

Voortgangsrapport onderzoek kwaadaardige histiocytair tumoren

Inleiding

Al meer dan 10 jaar geleden werd uit onderzoek in Groot Brittanië (United Kingdom = UK) zichtbaar, dat kanker een belangrijke ziekte was bij de Flatcoated Retriever. Met name het optreden van histiocytair sarcoom / maligne histiocytose viel op: bij de meeste rassen is de kans van optreden van deze ziekte tijdens het leven van een dier kleiner dan 1:5000. Bij de Flatcoated retriever is de kans circa 1:10.

Twee jaar geleden werd een samenwerking tussen de universiteiten van Cambridge en Utrecht gesloten om gezamenlijk naar de genetische oorzaak te zoeken. Vanaf dat moment is er gehoor gegeven om patiënten en van veteranen aan te melden, met inbegrip van het doneren van bloed voor DNA-isolatie. Het steeds vaker zichtbaar worden van deze ziekte bij Flatcoats, leidde soms bij leden van de Flatcoated Retriever Club tot een gevoel van wanhoop: "hoe redden we dit ras?". Dat het een probleem is, moge duidelijk zijn. Aan de andere kant, andere ziekten die een gesel kunnen zijn bij bepaalde rassen, zoals aangeboren hart- of leveraandoeningen, komen bij de Flatcoat betrekkelijk zelden voor. En het is ook voor een "outsider" als ondergetekende, toch een veel te aardige hond om bij de pakken neer te gaan zitten.

Vooraf aan het geven van een rapport omtrent de stand van zaken van dit onderzoek, is het goed, om stil te staan bij oorzaken van kanker in het algemeen. Voor diegenen onder U die de Labrador Post lezen, zullen delen van de onderstaande tekst bekend aandoen.

Oorzaken van kanker

Een kwaadaardige tumor of kanker wordt gekenmerkt door de groei van cellen die schade aanrichten, door ingroei en vernieling van normaal weefsel, en in sommige gevallen ook door de vorming van uitzaaiingen. Voordat een kanker tot ontwikkeling komt, is er in de cellen altijd sprake van schade aan het erfelijk materiaal (de genen, bestaande uit DNA, en welke liggen op chromosomen). Dergelijke DNA-schade kan worden veroorzaakt door invloeden van buiten (UV-straling, röntgenstraling, rook, sommige virussen) maar kan ook spontaan voorkomen. In het laatste geval wordt bij een celdeling een fout gemaakt bij de verdubbeling van het DNA. Er ontstaat een spontane mutatie (=verandering). Zie het als een weeffout in een groot tapijt. Meestal worden dergelijke mutaties gerepareerd. Soms blijven ze onopgemerkt voor de in de cel aanwezige "bewakingscamera's". Als een dergelijke mutatie dan ook nog ligt op een voor de celgroei kritische plek, is het risico groot dat de cel ontspoot en zich tot tumorcel ontwikkelt.

De meeste mutaties ontstaan in lichaamscellen van een individu na de geboorte, spontaan of door factoren van buiten veroorzaakt. Denk bijvoorbeeld aan de gevolgen voor nakomelingen van mensen en "niet te vergeten" dieren, die zijn blootgesteld aan radioactiviteit in de buurt van Tsjernobyl! Daar was immers in 1986 een groot ongeluk met een kerncentrale.

De tumoren die het gevolg zijn van schade van buiten, of van spontane productiefouten, kunnen worden beschouwd als gevolg van toeval oftewel "domme pech".

Af en toe ontstaan mutaties in kiemcellen bij een individu. Als dit individu, mens of dier, zich gaat voortplanten, zal hij/zij aan de nazaten de helft van de chromosomen leveren, voorzien van deze fout. De andere helft komt van een partner, en meestal zonder deze fout. In de zeldzame gevallen dat van beide ouders een zelfde fout gen geërfd wordt, zal de ontwikkeling van de nakomelingen al tijdens de zwangerschap spaak lopen, en leiden tot abortus / sterfte. Toch is er een groot risico verbonden aan een kiemcelmutatie op een chromosoom afkomstig van één van beide ouders, ook als de chromosomen van de andere ouder foutloos zijn .

Hoe komt dit? Tijdens de groei van mens en dier, vinden er duizenden en duizenden celdelingen plaats. En de kans dat er ergens weer een vergelijkbare 'weeffout wordt gemaakt' in één van de gevormde dochtercellen is bijna 100%. En dan komt er trammelant: zo'n cel is dus dubbelfout, en kent een groot risico zich tot tumorcel te ontwikkelen. Bij de mens wordt geschat dat zo'n 5-10% van alle tumoren op een erfelijke aanleg berust, door een mutatie in een kiemcel, die bij de helft van de nakomelingen terecht komt. Bij de hond zou dat percentage bij sommige rassen wel eens een stuk hoger kunnen zijn.

Ga met mij mee terug in de tijd: met regelmaat is er al in het verre verleden sprake van het ontstaan van kiemcelmutaties, in een voorouder van nu rondlopende honden. Tumoren zullen er zelden het gevolg van zijn geweest, want deze voorouders werden niet oud. In de huidige tijd worden honden aanmerkelijk ouder. Deze factor alleen zou leiden tot een beperkt percentage dieren dat een tumor krijgt, als gevolg van een erfelijke aanleg. Een werkelijk probleem ontstaat pas, als een dier duchtig de kans heeft gekregen om zich voort te planten. Dit geldt met name de reu, die in potentie de meeste nakomelingen kan krijgen, vergeleken met de teef. Frequent gebruik van een beperkt aantal reuen voor de fok levert altijd gevaren op, soms terug te voeren op een 'flessenhals' in de populatie. Als door oorzaken als oorlog of ziekte de populatie van een ras in ingestort, en bij het weder opbouwen gebruik wordt gemaakt van, bijvoorbeeld, 5-8 reuen, is er een grote kans op het optreden van rasgebonden ziekten. Dat kan zijn een hartziekte of oogaandoening, maar soms is dat kanker.

Bij verscheidene hondenrassen komt kanker meer voor dan bij de 'gemiddelde' hond. Vaak betreft dit één type kanker. Bekend is dit bij de boxer, de Flatcoated retriever en de Berner Sennenhond. Bij de laatste twee rassen zijn de, bij andere rassen vrij zeldzame histiocytaire sarcomen (kwaadaardige tumor van opruimcellen), tot een plaag geworden, waar 10% of meer van de dieren mee te maken zal krijgen. Een bijzondere vorm van dit histiocytaire sarcoom (HS) blijkt bij de eerste symptomen al in meer organen (milt, lever, longen, etcetera) aanwezig te zijn, en wordt dan maligne histiocytose (MH) genoemd. Minder vaak dan bij de Berner Sennenhond en de Flatcoated retriever, maar vaker dan bij overige rassen, wordt HS/MH ook bij Rottweilers en Golden retrievers gezien. De eerste voorzichtige veronderstellingen op basis van tot nog toe uitgevoerd onderzoek, suggereren dat de genetische basis bij de Berner Sennenhond wel eens dezelfde zou kunnen zijn als bij de Rottweiler, en verschilt van de basis bij de Flatcoat. Als deze veronderstelling klopt, dan hebben we te maken met een aanleg ontstaan in een ver verleden. Een vroege voorouder werd hiermee opgezaaid, die een bijdrage leverde aan de later ontstane Berner Sennenhond en de Rottweiler. Dat moet ergens in de tijd geweest zijn dat de Kaninefaten (tegenwoordig genoemd Cananefaten) aan het bakkeleien waren met de Friezen.

Wat zijn kenmerken bij een tumorziekte, die de kans vergroten dat er een erfelijke, overdraagbare achtergrond bestaat:

- (1) jongere leeftijd van optreden dan gemiddeld,*
- (2) relatief hoge agressiviteit,*
- (3) meer leden in de familie die een dergelijke tumor ontwikkelen en*
- (4) meer tumoren van het zelfde of een verwant type bij een en dezelfde patiënt.*

Voor HS/MH bij de Flatcoated Retriever is zeker, dat een erfelijke aanleg bestaat. Een grote vraag is dan, hoe aan te kijken naar een dier dat deze ziekte pas krijgt op hogere leeftijd, bijvoorbeeld 10 jaar. Het zou kunnen, dat bij een dergelijk dier naast de aanleg op HS/MH, een andere factor aanwezig is, die vertragend werkt. Ook hier zal de komende tijd aandacht aan besteed worden.

Stand van zaken november 2007

In het databestand van de UKG zijn op dit moment opgenomen 106 Flatcoated retriever met een tumor, die in eerste instantie aanleiding gaf te denken aan HS/MH. Bij een aantal dieren was geen mogelijkheid tot nadere typering via weefselonderzoek, of er werden andere tumoren gevonden. Van 65 dieren is de mate van zekerheid erg hoog, dat er sprake was van HS/MH. Bij andere dieren was er twijfel: sommige tumoren zijn meesters in camouflage, en zijn niet meer terug te herleiden tot een bepaald type. Voor deze patiënten geldt dan de categorie: onbekend type. Niet van alle dieren was bloed ingestuurd, of lukte de DNA isolatie niet. Van een tiental moet de analyse nog plaats vinden. Blijft over een groep van 45 dieren met HS/MH uit Nederland, waar op dit moment DNA van is onderzocht.

Naast de tumoren, zijn er gezonde veteranen > 9 jaar. Van een totale groep van bijna 30 dieren, waarvan bloed is opgestuurd, bleken later enkele aan tumoren te zijn overleden, of aan omstandigheden die lijken op HS/MH, en andere zijn nog geen 9 jaar. Resteert 12 dieren > 9 jaar die tijdens de 'follow-up' vrij bleven van (verdenking op) HS/MH.

Voor de technisch geïnteresseerden, volgt hier nog een uitleg van de methode om het genoom te onderzoeken, via een 'genoom-scan'.

Genoom-scan

Nog even ter herinnering: hoe is het DNA is opgebouwd?: met slechts 4 basale bestanddelen (basen), bekend onder de afkorting A, C, G en T. Zelfs met een stukje DNA van maar 10 of 12 basen, heb je al een gigantisch aantal mogelijkheden, hoe een dergelijke stukje kan zijn samengesteld. Ten tweede, DNA bestaat uit 2 strengen. Tegenover een A komt een T te liggen, tegenover een C komt een G. En nu komt het: in het laboratorium wordt een groot aantal variable DNA stukjes (genaamd: microsatelliet-markers) gemaakt, en gekeken wordt dan of en waar deze plakken aan het complementair stuk enkelstrengs gemaakt DNA van een ziek of controle-dier. (In detail: de marker AACGCTACGA plakt aan TTGCGATGCT, terwijl een niet verwant dier op die plek een stuk DNA met volgorde TTACGATGCT heeft dat herkend wordt door de marker AATGCTACGA. Voor het onderzoek werd tot dusverre gebruik gemaakt van een scan met zo'n 400 markers.

Een verdere beschrijving (vertaling GRR) is van de hand van Dr. Dave Sargan, die samen met de promovendus Jesus Aguirre, in Cambridge de genetische analyse doet. Het is verbazingwekkend, hoe simpel en helder de beschrijving van een dergelijke analyse is, vooral in het geval je geneticus bent. Een korte samenvatting vindt U hier in de Koerier; een meer uitgebreid verslag op de website.

Om vast te stellen of een bepaald gen werkelijk verbonden ('geassocieerd') is met HS/MH binnen de Flatcoated Retrievers, is het DNA van dieren die waren getroffen door deze ziekte, vergeleken met DNA van dieren uit een kanker-vrije veteraan controle groep.

In het begin van de studie wordt gebruik gemaakt van variabele DNA segmenten, die bekend staan bij de insider als 'microsatellieten', welke op regelmatige afstanden verspreid liggen 'over de landkaart' van het genoom. Deze microsatellieten kunnen in lengte verschillen tussen verschillende individuen. Aan de andere kant hebben individuen die met elkaar verwant zijn, ook over vele generaties gerekend, dezelfde lengte van dergelijke microsatellieten. Een bepaalde vorm (lengte) van zo'n microsatelliet kan dus gebruikt worden als vlaggetje

(‘marker’) op de landkaart van het erfelijk materiaal. Nauw verwante dieren hebben een zelfde kleur en patroon van dergelijke vlaggen. Minder verwante dieren kunnen een andere kleur of patroon hebben. Als er 2 lengtes van een bepaalde microsatelliet zijn, wordt er gesproken van 2 verschillende allelen. In simpeler beeld-taal: de vlag van Nederland qua patroon, maar de één met rood-wit-blauw, de ander met oranje-blauw-bleu. De laatste dus herhaald gewassen met een niet kleur-echt wasmiddel.

Stel een dier heeft een microsatelliet ACCAATCCTG op een bepaald chromosoom binnen een bepaalde regio. Als een gen-mutatie plaats vindt in de buurt van genoemde microsatelliet, blijft er over, bij verspreiding door voortplanting over de populatie - vele generaties een verbinding aanwezig tussen deze mutatie en deze microsatelliet.

Hierop berust de verwachting dat dieren die drager zijn van het predisponerende gen (dat de aanleg geeft) een zelfde lengte van de microsatelliet hebben in de regio vlakbij dit gen.

In de beginfase van de studie werden iets meer dan 400 microsatellieten gebruikt, om het DNA van 34 dieren met HS/MH dieren en 70 controle honden van 7 jaar of ouder te vergelijken. (Hoe meer dieren gebruikt worden, des te makkelijker wordt het om zekerheid te verkrijgen of een verschillende lengte van een microsatelliet een werkelijke koppeling met de ziekte aangeeft en niet op toeval berust.)

Deze eerste analyse bracht gebieden op 6 verschillende chromosomen in beeld, waarbij er verschil was in de (microsatelliet) allelen tussen dieren met HS/MH en controle dieren. Een kansberekening gaf aan, dat de kans dat dit toch slechts toeval was kleiner was dan 1 procent. Om de zekerheid groot te houden dat de resultaten werkelijk van betekenis waren, werden alleen dieren gebruikt, waarbij een patholoog had verklaard dat de kanker werkelijk een kwaadaardige histiocyttaire tumor was.

Na een interne discussie werden de regels nog verder aangescherpt met betrekking tot de classificatie. Dit had tot gevolg dat enkele dieren uit de oorspronkelijke HS/MH groep terzijde werden gezet, maar- dankzij voortgezette inzameling - werd een nieuwe analyse doorgevoerd met 63 dieren met HS/MH (inclusief 36 dieren die nog niet waren geanalyseerd), en 57 controles, dit keer alleen van 9 jaar of ouder.

Van al deze dieren werd opnieuw een ‘genoom-scan’ uitgevoerd, met toevoeging van extra markers in elk gebied dat eerder verschil had aangegeven. Dit heeft ertoe geleid dat één enkele regio van 2.8 Mbp (met 2.8 x 100.000 base-paren) op één bepaald chromosoom eruit sprong. De kans dat dit resultaat toch slechts op toeval berust, werd berekend als minder dan 1 promille. En daarmee spreken we van een associatie tussen dit allel en de aanwezigheid van HS/MH. Dit kan nog niet gebruikt worden als bloedtest met voorspellende waarde, aangezien ook een aantal dieren zonder kanker dit allel bezitten. Anderzijds geeft dit resultaat de mogelijkheid genen in dit gebied met meer precisie genen aan een onderzoek te onderwerpen. Twee van de in dit gebied aanwezige genen zijn eerder in verband gebracht met kanker.

Deze genen worden nu geanalyseerd op verschil in base-volgorde (sequentie), dat verschil in functie zou kunnen veroorzaken.

(Als een extra bevinding van de studie, werd gezien dat vele honden een voorgeschiedenis hadden van het goedaardige histiocytroom. Dit was aanvankelijk aanleiding ze buiten de studie te houden. Immers, in aanvang werd met de mogelijkheid rekening gehouden dat de goedaardige en kwaadaardige tumor iets gemeenschappelijks hadden in het ontstaan. Dit is evenwel gebleken niet het geval te zijn, maar als ‘bijvangst’ van de studie is er wel een gebied zichtbaar geworden dat mogelijk een verhoogd risico op deze goedaardige tumorvorm veroorzaakt.)

De bijdragen van eigenaars uit Nederland zijn van onschatbare waarde gebleken voor deze studies. Van de in totaal 151 dieren die tot dusverre gebruikt zijn in de analyses, zijn er 57 uit Nederland. Zonder deze inbreng, hadden we op dit moment nog geen kandidaat regio hebben gevonden voor de ziekte HS/MH bij de Flatcoated Retriever.

Noot GRR:

Intussen zijn van plm 12 dieren met HS/MH en een 8-tal controles > 9 jaar DNA isolaties uitgevoerd, hetwelk op korte termijn zal worden toegevoegd aan de serie. Voor verdere karakterisering van het gen of de genen, blijft inzending van nieuwe dieren van beide groepen essentieel.

Toevoeging: ook als de diagnose hemangiosarcoom, dan wel maligne lymfoom is gesteld, ontvangen we graag rapport, bloed en copie stamboom. Dit om uit te maken of deze tumorvorm ook op erfelijke basis berust.

Tot slot een oproep tot steun:

Onderzoek naar de oorzaken van kanker bij de hond

Al een aantal jaren vindt er op de Universiteitskliniek in Utrecht onderzoek plaats naar de oorzaken van verscheidene tumorziekten. Op dit moment zijn er zijn voluit voorbereidingen gaande om dit wetenschappelijk onderzoek - in internationaal verband - uit te breiden.

Speciale aandacht zullen krijgen bindweefsel tumoren (sarcomen), melanomen, lymfklierkanker (maligne lymfoom), en melkklierkanker.

Er is een groot samenwerkingsverband opgezet van onderzoeksinstituten in de VS, en uit verscheidene Europese landen, waaronder Nederland, met het doel tot uitwisseling te komen van gegevens en weefsels.

Het doel is om rasgebonden aanleg in het optreden van bepaalde tumoren te karakteriseren en oorzakelijke genen in kaart te brengen. Dit kan helpen bij het opzetten van preventieprogramma's, maar ook bij het ontwikkelen van betere behandelingen.

Tevens kan - door analyse van spontane tumorziekten, voortvloeiend uit de reguliere patiëntenzorg voor dieren -, dergelijk onderzoek het proefdiergebruik doen minderen. Nieuwe inzichten kunnen de diergeneeskundige zorg verbeteren, en ook waardevolle informatie opleveren voor kanker bij de mens.

Er liggen op dit moment aanvragen voor subsidie bij de EU en specifieke fondsen die onderzoek van ziekten bij de hond bevorderen. Van de EU is 2 maanden geleden bericht gekomen dat bovengenoemd onderzoek gesteund zal gaan worden (periode 2008 t/m 2011). De verwachting is dat hiermee kan worden voorzien in een aanmerkelijk deel van de kosten van dergelijk onderzoek, maar dat voor zeker 40% nog extra financiën nodig zullen zijn.

Graag vraag ik lezers om in overweging te nemen het tumoronderzoek te steunen. Dit kan via een bijdrage aan de Stichting Diergeneeskundig Onderzoek Gezelschapsdieren (www.StichtingDOG.nl) op bankrekening nummer: 69 94 11 114, tnv Stichting D.O.G, Utrecht, onder vermelding van:

- gift Onderzoek Achtergrond Tumoren (afgekort: OAT). Voor vragen hierover kunt U ook contact opnemen met: gezelschapsdieren@uu.nl of via een brief naar Oncologie, UKG, Postbus 80.154, 3508 TD, Utrecht

U kunt ook gebruik maken van het ingevoegde machtigingsformulier.

Dr. G.R. Rutteman, specialist veterinaire oncologie

*Universiteitskliniek Gezelschapsdieren, Utrecht en
Veterinair Specialisten Centrum De Wagenrenk, Wageningen*