori della tirosina chinasi come toceranib fosfato e masitinib vengono utilizzati nei mastociti canini non resecabili.

La risposta dell'inibitore della tirosina chinasi masitinib è significativamente migliore in presenza di una mutazione KIT nell'esone 11 rispetto al wild type. Tuttavia, ciò non significa che in assenza di mutazione non vi sia alcun effetto terapeutico degli inibitori della tirosina chinasi (Hahn et al. 2008).

Il rilevamento di una mutazione KIT nell'esone 11 nei *mastociti cutanei* è significativamente correlato con un tempo di sopravvivenza più breve. I tumori dei mastociti con una mutazione nell'esone 8 sono probabilmente meno aggressivi. L'individuazione della mutazione KIT serve quindi a migliorare la valutazione della prognosi e la pianificazione della terapia individualizzata (Nardi et al. 2022; Bellamy e Berlato 2022; Thamm et al. 2019).

Tuttavia, a causa degli enzimi presenti nei granuli dei mastociti, della fissazione e dell'inclusione in paraffina (sia negli strisci che nei campioni istologici), non è sempre possibile isolare DNA di qualità sufficiente per il sequenziamento.

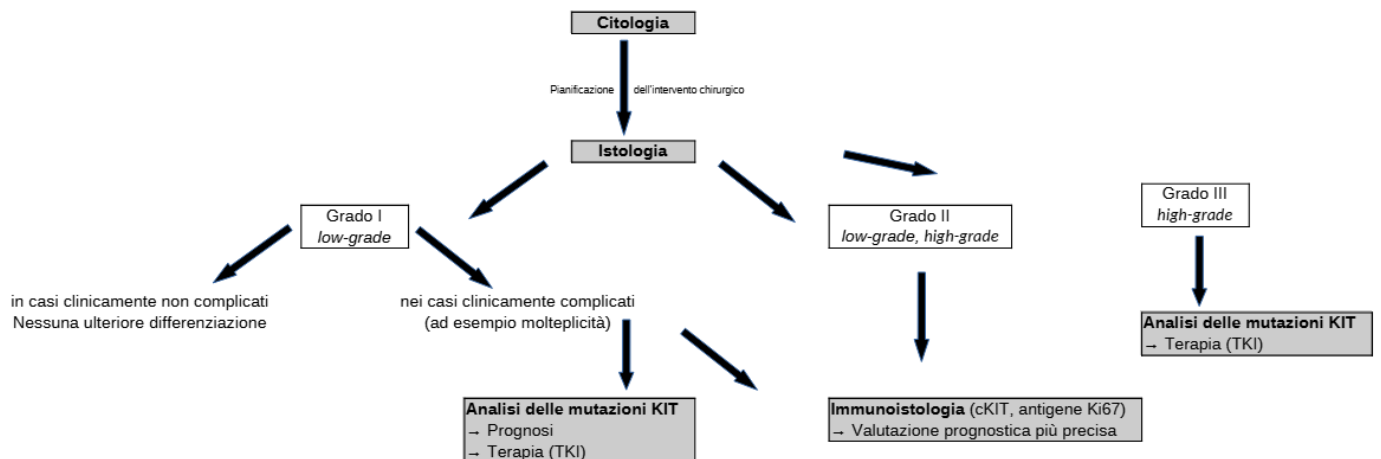


Fig. 5 - Algoritmo diagnostico per i mastociti cutanei del cane

I *mastociti sottocutanei* con una mutazione KIT nell'esone 11 hanno maggiori probabilità di essere istologicamente di alto grado e di avere una conta mitotica più elevata (Chen et al.2022).

Conclusioni

In sintesi, va sottolineato ancora una volta che il grading istologico, i risultati immunoistologici e lo stato di mutazione c-Kit di un mastocitoma cutaneo, sono solo fattori prognostici individuali tra i tanti correlati al decorso clinico della malattia. A seconda della singola situazione ha senso effettuare ulteriori indagini diverse (fig. 5). Tuttavia, nella valutazione finale di ogni singolo caso, devono essere considerati numerosi altri parametri clinici nonché la localizzazione anatomica del mastocitoma (Willmann et al. 2021; Blackwood et al. 2012).

Esami a disposizione
Citologia
Istopatologia
Istopatologia con approfondimenti
Mutazione c-Kit
Esame immunoistologico

Approfondimenti

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, Sabattini 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, Ogilvie G, Ogilvie 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