

Diagnostic cytopathologique et histopathologique : conséquences pronostiques

J. ABADIE, DV, PhD, Dip. ECVP, DESV APV,
Unité Histologie-Anatomie Pathologique,
Laboratoire d'Histopathologie Animale,
Oniris, BP 40706 - 44307 Nantes cedex 03

F. DEGORCE-RUBIALES, DV, DESV APV
Laboratoire d'Anatomie Pathologique
du Sud Ouest
129 route de Blagnac - 31201 Toulouse cedex 2

OBJECTIFS PÉDAGOGIQUES

Connaître la place et l'apport potentiel des différentes techniques du laboratoire d'anatomie pathologique (grading histologique conventionnel, immunohistochimie Ki67, biologie moléculaire...) pour définir le pronostic du mastocytome cutané canin et son traitement le plus adapté.

RÉSUMÉ

Le mastocytome cutané canin bénéficie fortement du recours au laboratoire d'histopathologie. L'examen cytopathologique d'une lésion suspecte et des organes cibles de métastases (dont le ganglion drainant) permet diagnostic et bilan d'extension. L'histopathologie, par le grading de Patnaik ou Kiupel, l'examen des marges et la détermination de l'index mitotique, fournit des critères pronostiques majeurs. L'index de prolifération Ki67 et la mise en évidence de mutation du gène c-kit bénéficient au choix d'éventuelles thérapies adjuvantes adaptées.

CRÉDITS DE FORMATION CONTINUE

La lecture de cet article ouvre droit à 0,05 CFC. La déclaration de lecture, individuelle et volontaire, est à effectuer auprès du CNVFCC (cf. sommaire).

Le mastocytome cutané canin (MCC) est la tumeur pour laquelle l'examen microscopique, éventuellement complété par l'apport de l'immunohistochimie et de la biologie moléculaire, apporte les informations les plus décisives pour en définir le pronostic spontané ou sous traitement.

Le mastocytome cutané du Chien est, du fait de sa fréquence et de son comportement biologique souvent imprévisible, l'un des types tumoraux pour lequel la recherche de marqueurs diagnostiques et surtout pronostiques a donné lieu à des études parmi les plus nombreuses de l'oncologie vétérinaire.

L'objet de ce consensus, issu de l'examen critique de la littérature la plus récente, est de préciser l'intérêt raisonné du recours au laboratoire d'anatomie pathologique vétérinaire afin de contribuer à prévoir l'évolution spontanée et le sous traitement de cette tumeur.

L'apport de l'ensemble des techniques classiques et complémentaires de l'histologie conventionnelle (telle que l'immunohistochimie et la biologie moléculaire sur blocs paraffinés) est présenté. □

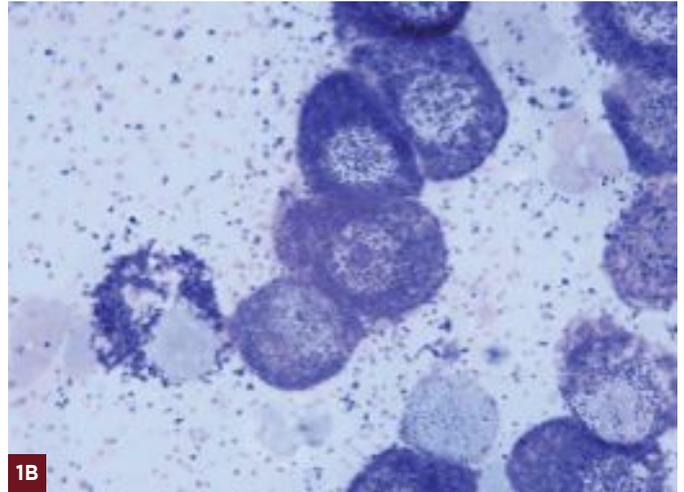
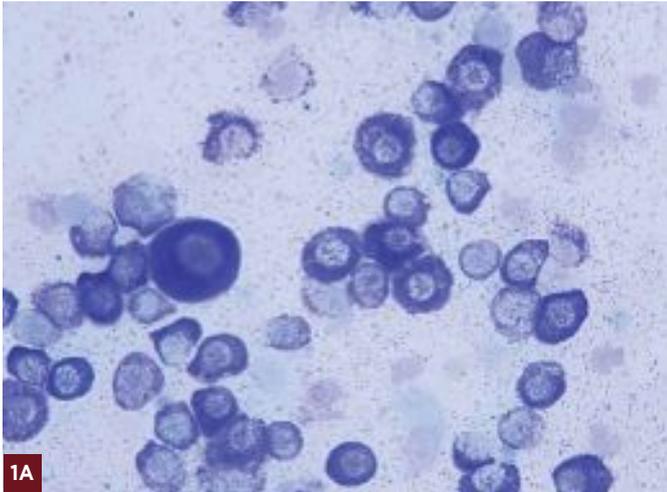
Quelle est la place de la cytologie dans le diagnostic et le pronostic du mastocytome canin ?

L'examen cytopathologique constitue une technique d'examen microscopique de choix dans deux circonstances principales : en préopératoire, face à une lésion suspecte, pour obtenir un diagnostic précoce de tumeurs à mastocytes ; lors de la réalisation du bilan d'extension d'un mastocytome.

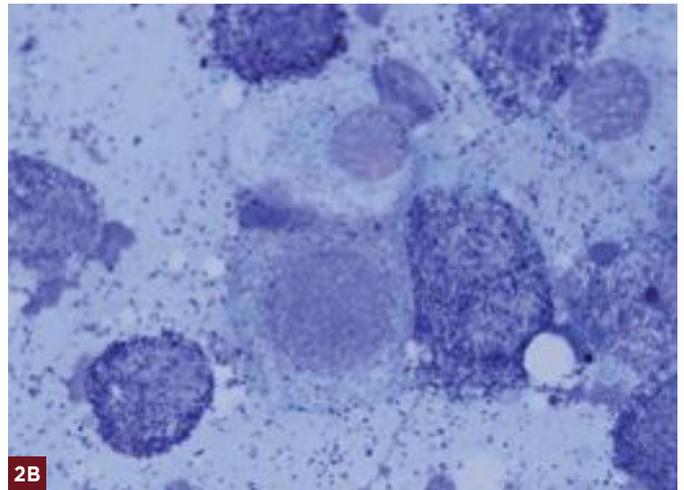
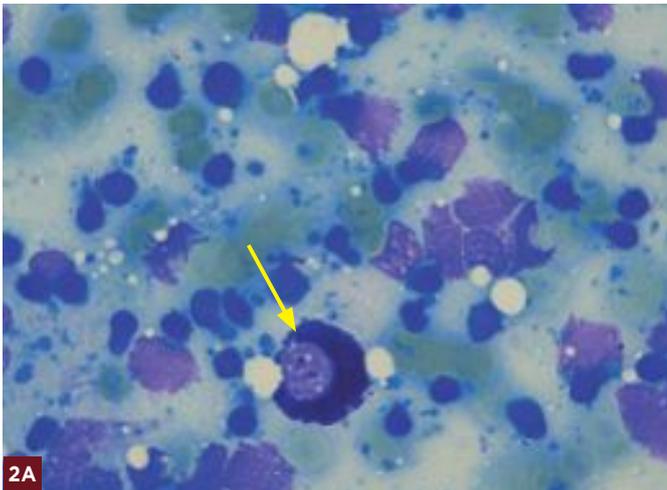
■ En préopératoire, l'examen cytopathologique d'un frottis de ponction à l'aiguille fine d'une masse tumorale pourra être envisagé avant toute exérèse chirurgicale, pour établir le diagnostic de mastocytome

et dans le but de prévoir l'ampleur de l'exérèse à effectuer (si l'accessibilité chirurgicale de la masse est convenable) ou de se diriger d'emblée vers un autre traitement le cas échéant (radiothérapie, thérapie ciblée...).

A noter toutefois que la cytologie n'est pas à l'heure actuelle un examen validé pour définir le pronostic des MCC, aucun système de grading cytopathologique n'ayant été pour l'heure consensuellement validé (PHOTOS 1). [Niveau de preuve : C]



Photos 1A et 1B. Cytoponction à l'aiguille fine d'un mastocytome cutané canin. Etalement de cellules rondes indépendantes dont le cytoplasme est riche en granulations pourprées, masquant souvent le noyau. 1A. Grossissement X400, MGG. 1B. Grossissement X1000, MGG.



Photos 2A et 2B. Cytoponction à l'aiguille fine d'un nœud lymphatique drainant un mastocytome cutané canin. 2A. Un mastocyte isolé granuleux différencié (flèche), lymphocentre réactionnel non métastatique. Grossissement X 400, MGG. 2B. Amas de mastocytes exprimant des atypies cyto-nucléaires, lymphocentre métastatique. Grossissement x 1000, MGG.

► **La cytologie est également utile pour effectuer le bilan d'extension d'un mastocytome**, en particulier pour sa première étape, qui doit être systématiquement réalisée en première intention, et qui correspond au bilan régional par cytoponction à l'aiguille fine du ganglion lymphatique (NL) de drainage, que celui-ci soit hypertrophié ou non. Pour l'interprétation de ce frottis, l'utilisation de la grille de lecture de Krick et coll [16] peut être proposée (ENCADRÉ 1). La valeur pronostique de cette grille de lecture devrait néanmoins être validée par des études complémentaires, ainsi que le nombre de lames cytologiques à réaliser pour cet examen. Dans les cas litigieux, l'exérèse du NL pour analyse histologique sera conseillée [3]. [Niveau de preuve : C]

En cas d'extension ganglionnaire régionale avérée, la cytologie peut également être utilisée pour l'évaluation du bilan d'extension à distance, à visée notamment de l'infiltration potentielle de la rate, du foie et de la moelle osseuse.

Dans le cas de l'interprétation de frottis de ponction splénique et hépatique, il n'existe pas de grille de lecture consensuelle. Lorsque l'examen cytologique détecte dans l'un ou l'autre de ces deux organes des mastocytes atypiques, *a fortiori* en très grand nombre, il n'y a pas d'ambiguïté et l'on peut conclure avec une très forte probabilité à une infiltration mastocytaire néoplasique. Lorsque les mastocytes sont bien différenciés et en nombre moins important, la conclusion de cet examen

s'avère plus délicate [31]. [Niveau de preuve : C]

Il peut être donc proposé les critères de lecture suivants :

■ **en faveur d'une infiltration métastatique du viscère hautement probable :**

- infiltration massive par des mastocytes même bien différenciés ;
- présence de mastocytes atypiques même en faible nombre.

■ **en faveur d'une suspicion d'infiltration métastatique :**

- lors de la mise en évidence d'amas de mastocytes bien différenciés.

Dans les cas litigieux, l'exérèse de la rate et la réalisation de biopsies hépatiques pour analyse histologique pourront être conseillées, mais doivent

être sans doute réservées, du fait d'un geste de prélèvement plus lourd, au cas où une extension à l'un ou l'autre de ces organes est probable, du fait par exemple d'une organomégalie diffuse massive et/ou d'une extension métastatique avérée dans plusieurs autres organes.

Pour ce qui concerne l'interprétation microscopique de la cytoponction de moelle osseuse lors du bilan d'extension d'un mastocytome, il peut être recommandé l'utilisation du comptage cellulaire suivant : la moelle doit être considérée comme infiltrée lorsque les mastocytes, même bien différenciés, représentent plus de 10 % de toutes les cellules nucléées ou s'ils sont atypiques et représentent plus de 5 % de toutes les cellules nucléées.

[Niveau de preuve : C] □

Encadré 1 : Interprétation cytologique de frottis de cytoponction à l'aiguille fine du ganglion lymphatique de drainage d'un mastocytome cutané. [Niveau de preuve : C]

- 0 mastocytes : **ganglion normal.**
- > 50 % petits lymphocytes avec polymphocytes, lymphoblastes, plasmocytes, quelques macrophages, polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et/ou de rares mastocytes isolés : **ganglion réactionnel avec hyperplasie lymphoïde.** (PHOTO 2A)
- sur au moins une lame, 2 ou 3 images d'agrégats mastocytaires de 2 ou 3 mastocytes : **NL avec possible métastase.**
- sur au moins une lame, > 3 images d'agrégats mastocytaires de 2 ou 3 mastocytes ET/OU 2 à 5 agrégats mastocytaires avec > 3 mastocytes : **NL avec métastase probable.**
- sur au moins une lame, remplacement du tissu lymphoïde par des mastocytes ET/OU présence d'agrégats de mastocytes peu différenciés avec pléomorphisme, anisocaryose, anisocytose ET/OU > 5 agrégats avec > 3 mastocytes : **NL métastatique.** (PHOTO 2B)

Quelle est la place de l'histologie dans le diagnostic et le pronostic du mastocytome canin ?

L'histologie est un examen incontournable pour confirmer un diagnostic de MCC et surtout pour en définir le pronostic spontané ou sous traitement.

Les systèmes de grading

La valeur pronostique de l'histopathologie tient à l'existence de systèmes de grading validés pour ce type tumoral, systèmes qui permettent, grâce à des critères morphologiques objectifs appréciables sur coupes histologiques, de distinguer différentes sous-populations de MCC de comportement biologique distinct. A noter que ces systèmes ont été définis sur des cohortes rétrospectives, traitées de façon homogène (exérèse chirurgicale seule).

L'histopathologie sur pièce d'exérèse permet en outre de définir le statut des marges opératoires susceptibles de conclure à la nature complète ou non de l'intervention et donc à la nécessité d'un traitement adjuvant à effet local.

> Le grading de Patnaik

Le système de grading le plus ancien et le plus utilisé aujourd'hui encore est le gra-

ding de Patnaik défini il y a près de 30 ans [21] (ENCADRÉ 2).

Ce système est, désormais, de plus en plus contesté car :

- Il est peu reproductible (le pourcentage de concordance entre histopathologistes est faible) [15,32] ;
- Il définit un grade intermédiaire, le grade II quantitativement majoritaire (40 à 60 % des MCC selon les séries), au sein duquel se retrouvent des mastocytomes ayant en réalité un comportement évolutif bien différent : pour ce grade en effet est rapportée dans l'étude de Patnaik, une « chance » sur deux de survie à 4 ans. après chirurgie seule. [Niveau de preuve : C]

Outre l'utilisation de techniques complémentaires à l'histologie, susceptibles de fournir des critères pronostiques objectifs (voir infra : Quelle est la place des techniques complémentaires de l'anatomie pathologique, telle que l'immunohistochimie, et de la biologie moléculaire sur blocs paraffinés, dans le diagnostic et le pronostic du mastocytome canin ?), des études récentes ont cherché à amé-

liorer la valeur prédictive de l'examen histopathologique conventionnel.

> L'index mitotique (IM)

Tout d'abord, plusieurs équipes se sont attachées à prouver la valeur pronostique de l'index mitotique (IM), indépendamment du grade histologique du mastocytome cutané [7,33].

Ces études valident que le critère de prolifération cellulaire est un facteur pronostique quantifiable de l'agressivité des MCC et sa mesure précise semble plus objective que certains autres critères morphologiques et pourrait limiter les différences d'interprétation de ces critères entre pathologistes.

La standardisation de son évaluation est cependant malaisée, du fait d'une difficulté parfois à la reconnaissance formelle des figures de mitose, par exemple lorsque les mastocytes sont très granuleux ou à noyaux fréquemment hyperchromatiques et condensés ou lorsque le mastocytome est accompagné de remaniements exsudatifs importants.

Dans ces cas en effet, les cellules tumo-

Encadré 2 : Critères du grading de Patnaik [21].

[Niveau de preuve : C]

■ **Grade I** (25 à 55 % de l'ensemble des mastocytomes) : infiltration tumorale limitée au derme. Cellules tumorales bien différenciées et ressemblant aux mastocytes normaux. Figures de mitoses rares, voire absentes. Contingent de polynucléaires éosinophiles souvent abondant. Stroma collagénique moyennement abondant. Quarante-vingt-quinze à 100 % de survie à 4 ans après exérèse chirurgicale.

■ **Grade II** (40 à 60 % de l'ensemble des mastocytomes) : tumeur composée de cellules arrangées en cordons et en amas mais dont la croissance est plus infiltrante, notamment vers le tissu conjonctif sous-cutané, et la densité plus élevée que les tumeurs de grade I.

Mastocytes tumoraux de plus grande taille, polymorphiques, montrant moins de granules cytoplasmiques, pourvus de noyaux plus grands et polymorphes avec des petits nucléoles. Activité mitotique faible à modérée.

Stroma et contingent d'éosinophiles souvent moins importants que dans les grades I.

Nécrose et ulcération secondaires souvent présentes. Quarante-quatre pour cent de survie à 4 ans après exérèse chirurgicale.

■ **Grade III** (15 à 40 % de l'ensemble des mastocytomes) : infiltration tumorale du derme, du tissu conjonctif sous-cutané et des plans profonds.

Cellules rondes à polygonales très fortement polymorphiques, faiblement granuleuses. Noyaux de grande taille, ronds à ovalaires avec nucléole souvent proéminent.

Activité mitotique modérée à élevée et mitoses atypiques parfois présentes. Remaniements intratumoraux œdémateux, hémorragiques et nécrotiques souvent présents. Six pour cent de survie à 4 ans après exérèse chirurgicale.

rales sont très dispersées dans une même unité de surface et la détermination peut alors être influencée par le mode de sélection des champs, le plan de section de la tumeur, le diamètre du champ HPF (*High Power Field* ou Champ au fort grossissement à l'objectif 40) du microscope utilisé par le pathologiste...

Il semble donc important de donner une valeur précise de l'IM (estimé sur 10 champs au fort grossissement à l'objectif 40 pour une surface totale définie et précisée), pour chaque tumeur lors de l'examen histologique. [Niveau de preuve : C].

> *Le grading de Kiupel*

Pour tenir compte des limites du grading de Patnaik et de l'importance de l'évaluation de l'activité proliférative dans le pronostic des MCC, Kiupel a très récemment défini un nouveau système de grading histopathologique reposant sur deux grades uniquement : un bas grade et un haut grade [15].

Ce grading présente les avantages d'être reproductible (avec plus de 90 % d'agrément entre pathologistes), d'être relativement facile à utiliser pour les pathologistes et de supprimer le grade intermédiaire majoritaire et dépourvu

de valeur pronostique (ENCADRÉ 3) (PHOTOS 3 ET 4).

Les chiens atteints d'un mastocytome cutané de bas grade selon Kiupel et coll présentent une médiane de survie de 23 mois contre 3,5 mois pour les chiens porteurs de tumeurs de haut grade.

Il pourrait donc paraître attractif d'abandonner le grading de Patnaik pour celui de Kiupel.

A noter cependant que, du fait de sa large utilisation et de son ancienneté, le grading de Patnaik reste le système de grading sur lequel s'appuie la totalité ou presque des études épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques consacrées au MCC.

Aussi, sa substitution par un autre système d'évaluation morphologique (par exemple le grading de Kiupel) devra passer par une phase de validation prospective et de redéfinition des critères d'inclusion dans les différents groupes thérapeutiques. [Niveau de preuve : C]

En outre, si les tumeurs de haut grade semblent incontestablement de très mauvais pronostic, la moitié des chiens porteurs de tumeurs de bas grade survivent moins de 24 mois, cette catégorie comprenant donc quelques tumeurs cliniquement péjoratives bien que classées en bas grade histologique.

Pour ce groupe donc des tumeurs de bas grade, et *a fortiori* celles donc l'in-

Encadré 3 : Critères du grading de Kiupel [15].

[Niveau de preuve : C]

Un mastocytome cutané canin sera classé en **haut grade de malignité histologique** s'il comporte au moins un des critères suivants :

■ un **index mitotique** ≥ 7 pour 10 HPF (*High Power Fields* ou Champs au fort grossissement à l'objectif 40) pour une surface totale de champs de 2,7 mm² (à corriger en fonction du diamètre de champ microscopique du microscope utilisé)

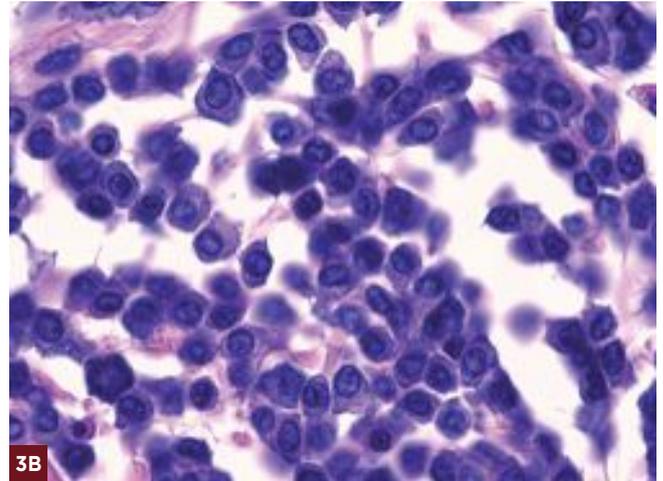
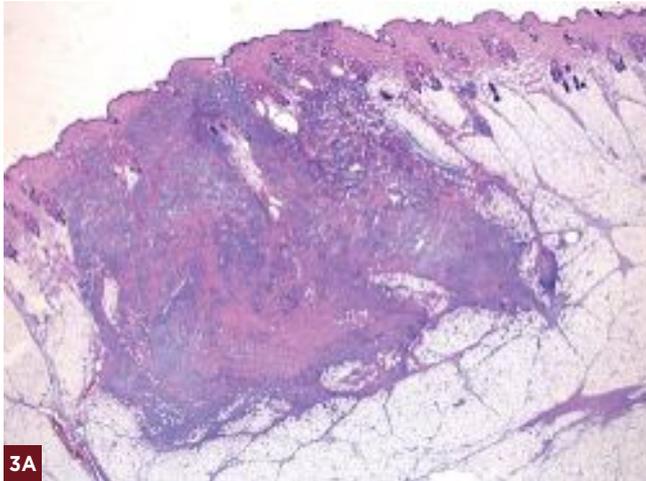
■ au moins **trois cellules multinucléées** (comportant 3 noyaux ou plus) sur 10 HPF

■ au moins **trois noyaux bizarres** (noyaux hautement atypiques avec indentations marquées, segmentation et contours irréguliers) sur 10 HPF

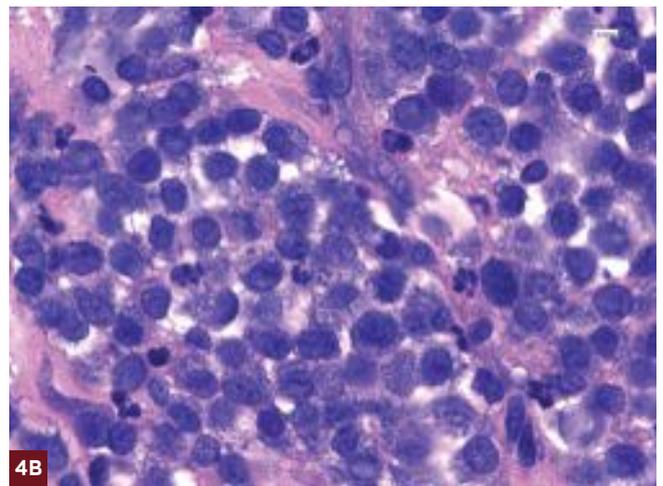
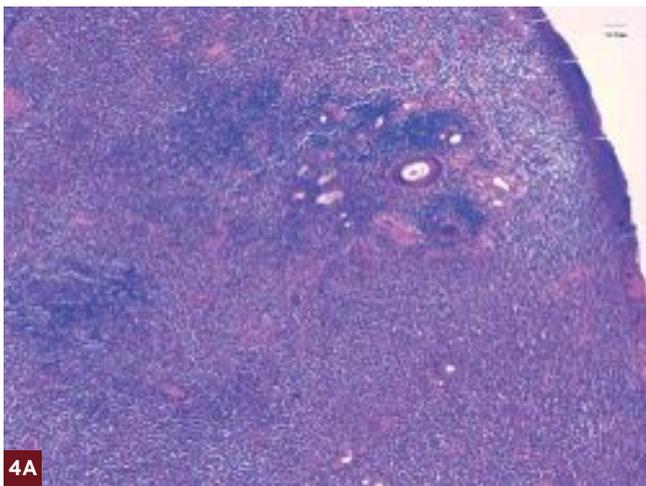
■ **caryomégalie** (diamètre nucléaire multiplié a minima par 2 sur au moins 10 % des cellules tumorales)

L'évaluation doit être effectuée au niveau des territoires les plus prolifératifs ou ceux présentant le plus haut degré d'atypies cytonucléaires.

Dans tous les autres cas, le mastocytome cutané canin sera classé en **bas grade de malignité histologique**.



Photos 3. Coupes histologiques de mastocytome cutané canin. Infiltration dermique et hypodermique par une population monomorphe de mastocytes tumoraux modérément atypiques et faiblement prolifératifs : tumeur de faible grade de malignité histologique (grade II de Patnaik et bas grade de Kiupel). **3A.** Grossissement X1 Hémalun Eosine. **3B.** Grossissement X1000, Hémalun Eosine.



Photos 4. Coupes histologiques de mastocytome cutané canin. Infiltration dermique et hypodermique par une population monomorphe de mastocytes tumoraux nettement atypiques et prolifératifs : tumeur de fort grade de malignité histologique (grade III de Patnaik et haut grade de Kiupel). **4A.** Grossissement X 40 Hémalun Eosine. **4B.** Grossissement X 1000, Hémalun Eosine.

dex mitotique ne sera pas nul, il pourra être utilement proposé de compléter l'examen histologique par un autre facteur pronostic objectif et indépendant, l'évaluation de l'index de prolifération tumoral Ki67 (voir *infra* : Quelle est la place des techniques complémentaires de l'anatomie pathologique, telle que l'immunohistochimie, et de la biologie moléculaire sur blocs paraffinés, dans le diagnostic et le pronostic du mastocytome canin ?). [Niveau de preuve : C]

Afin de donner tous les critères pronostiques morphologiques utiles, l'examen histologique doit selon nous impérativement donner :

■ *la localisation topographique (derme, derme et hypoderme, hypoderme, tissu conjonctif sous-cutané)* car le pronostic du mastocytome en dépend (voir *infra* : Les mastocytomes de localisation non strictement cutanée (mastocytome strictement sous-cutané et mastocytomes de localisation muqueuse. Quels facteurs pronostiques utiliser pour eux ?

■ *le grade histologique selon Patnaik et/ou désormais Kiupel ;*

■ *l'index mitotique précis pour 10 HPF sur une surface de champ microscopique précise en fonction du microscope utilisé par le pathologiste ;*

■ *le caractère et l'état infiltré ou sain des marges d'exérèse de la tumeur analysée avec si possible une distance chiffrée entre les marges et les cellules tumorales.*

[Niveau de preuve : C] □

Quelle est la place des techniques complémentaires de l'anatomie pathologie, telle que l'immunohistochimie, et celle de la biologie moléculaire sur blocs paraffinés, dans le diagnostic et le pronostic du mastocytome canin ?

L'immunohistochimie est une technique complémentaire à l'examen microscopique conventionnel permettant la mise en évidence dans un tissu de molécules dont la présence est révélée par la fixation à leur niveau d'anticorps spécifiquement dirigés contre ces molécules, anticorps couplés à un marqueur coloré.

Plusieurs marqueurs ont été proposés pour affiner/confirmé un diagnostic de MCC par immunohistochimie face à une tumeur de morphologie équivoque (enzyme tryptase, récepteur c-kit...) mais leur intérêt est limité car le diagnostic histologique de MCC n'est généralement pas problématique.

La détermination d'un index de prolifération par la détection immunohistochimique

En revanche, plusieurs études ont démontré l'intérêt pronostic de la détermination d'un index de prolifération par la détection immunohistochimique d'un marqueur spécifiquement exprimé dans les cellules tumorales en phase active de prolifération [1,7,15,27,30]. Parmi ces marqueurs, l'antigène Ki67 apparaît comme le plus fiable et utile, constituant

un marqueur pronostic indépendant (PHOTOS 5).

A noter qu'il existe des méthodes différentes de détermination de l'indice de prolifération (Ki67) selon les équipes (par exemple quantification par le nombre de cellules marquées par unité de surface dans la littérature outre-atlantique ; ou pourcentage de cellules immunopositives par rapport à la population tumorale totale, dans l'article princeps consacré au marqueur Ki67). [Niveau de preuve : C]

Les MCC étant susceptibles de présenter des densités cellulaires très variables et dans un souci de standardisation, l'évaluation en pourcentage sur les champs microscopiques les plus prolifératifs de la tumeur est à privilégier, sachant qu'en théorie chaque laboratoire devrait définir sa propre valeur seuil en fonction du protocole immunohistochimique précis qu'il utilise pour cette détermination.

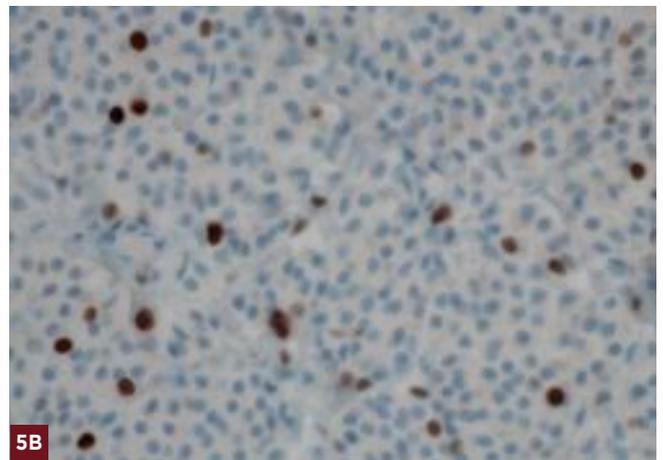
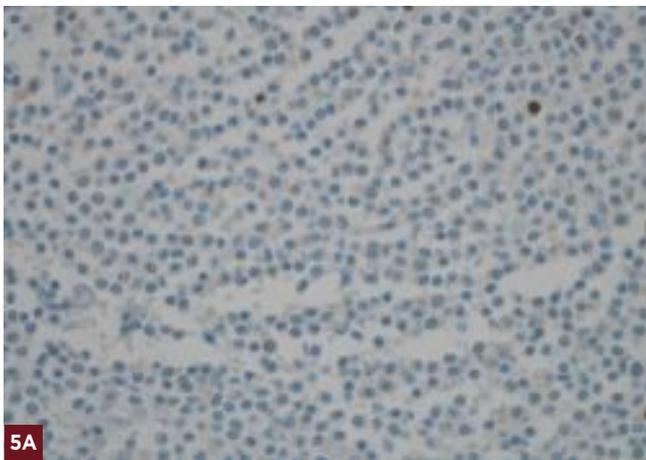
Les techniques de biologie moléculaire sur blocs paraffinés

Une autre procédure d'analyse complémentaire à visée pronostic et prédictive de la réponse thérapeutique est représentée par les techniques de biologie moléculaire sur blocs paraffinés

pouvant être utilisées à partir des mêmes prélèvements que ceux ayant servi à l'établissement du diagnostic histopathologique. Dans le cas des MCC, ces techniques visent, à partir de prélèvements tissulaires fixés au formol et inclus en paraffine, d'extraire l'ADN présent dans les cellules tumorales et de rechercher un certain type de mutation activatrice de l'oncogène c-kit, mutation retrouvée dans plus d'un quart des mastocytomes cutanés canins, et observée préférentiellement dans une région très précise du gène (mutation de type duplication interne en tandem de l'exon 11 du gène).

Cette détection a un intérêt pronostic, car sa présence est corrélée à un comportement d'agressivité tumorale majorée, la présence d'une mutation du gène c-kit étant significativement associée à une augmentation de la mortalité des chiens atteints d'un mastocytome [34, 35]. [Niveau de preuve : C]

Par ailleurs, cette détection a un intérêt dans la démarche thérapeutique, puisque les inhibiteurs de c-kit sont particulièrement adaptés et efficaces sur ces tumeurs "mutées". □



Photos 5. Coupes de mastocytomes cutanés canins soumis à détection immunohistochimique du marqueur de prolifération Ki-67. Présence de mastocytes tumoraux en prolifération, qui expriment le marqueur révélé par immunomarquage de couleur marron de leur noyau.

5A. Tumeur à index de prolifération Ki-67 inférieur à 10 % (X 20). 5B. Tumeur à index de prolifération Ki-67 supérieur à 10 % (X 20).

Les mastocytomes de localisation non strictement cutanée (mastocytome strictement sous-cutané et mastocytomes de localisation muqueuse ou cutanéomuqueuse) ont-ils un comportement différent ? Quels facteurs pronostiques utiliser pour eux ?

■ *Les mastocytomes sous-cutanés semblent constituer une entité spécifique, cliniquement distincte des MCC et pour laquelle les systèmes de grading histologiques utilisés pour les MCC ne sont pas pertinents [27,36].*

Leur pronostic serait globalement meilleur que pour les mastocytomes cutanés et pourrait, pour le plus grand nombre d'entre eux, ne nécessiter qu'un traitement chirurgical : le taux de survie post-chirurgical est de 86 % à 5 ans, l'incidence métastatique rapportée est de 4 % et le taux de récurrence de 8 %.

Pour prédire les tumeurs sous-cutanées agressives, l'index mitotique semble être un critère pronostique indépendant et donc, comme pour les mastocytomes cutanés, la mesure de l'index de prolifé-

ration par le marquage de l'épitope Ki-67 pourrait s'avérer intéressante pour prédire le comportement de la tumeur de façon objective. [Niveau de preuve : C]

■ *Pour ce qui concerne les mastocytomes localisés aux jonctions cutanéomuqueuses, il est rapporté un comportement d'agressivité globalement majoré par rapport aux tumeurs de localisation cutanée stricte [37].*

Cependant aucune étude n'a confirmé l'intérêt, sur les tumeurs cutanéomuqueuses, de l'évaluation des paramètres qui présentent une valeur pronostique dans le cas des MCC, soit le grading de Patnaik, le grading de Kiupel, l'activité mitotique ou l'index de prolifération. [Niveau de preuve : C] □

MÉMO

- La cytologie est l'examen de choix pour le diagnostic précoce et le bilan d'extension des MCC.
- Plusieurs systèmes de grading histologique permettent de préciser le pronostic des MCC : celui de Patnaik, dont la limite vient de l'existence d'un grade intermédiaire de pronostic incertain, pourrait être remplacé prochainement par celui de Kiupel à deux grades uniquement.
- L'activité proliférative constitue le critère pronostique microscopique le plus fiable et le calcul de l'index de prolifération Ki67 en permet l'évaluation objective.

>>> A LIRE

31. Book AP et coll. Correlation of ultrasound findings, liver and spleen cytology, and prognosis in the clinical staging of high metastatic risk canine mast cell tumors. *Vet Radiol Ultrasound*. 2011 ; 52 : 548-54. [EBM : 4c]
32. Northrup NC et coll. Variation among pathologists in the histologic grading of canine cutaneous mast cell tumors with uniform use of a single grading reference. *J Vet Diag Invest*. 2005 ; 17 : 561-4. [EBM : 4a]
33. Romansk EM et coll. Mitotic index is predictive for survival for canine cutaneous mast cell tumors. *Vet Pathol*. 2007 ; 44 : 335-41. [EBM : 4a]
34. Webster JD et coll. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors : associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol*. 2007 ; 44 : 298-308. [EBM : 4b]
35. Webster JD et coll. The role of c-KIT in tumorigenesis : evaluation in canine cutaneous mast cell tumors. *Neoplasia*. 2006 ; 8 : 104-11. [EBM : 4c]
36. Thompson JJ et coll. Canine subcutaneous mast cell tumor : characterization and prognostic indices. *Vet Pathol*. 2011 ; 48 : 156-68. [EBM : 4a]
37. Hillman LA et coll. Biological behavior of oral and perioral mast cell tumors in dogs. *J Amer Vet Med Assoc*. 2010 ; 237 : 936-42. [EBM : 4b]