



DOI 10.2377/0023-2076-64-680

AniCura Bielefeld GmbH, Tierärztliche Klinik für Kleintiere¹, Laboklin GmbH & Co KG, Bad Kissingen²

Erste klinische Erhebungen zur Überlebensrate von Hunden mit Übergangszellkarzinom und BRAF-Mutation V595E

Peter Pantke¹, Christian Diekmann¹, Michele Hettig¹, Heike Aupperle-Lellbach²

Korrespondenzadresse: peter.pantke@anicura.de

Zusammenfassung Mittels DNA-Sequenzierung lassen sich Hunde mit Übergangszellkarzinom (ÜZK) in BRAF-Gen-V595E-Mutanten und Wildtypen differenzieren. Ziel der vorliegenden Studie war es, beide Gruppen hinsichtlich Tumorvariablen und Überlebensdaten zu vergleichen. Zu diesem Zweck wurden retrospektiv über einen Zeitraum von drei Jahren Krankenakten von Hunden ausgewertet, bei denen aus transurethralen Gewebebiopsien ein ÜZK pathohistologisch diagnostiziert wurde und noch genügend Material für eine Genanalyse zur Verfügung stand. Eine DNA-Isolierung aus Tumorzellen erfolgte mit einem kommerziellen Testkit. Das Vorliegen einer BRAF-Mutation wurde mittels Sanger-Sequenzierung untersucht. Anamnese, Krankheitsverlauf, urethrozystoskopischer Befund, Metastasierungsstatus, basierend auf Thoraxröntgen und Abdomensonografie, sowie Behandlungsmodalitäten wurden aus den Akten erfasst. Diskrete Tumorvariablen wurden zwischen Mutanten und Wildtypen mittels Fisher-Exakt-Test verglichen, Überlebenszeiten mittels Kaplan-Meier-Plots errechnet. Die Studienpopulation umfasste insgesamt 29 Hunde im mittleren Alter von 10,8 Jahren bei einer Geschlechtsverteilung von 3:1 zwischen Hündinnen und Rüden mit folgenden weiteren Tumorvariablen: Zum Zeitpunkt der Diagnose war die Harnröhre in 19/29 (65,5 %) aller Fälle betroffen. Bei 10/27 (37,2 %) der Hunde waren lymphogene Metastasen, bei 6/27 (22,2 %) der Hunde waren hämatogene Metastasen dokumentiert. Das pathohistologische Grading ergab bei 18/25 (72,0 %) der Hunde einen high-grade Tumor, bei 7/25 (28,0 %) einen low-grade Tumor. Bei 16 von 29 Hunden (55,2 %) lag eine BRAF-Mutation V595E vor, bei den übrigen 13/29 Hunden (44,8 %) nicht. Zwischen Mutanten und Wildtypen gab es keinen signifikanten Unterschied in den genannten Tumorvariablen. Behandlungsmodalitäten basierten auf einer palliativen transurethralen Laserablation, einer nichtsteroidalen oder metronomischen Chemotherapie, einer Harnblasenteilresektion, einer Kombination daraus oder auf keiner Therapie. Vom Zeitpunkt der Diagnose an betrug die mediane Überlebenszeit für BRAF-Mutanten elf Monate, für Wildtypen fünf Monate, ohne signifikanten Unterschied ($p = 0,10$) zum gewählten Signifikanzniveau ($p < 0,05$). Mutanten und Wildtypen waren in dieser Studie klinisch nicht differenzierbar. Durch zwischenzeitliche Einführung des BRAF-Tests in die kommerzielle Routinelabor Diagnostik könnten größere Fallzahlen zeigen, ob eine BRAF-Mutation V595E per se einen günstigen Einfluss auf die Überlebenszeit von Hunden mit ÜZK hat.

Schlüsselwörter Übergangszellkarzinom, Hund, BRAF-Mutation, kumulatives Überleben

First clinical studies on survival rate of dogs with transitional cell carcinoma and BRAF mutation V595E

Summary In dogs with transitional cell carcinoma (TCC), DNA sequencing permits the differentiation of BRAF gene V595E mutant dogs from wildtype dogs. The aim of the present study was to compare both groups with regard to tumour variables and survival rate. Over a period of three years, medical records of dogs were retrospectively screened for TCC diagnosed histopathologically from transurethral biopsies. Only cases in which sufficient biopsy material was still available for genetic analysis were included in the study. DNA isolation from tumour cells was carried out with commercially available test kits. The presence of the BRAF mutation V595E was examined by Sanger sequencing. Information about the dogs' clinical history, urethrocytoscopic findings, metastatic spread (as evinced by thoracic X-ray and transabdominal ultrasonography) and the treatment modalities used were gleaned from the clinical records. Discrete tumour variables of mutant and wildtype dogs were compared using Fisher's exact test. The survival rates were calculated with Kaplan-Meier plots. The study population consisted of a total number of 29 dogs. The average age of the dogs was 10.8 years and the sex distribution was three females to one male. At the time of diagnosis, TCC was found in the urethra in 19/29 dogs (65.5%). Local lymphatic spread was diagnosed in 10/27 (37.2%), while distant metastatic spread was diagnosed in 6/27 (22.2%). Pathological grading revealed high-grade tumours in 18/25 cases (72.0%) and low-grade ones in 7/25 cases (28.0%). A BRAF mutation V595E was found in 16 of the 29 dogs (55.2%), but not in the other 13 (44.8%). There was no statistical difference in any of the tumour variables between the mutant and wildtype dogs. The treatment modalities consisted of palliative transurethral laser ablation, non-steroidal or metronomic chemotherapy, partial bladder resection, a combination thereof, or of no treatment at all. From the time of diagnosis of TCC, the mutant dogs and wildtype dogs had a median survival time of eleven months and five months, respectively. There was no significant difference between the survival times of the two groups ($p < 0.05$). In this study, mutant dogs and wildtype dogs could not be differentiated clinically. With the meanwhile introduction of BRAF testing into commercial routine laboratory analysis, further studies on a larger population of dogs with TCC are needed to show whether a BRAF V595E mutation could per se prove to be a positive prognostic factor for survival.

Keywords Transitional cell carcinoma, dog, BRAF mutation, survival



Einleitung

Molekulargenetische Untersuchungen werden in der Humanmedizin bei onkologischen Erkrankungen in zunehmendem Umfang diagnostisch genutzt. Dabei wird die DNA von Tumorzellen auf Mutationen untersucht, um Tumoren nach Mutanten und Wildtypen zu differenzieren (Gutzmer 2014). Eine der häufigsten Genmutationen bei Tumorerkrankungen des Menschen betrifft die Familie der RAF (rapidly accelerated fibrosarcoma)-Gene (Ardekani et al. 2012). Die mutierte B-Variante der RAF-Gene führt über eine unkontrollierte Synthese von BRAF-Kinasen zu einem dauerhaften Antrieb der Zellteilung. BRAF-Mutationen findet man beim Menschen gehäuft in Melanomen und in Karzinomen der Schilddrüse, gelegentlich in Karzinomen von Dickdarm, Lunge oder Eierstock (Cabanillas et al. 2015). Beim Melanom und beim Dickdarmkarzinom stellt der Nachweis einer BRAF-Mutation beim Menschen zudem einen ungünstigen Überlebensfaktor dar (Ardekani et al. 2012).

Beim Hund sind BRAF-Mutationen im Gegensatz zum Menschen bislang gehäuft beim Übergangszellkarzinom (ÜZK) und beim Prostatakarzinom aufgetreten, in Einzelfällen beim Melanom, beim Gliom und beim oralen Plattenepithelkarzinom (Michizuki und Breen 2015). Beim kaninen ÜZK ist das BRAF-Gen V595E betroffen, und zwar mit einer studienabhängigen Häufigkeit von 55–88 % (Aupperle-Lellbach et al. 2018, Decker et al. 2016, Maeda et al. 2018, Mochizuki et al. 2015a). Der Nachweis einer BRAF-Mutation beim kaninen ÜZK erfolgt aus der DNA von abgeschilferten Tumorzellen im Urin, aus Ansaugbiopsien oder urethrozystoskopisch geführten Knipsbiopsien (Aupperle-Lellbach et al. 2018). In dem hier vorliegenden Beitrag sollten Hunde mit ÜZK molekulargenetisch in BRAF-Mutanten und Wildtypen unterteilt, in beiden Gruppen eine Tumorcharakterisierung vorgenommen und die prognostische Relevanz der Mutation quo ad vitam untersucht werden.

Material und Methoden

Aus einem Zeitraum von drei Jahren (2016–2018) wurden an der AniCura Tierärztlichen Klinik Bielefeld retrospektiv Krankenakten von dysurischen Hunden beiderlei Geschlechts ausgewertet, bei denen aus urethrozystoskopisch geführten 1–2 mm großen Knipsbiopsien histopathologisch ein ÜZK des unteren Harntrakts nachgewiesen wurde und von denen noch ausreichend Gewebematerial für eine Gensequenzierung vorhanden war. Aus den Akten wurden Angaben zur Anamnese, zum Signalement und zum urethrozystoskopischen Befund entnommen. Dabei wurde makroskopisch einerseits zwischen vorwiegend papillären Epithelwucherungen mit spärlichen Stromaanteilen und solide szirrhösen, dominierend flächenhaft wachsenden Stromaproliferationen sowie andererseits nach Lokalisation zwischen Harnblase oder Harnröhre unterschieden. Die Erfassung etwaiger lymphogener und hämatogener Metastasierungen beruhte ausschließlich auf sonografischen Untersuchungen des Abdomens und auf röntgenologischen Untersuchungen des Thorax. Transurethrale Tumorbiopsien wurden in Formalin (4 %) fixiert, in Paraffin eingebettet und mittels Hämatoxylin-Eosin routinemäßig untersucht (Aupperle-Lellbach et al. 2018). Das histopathologische Grading stützte sich auf eine Unterscheidung zwischen low-grade und high-grade Tumor (Meuten und Meuten 2017). Von den Paraffinblöckchen wurde Material für eine DNA-Isolierung mittels QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Produkt-Nr. 56404;

Qiagen, D) abgeholt. Die Gensequenzierung erfolgte in Anlehnung an Mochizuki et al. (2015b). Die Analyse basierte auf dem Genetic Analyser 3130 und die Auswertung der Sequenzen auf dem Software SeqScanner (Aupperle-Lellbach et al. 2018).

Behandlungsmodalitäten wurden aus den Akten separat erfasst. Hierzu gehörte eine Harnblasenteilresektion (Norris et al. 1992), sofern ein Harnblasentumor zystoskopisch in sich und gegenüber dem Harnblasensphinkter eindeutig abgrenzbar war. Hierzu gehörten ferner eine Dauertherapie mit einem nichtsteroidalen Antiphlogistikum in Form von Meloxicam (Burgess und DeRegis 2019) in einer Dosis von 0,1 mg/kg einmal täglich, eine metronomische Chemotherapie mit Chlorambucil in einer Dosis von 4 mg/qm Körperoberfläche einmal täglich als orale Dauertherapie (Schrempp et al. 2013) sowie eine palliative Laserablation in Anlehnung an Cerf und Lindquist (2012) unter Verwendung eines Holmium-Lasers (Medilas H₂O®, Dornier, D) bei 6–10 Watt. Behandlungsmodalitäten wurden einzeln oder in unterschiedlichen Kombinationen eingesetzt. Überlebensdaten wurden aus den Akten entnommen oder telefonisch von Haustierärzten und Hundebesitzern eingeholt. BRAF-Mutanten und Wildtypen bildeten jeweils eine Subgruppe. Diskrete Variablen beider Subgruppen wurden mittels Fisher-Exakt-Test verglichen, Überlebenszeiten wurden mittels Kaplan-Meier-Plots ermittelt und mittels Logrank-Test statistisch abgeglichen, jeweils zum Signifikanzniveau $p < 0,05$.

Ergebnisse

Insgesamt gelangten 29 Hunde in die Auswertung. Das Durchschnittsalter der Hunde betrug 10,8 Jahre ($\pm 1,9$ Jahre). Dabei waren $n = 22/29$ (75,9 %) weibliche und $7/29$ (24,1 %) männliche Tiere vertreten. Anamnestische Angaben zur Dauer dysurischer Beschwerden lagen zwischen einem Tag und vier Monaten, im Median bei sechs Wochen. Die Vorbehandlung bestand in ein bis zwei drei- bis zehntägigen Gaben von Antibiotika und Antiphlogistika zur Behandlung einer Zystitis. Sonstige Begleiterkrankungen lagen nicht vor. Bei der diagnostischen Endoskopie beschränkte sich das Tumorgewebe aller Hunde urethrozystoskopisch bei $10/29$ (34,5 %) Hunden auf die Harnblase und bei $8/29$ (27,6 %) auf die Harnröhre. Beide Organe waren in $11/29$ (37,9 %) Fällen gemeinsam betroffen. Harnblasentumoren waren im Trigonum vesicae oder in der lateralen Blasenwand lokalisiert, in zwei Fällen apikal. Auf Grundlage der Bildgebung fielen regionale Lymphmetastasen bei $10/27$ (37,2 %) und hämatogene Metastasen bei $6/27$ (22,2 %) Hunden auf. Vier der insgesamt $16/27$ (14,8 %) Hunde mit solch einem Metastasenachweis galten sowohl als hämatogen als auch als lymphogen metastasiert. Bei zwei Hunden lagen in den Akten zum Metastasierungs geschehen keine Angaben vor. Bei $18/25$ (72 %) Fällen handelte es sich um einen high-grade Tumor, bei $7/25$ (28 %) um einen low-grade Tumor. Bei vier Hunden wurde aufgrund einer eingeschränkten Qualität der histopathologischen Proben kein Grading vorgenommen.

Bei 16 der 29 Hunde (55,2 %) lag eine Mutation des BRAF-Gens (BRAF+) vor, bei den übrigen 13 Hunden (44,8 %) nicht (BRAF-). Die Rasseverteilung umfasste bei den BRAF-Mutanten sechs Terrierrassen oder Terriermischlinge (55 %), bei den Wildtypen zwei Terrier oder Terriermischlinge (25 %). Übrige Rassen waren einzeln vertreten. Weitere Vergleichsdaten beider Subgruppen zeigt ▶ Tabelle 1. Die Altersverteilung war nahezu identisch.



Tab. 1: Tumorvariablen von Hunden mit Übergangszellkarzinom und BRAF-Mutation V595E (BRAF+) gegenüber Hunden vom Wildtyp (BRAF-)

Mutationsanalyse	BRAF+ 55,2 % (n = 16/29)	BRAF- 44,8 % (n = 13/29)
Vergleichskriterium		
Mittleres Alter in Jahren bei Diagnose	11,0 ± 1,8 (16/16)	10,5 ± 1,9 (13/13)
Gesamtanteil an Hündinnen	81,3% (13/16)	69,2 % (9/13)
Harnröhrentumor	12,5 % (2/16)	46,2 % (6/13)
Harnblasentumor	43,8 % (7/16)	23,1 % (3/13)
Tumororgane Harnröhre und Harnblase	43,8 % (7/16)	30,8 % (4/13)
Papilläres Tumorstadium	93,8 % (15/16)	84,6 % (11/13)
Lymphogene Metastasen	40,0 % (6/15)	33,4 % (4/12)
Hämatogene Metastasen	13,4 % (2/15)	33,3 % (4/12)
High-grade Tumor	85,7 % (12/14)	54,5 % (6/11)

Tab. 2: Behandlungsmodalitäten bei Hunden mit Übergangszellkarzinom und BRAF-Mutation V595E (BRAF+) gegenüber Wildtypen (BRAF-) im Vergleich

Mutationsanalyse	BRAF+ n = 16 (55,2 %)	BRAF- n = 13 (44,8 %)
Behandlungsmodalität		
Euthanasie	0	2
Laserablation + NSAID	5	2
Laserablation + Chemotherapie + NSAID	2	1
Chemotherapie + NSAID	2	3
Blasenteilresektion + NSAID	1	1
NSAID	5	3
Homöopathische Behandlung	0	1
Keine Information	1	0

NSAID = nichtsteroidales Antiphlogistikum

Die übrigen tabellarisch aufgeführten Tumorvariablen unterschieden sich statistisch nicht signifikant. Die sonografisch ermittelte Tumorgroße in der Harnblase wurde nicht zu Vergleichszwecken herangezogen, da während der Untersuchung keine standardisierten Füllungsvolumina gegeben waren (Fulkerson und Knapp 2015). Eine Dilatation von Ureter und Pelvis renalis als Folge einer prävesikalen Ureterobstruktion fand sich bei jeweils einem Hund pro Subgruppe. Dabei handelte es sich um einen BRAF-Mutanten, über dessen Behandlung keine weiteren Informationen eingeholt werden konnten, und einen Wildtypen, der als einer von zwei Wildtypen unbehandelt euthanasiert wurde.

Die Behandlung der übrigen 26/29 Hunde folgte sehr unterschiedlichen Modalitäten, welche in ▶ Tabelle 2 der Häufigkeit ihrer Anwendung nach zusammengefasst sind. Dabei kamen fallweise bis zu drei komplementäre Behandlungsmodalitäten zum Einsatz. Therapieauswahl und Behandlungsintensität erfolgten nach ausführlicher

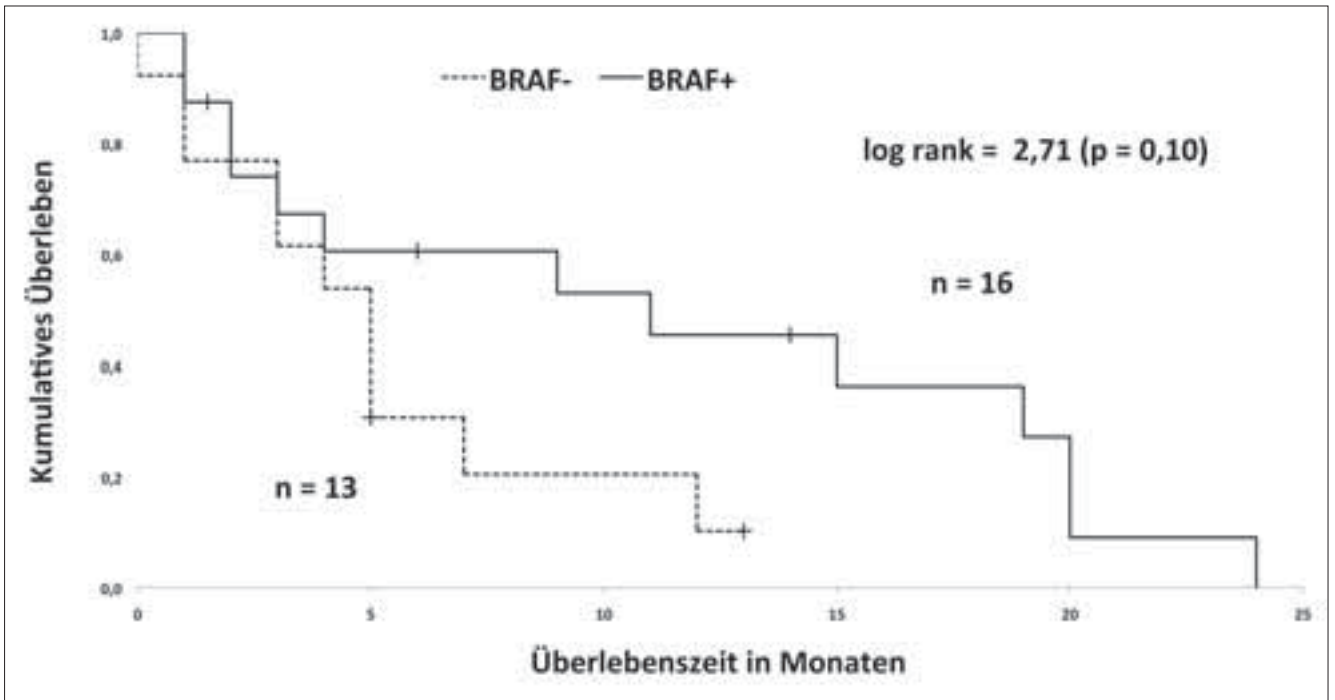
Beratung nach Maßgabe der Besitzer. Behandlungsmodalitäten mit Beeinträchtigung der Kontinenz wie das Einlegen von Urethrostents (Blackburn et al. 2013) oder eine Zystektomie (Saeki et al. 2015) kamen in dieser Studie nicht vor. Apikale Blasenteilresektionen erfolgten in zwei Fällen, jeweils mit tumorfreien Resektionsrändern.

Bei 24/29 (82,8 %) Hunden konnten Informationen zur Überlebensdauer eingeholt werden. Bei den Hunden, die nicht unmittelbar nach Diagnosestellung euthanasiert wurden, kam es in allen Fällen zu einem einer Tumorkachexie entsprechenden allgemeinen Kräfteverfall, in zehn Fällen rezidierten zudem die obstruktiven Harnabsatzbeschwerden. Von 24 Fällen verstarben sieben, die übrigen 17 wurden euthanasiert, 14 davon haustierärztlich. Für die Überlebenszeit ab dem Zeitpunkt der Diagnose errechnete sich bei BRAF-Mutanten nach dem Kaplan-Meier-Plot für zensierte Überlebenszeiten (▶ Abb. 1) ein empirischer Median von elf Monaten, für Wildtypen von fünf Monaten. Diese Differenz war nicht signifikant (p = 0,10).

Diskussion

Die Gesamtpopulation dieser Studie repräsentiert die bekannte Alters- und Geschlechtsverteilung von Hunden mit ÜZK am unteren Harntrakt (Pantke 2018). Hinsichtlich der Rasseverteilung deutete sich die bekannte Rasseprädisposition für Terrier (Aupperle-Lellbach et al. 2019) an. Die Tumordiagnostik selbst erfolgte in der hier vorliegenden Studie urethrozystoskopisch gestützt. Eine Indikation zur Urethrozystoskopie ergab sich bei anhaltender Dysurie, einer ungeklärten Hämaturie oder aufgrund sonografisch erfasster Raumforderungen (Morgan und Forman 2015). Die Endoskopie erlaubte die Visualisierung onkologischer Wachstumsmuster. Dabei traten in der hier vorliegenden Studie fast ausnahmslos papilläre Formen gegenüber szirrhösen Formen auf. Zudem fand sich endoskopisch in dieser Studie eine relativ hohe Beteiligung der Harnröhre. Mittels Kontrastradiografie konnte in einer früheren Studie mit 67 % auch eine hohe Harnröhrenbeteiligung ermittelt werden, wobei noch vermutet wurde, dass mit dieser Methode die Tumorausdehnung im Einzelfall unterschätzt werden könnte (Norris et al. 1992). In fortgeschrittenen Krankheitsfällen soll die Urethra in mindestens 50 % der Fälle beteiligt sein (Chew et al. 2011), was auf die hier vorliegende Population zutrifft und für deren relativ ungünstige Überlebenszeit mitverantwortlich gemacht werden kann. Die Erfassung einer lymphogenen oder hämatogenen Tumorausbreitung zum Zeitpunkt der Diagnose basierte in der hier vorliegenden Studie auf einer zweidimensionalen Bildgebung ohne pathohistologische Absicherung. Die hier ermittelten Häufigkeiten zum Metastasenstatus zum Zeitpunkt der Diagnose schienen zumindest insofern plausibel, als in einer größeren postmortalen Studie mit 75 Sektionen von Hunden mit Tumoren des unteren Harntrakts im Finalstadium erwartungsgemäß höhere Metastasierungsraten, nämlich 48 % regionale Lymphknotenmetastasen und 51 % Fernmetastasen, feststellbar waren (Norris et al. 1992).

Der Anteil an BRAF-Mutanten in der hier vorgestellten Gesamtpopulation betrug 55,2 %, der Anteil an Wildtypen entsprechend 44,8 % (▶ Tab. 1). Dieser Mutationsanteil lag im unteren Bereich der bekannten Häufigkeiten von 55–88 % (Aupperle-Lellbach et al. 2018, Decker et al. 2016, Maeda et al. 2018, Mochizuki et al. 2015a). Dem könnten rassespezifische genetische Polymorphis-



Grafik: Michele Hettig

Abb. 1: Kumulatives Überleben von Hunden mit Übergangszellkarzinom und BRAF-Mutation V595E (BRAF+) im Vergleich zu Wildtypen (BRAF-) nach Kaplan-Meier; Logrank (BRAF+/BRAF-) = 2,71 ($p > 0,05$), berechnet ab Zeitpunkt der Diagnosestellung

men zugrunde liegen, die mit unterschiedlichen Anfälligkeiten gegenüber mutagenen Faktoren einhergehen (Meyer et al. 2003). Zudem werden in kaninen ÜZK Zellen über 1.000 Gene angeschaltet (Decker et al. 2016), sodass das BRAF-Gen V595E nicht bei jedem ÜZK onkogenetisch involviert sein muss. BRAF-Mutanten ließen sich in dieser Studie weder klinisch noch urethrozystoskopisch, bildgebnerisch oder pathohistologisch nach den hier gewählten Kriterien (► Tab. 1) von Wildtypen differenzieren. Der Nachweis einer BRAF-Mutation V595E ging in dieser Studie mit einer nicht signifikant verlängerten Überlebenszeit einher, hat sich also auf das weitere Überleben nicht negativ ausgewirkt (► Abb. 1).

Diese Ergebnisse unterliegen einigen Limitationen. Ein möglicher Einfluss der Dauer der Vorerkrankung auf den Krankheitsverlauf ließ sich nicht weiter einschränken, da anamnestisch nicht zwischen einer einfachen oder einer Tumorzystitis unterschieden werden konnte. Des Weiteren ist aufgrund der geringen Subgruppengrößen in dieser Studie nicht auszuschließen, dass sich Mutanten und Wildtypen (► Tab. 1) nicht doch in Tumorvariablen unterschieden, die Einfluss auf die Überlebenszeit eines ÜZK haben könnten. Als gesicherte Prognosefaktoren beim ÜZK des Hundes sind anzusehen die Tumorlokalisierung in Harnblase oder Harnröhre versus Harnblase und Harnröhre (Norris et al. 1992), das Tumorgrading



Fotos: Peter Pantke

Abb. 2a-c: Transurethrale Darstellung einer fortschreitenden Laserablation eines Übergangszellkarzinoms der Harnröhre bei einer Hündin mit BRAF-Mutation V595E; Harnkatheter einliegend links, Laserfaser (270 µm) einliegend oben im Bildausschnitt; fortlaufende Laserablation (a-c)



(Valli et al. 1995) sowie computertomografisch detektierbare Knochentumoren oder sternale Lymphadenomegalien (Iwasaki et al. 2019). Des Weiteren ist eine Verzerrung der Überlebensraten durch eine hohe Variabilität in der Anwendung unterschiedlicher Behandlungsmodalitäten nicht auszuschließen, auch wenn diese zwischen Mutanten und Wildtypen ähnlich verteilt waren (► Tab 2). Dabei unterliegt schon die vergleichende Bewertung einer einzelnen Behandlungsmethode erheblichen Limitationen, da Behandlungsgruppen in unterschiedlichen Studien uneinheitlich definiert worden sind. Zieht man beispielsweise eine Metaanalyse zum medianen Überleben nach Chemotherapie heran, basierend auf zwölf verschiedenen Studien mit acht Wirkstoffen in Populationsgrößen von sieben bis 55 Hunden, so variierten die lymphogene und/oder hämatogene Metastasierungsrate zu Beginn der Behandlung zwischen 10–40 % und das mediane Überleben zwischen drei bis zwölf Monaten. Unterschiedliche Überlebensraten können schon durch eine unterschiedliche Metastasierungsrate zu Beginn der Behandlung erklärbar sein (Pantke 2018). Um die prognostische Relevanz einer BRAF-Mutation besser beurteilen zu können, bedarf es nach dieser hier vorliegenden Studie einer größeren Studienpopulation mit standardisiertem Behandlungsprotokoll, dem der Besitzer dann jeweils auch einwilligt. Um limitierte Fallzahlen einer monozentrischen Studie zu überwinden, haben sich in den USA über 20 Universitätskliniken zu einem onkologischen Konsortium zusammengefunden (Dhawan et al. 2015). Erste Ergebnisse stehen aus.

Unter Berücksichtigung aller derzeit verfügbaren Behandlungsmodalitäten ist die Prognose für Hunde mit ÜZK mit bis zu zwölf, in Einzelfällen bis zu 24 Monaten generell ungünstig (Pantke 2018). Als Letalitätsursachen wurden in zwei Dritteln der Fälle ein lokaler Tumorprogress und in einem Drittel eine Tumorkachexie angesehen (Knapp et al. 2000). Harnwegsobstruktionen konnten, wie bereits beschrieben (Cerf und Lindquist 2012), auch in dieser Studie palliativ laserablativ behoben werden (► Abb. 2a–c), um den Urinabsatz erheblich zu verbessern und um Zeit zu gewinnen, bis systemische Behandlungsmodalitäten greifen. Dennoch sind effektivere systemische Behandlungsmaßnahmen wünschenswert. Aus dem Nachweis einer BRAF-Mutation könnte sich ein neuer Behandlungsansatz mit BRAF-Kinase-Hemmern ergeben. Dabei handelt es sich um pharmazeutisch synthetisierte Substanzen, die in Tumorzellen eindringen, um mutagen stimulierte Signalwege der Zellteilung wieder abzuschalten. Prototyp dieser Substanzen ist das Vemurafenib, welches beim Menschen bereits zur Behandlung des metastasierten malignen Melanoms zugelassen ist (Gutzmer 2014). Erste In-vitro-Versuche beim Hund haben gezeigt, dass Vemurafenib in BRAF-mutierten Zelllinien des kaninen Übergangszellkarzinoms eine signifikante Proliferationshemmung im Vergleich zu Zelllinien des Wildtypen bewirkt (Decker et al. 2016). Derzeit bleibt der Nachweis einer BRAF-Mutation ein wichtiges Diagnostikum beim ÜZK. Der BRAF-Test liefert aber derzeit noch keine Informationen hinsichtlich eines Therapieentscheids, ein positiver BRAF-Test stellt per se keinen Grund für eine Euthanasie dar.

Conflict of interest

Hiermit erklären die Autoren, dass sie keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen haben, welche die im Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen

beeinflussen könnten. Frau Aupperle-Lellbach ist zum Zeitpunkt der Drucklegung bei der Firma Laboklin GmbH & Co KG, Bad Kissingen, angestellt.

Erklärung

Auszüge dieser Studie wurden bereits in den Proceedings des 64. Jahreskongresses der DGK-DVG, Berlin 2018, Kleintierprax 63: 541–543, publiziert.

Danksagung

Dr. Andreas Kirchhoff, Praxis für Veterinärpathologie, Zweckeler Str. 83, 45896 Gelsenkirchen, und Dr. Wolf v. Bomhard, Fachpraxis für Tierpathologie, Hartelstr. 30, 80689 München, gilt ein ganz besonderer Dank der Autoren für pathologische Diagnostik und Bereitstellung des Probenmaterials von Hunden dieser Studie zur weiteren Bearbeitung, ohne das diese Studie hätte nicht durchgeführt werden können. ■

Literatur

- Ardekani GS, Jaharnejad SM, Tan L, Saeedi A, Li G (2012): The prognostic value of BRAF mutation in colorectal cancer and melanoma: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 7(10): e47054.
- Aupperle-Lellbach H, Grassinger J, Hohloch C, Kehl A, Pantke P (2018): Diagnostische Aussagekraft der BRAF-Mutation V595E in Urinproben, Ausstrichen und Biopaten beim kaninen Übergangszellkarzinom. *Tierärztl Praxis* 46(K): 289–295.
- Aupperle-Lellbach H, Kehl A, Grassinger J, Hohloch C, Pantke P (2019): Die BRAF-Mutation im Übergangszellkarzinom V595E – Untersuchungen zur Rassedisposition von Terriern. *Kleintiermed* 19(1): 30–33.
- Blackburn AL, Berent AC, Weisse CW, Bronw DC (2013): Evaluation of outcome following urethral stent placement for the treatment of obstructive carcinoma of the urethra in dogs: 42 cases (2004–2008). *J Am Vet Med Assoc* 242: 59–68.
- Burgess KE, DeRegis CJ (2019): Urologic oncology. *Vet Clin Small Anim* 49: 311–323.
- Cabanillas ME, Danysh BP, Dadu R, Kopetz S, Falchook G (2015): BRAF inhibitors: Experience in thyroid cancer and general review of toxicity. *Horm Cancer* 6(1): 21–36.
- Cerf DJ, Lindquist EC (2012): Palliative ultrasound-guided endoscopic diode laser ablation of transitional cell carcinomas of the lower urinary tract in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 240(1): 51–60.
- Chew DJ, DiBartola SP, Schenk PA (eds.) (2011): Tumors of the urinary system. In: *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Elsevier Saunders, St. Louis, USA, 434–464.
- Decker B, Parker HG, Dhawan D, Kwon EM, Karlins E, Davis BW, Ramos-Vara JA, Bonney PL, McNiel EA, Knapp DW (2016): Homologous mutation to human BRAF V600E is common in naturally occurring canine bladder cancer – evidence for a relevant model system and urine-based diagnostic test. *Mol Cancer Res* 13(6): 993–1002.
- Dhawan D, Paoloni M, Shukradas S, Choudhury DR, Craig BA, Ramos-Vara JA, Hahn N, Bonney PL, Khanna C, Knapp DW (2015): Comparative gene expression analyses identify luminal and basal subtypes of canine invasive urothelial carcinoma that mimic patterns in human invasive bladder cancer. *PLoS One* 10(9): e0136688.
- Fulkerson CM, Knapp DW (2015): Management of transitional cell carcinoma of the urinary bladder in dogs: A review. *Vet J* 205: 217–225.



- Gutzmer R (2014): Malignes Melanom. Durchbruch in der Therapie. Dtsch Arztebl 111(45): 24–25.
- Iwasaki R, Shimosato Y, Yoshikawa R, Goto S, Yoshida K, Murakami M, Kawabe M, Sakai H, Mori T (2019): Survival analysis in dogs with urinary transitional cell carcinoma that underwent whole-body computed tomography at diagnosis. *Vet Comp Oncol* 17(3): 385–393. DOI 10.1111/vco.12483.
- Knapp DW, Glickman NW, Denicola DB, Bonney PL, Glickman LT (2000): Naturally-occurring canine transitional cell carcinoma of the urinary bladder. A relevant model of human invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 5: 47–59.
- Maeda S, Tomiyasu H, Tsuboi M, Inoue A, Ishihara G, Uchikai T, Chambers JK, Uchida K, Yonezawa T, Matsuki N (2018): Comprehensive gene expression analysis of canine invasive urothelial bladder carcinoma by RNA-Seq. *BMC Cancer* 18: 472–482.
- Meuten DJ, Meuten TLK (2017): Tumors of the Urinary System. In: Meuten DJ (ed.), *Tumors in Domestic Animals*. Ames, Iowa, USA, Wiley Blackwell, 632–688.
- Meyer P, Sergi C, Garbe C (2003): Polymorphisms of the BRAF gene predispose males to malignant melanoma. *J Carcinog* 2(1): 7–12.
- Mochizuki H, Breen M (2015): Comparative aspects of BRAF mutations in canine cancers. *Vet Sci* 2: 231–245.
- Mochizuki H, Kennedy K, Shapiro SG, Breen M (2015a): BRAF mutations in canine cancers. *PLoS One* 10(6): e0129534.
- Mochizuki H, Shapiro SG, Breen M (2015b): Detection of BRAF mutation in urine DNA as a molecular diagnostic for canine urothelial and prostatic carcinoma. *PLoS One* 10(12): e0144170.
- Morgan M, Forman M (2015): Cystoscopy in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 45: 665–701.
- Norris AM, Laing EJ, Valli VEO, Withrow SJ, Macy DW, Ogilvie GK, Tomlinson J, McCaw D, Pidgeon G, Jacobs RM (1992): Canine bladder and urethral tumors: A retrospective study of 115 cases (1980–1985). *J Vet Intern Med* 6: 145–153.
- Pantke P (2018): Diagnostik und Therapie des Übergangszellkarzinoms des unteren Harntrakts beim Hund. *Kleintierprax* 63: 76–92.
- Saeki K, Fujita A, Fujita N, Nakagawa T, Nishimura R (2015): Total cystectomy and subsequent urinary diversion to the prepuce or vagina in dogs with transitional cell carcinoma of the trigone area: A report of 10 cases (2005–2011). *Can Vet J* 56: 73–80.
- Schrempf DR, Childress MO, Stewart JC, Leach TN, Tan KM, Abbo AH, de Gortari AE, Bonney PL, Knapp DW (2013): Metronomic administration of chlorambucil for treatment of dogs with urinary bladder transitional cell carcinoma. *J Am Vet Med Assoc* 242: 1534–1538.
- Valli VE, Norris A, Jacobs RM, Laing E, Withrow S, Macy D, Tomlinson J, McCaw D, Ogilvie GK, Pidgeon G, Henderson RA (1995): Pathology of canine bladder and urethral cancer and correlation with tumour progression and survival. *J Comp Pathol* 113: 113–130.

Korrespondenzadresse

Dr. Dr. Peter Pantke
AniCura Bielefeld GmbH
Tierärztliche Klinik für Kleintiere
Bechterdisser Str. 6
33719 Bielefeld
peter.pantke@anicura.de