

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013- 2014

**Retrospectieve studie naar de uitkomst van behandeling van  
equine sarcoïden**

door

Cindy VAN AERT

Promotoren: Dr. M. Haspeslagh  
Prof. dr. A. Martens

Onderzoek in het kader  
van de Masterproef  
© 2014 *Cindy van Aert*



## Vrijwaringsclausule

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.*

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.*

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2013- 2014

**Retrospectieve studie naar de uitkomst van behandeling van  
equine sarcoïden**

door

Cindy VAN AERT

Promotoren: Dr. M. Haspeslagh  
Prof. dr. A. Martens

Onderzoek in het kader  
van de Masterproef  
© 2014 *Cindy van Aert*

## Voorwoord

Bij deze wil ik iedereen bedanken die heeft bijgedragen aan het tot stand komen van deze masterproef.

In eerste instantie wil ik mijn promotor Dr. M. Haspeslagh bedanken. De tot stand koming van deze masterproef was niet mogelijk geweest zonder zijn hulp, tips en uitleg. Verder wil ik hem ook bedanken voor het verschaffen van enkele artikelen en het snelle verbeteren van mijn teksten.

Ook mijn co-promotor Prof. dr. A. Martens zou ik willen bedanken voor haar ondersteuning op verschillende momenten in het proces.

Verder wil ik mijn moeder, Rian Groffen en mijn broer, Robbie van Aert bedanken voor de morele steun tijdens het schrijven van deze masterproef en voor het doorlezen van de tekst en de kritische opmerkingen.

# Inhoudsopgave

VOORBLAD	
TITELBLAD	
VOORWOORD	
INHOUDSOPGAVE	
SAMENVATTING.....	1
INLEIDING.....	2
LITERATUURSTUDIE.....	3
1. Etiologie en voorkomen.....	3
2. Symptomen.....	5
2.1 Occult sarcoïd.....	6
2.2 Verruceus sarcoïd.....	6
2.3 Nodulair sarcoïd.....	7
2.4 Fibroblastisch sarcoïd.....	7
2.5 Gemengd sarcoïd.....	7
2.6 Kwaadaardig sarcoïd.....	7
3. Diagnose.....	8
4. Behandeling.....	10
4.1 Chirurgische excisie.....	10
4.2 Cryochirurgie.....	12
4.3 Radiotherapie.....	13
4.4 Chemotherapie.....	14
4.4.1 Intratumorale chemotherapie.....	14
4.4.2 Topicale chemotherapie.....	16
4.5 Immunotherapie.....	17
4.5.1 BCG.....	17
4.5.2 Topicale immunotherapie.....	19
4.5.3 Vaccinatie.....	20
4.5.4 Overige.....	20
4.6 Antivirale therapie – acyclovir.....	20
5. Prognose.....	22
6. Preventie.....	23
MATERIAAL EN METHODEN.....	24
RESULTATEN.....	25
BESPREKING.....	36
REFERENTIELIJST.....	39
BIJLAGEN.....	43

## Samenvatting

Binnen deze retrospectieve studie werd een overzicht gemaakt van alle behandelde equine sarcoïden op de faculteit diergeneeskunde van de Universiteit Gent vanaf 2008 tot 2014 en de resultaten van die behandelingen. Deze studie is opgezet om meer inzicht te verwerven in de slaagkansen van de verschillende behandelmethodes, om de patiënten met dit type tumoren zo adequaat mogelijk te kunnen behandelen.

Uit deze studie is gebleken dat ongeveer 3 op 4 sarcoïden verdwijnen na behandeling, terwijl 68 % van de behandelde paarden volledig vrij werd van sarcoïden. De meest succesvolle behandelmethode was excisie met 87,75 % gunstige resultaten. De minst succesvolle behandeling was BCG vaccinatie met 48,28 % gunstige resultaten. Er werd eveneens aangetoond dat een behandeling met immunostimulerende middelen elders op het lichaam leidt tot significant meer gunstige resultaten bij de behandeling van sarcoïden.

Van de verschillende types sarcoïden bleek het verruceus type het vaakst tot een gunstig resultaat te leiden, terwijl gemengde sarcoïden het vaakst aanleiding gaven tot een ongunstig resultaat.

Er werd aangetoond dat kleine sarcoïden vaker met een gunstig resultaat behandeld worden dan middelgrote sarcoïden. Wellicht kan men stellen dat hoe groter het sarcoïd, hoe minder kans op een gunstig resultaat. Dit moet echter nog verder onderzocht worden, want in de groep met grote sarcoïden kwamen niet significant meer gunstige of ongunstige resultaten voor.

**Sleutelwoorden: Bovine papilloma virus – Equine sarcoïd – Heelkunde – Neoplasie – Paard**

## Inleiding

Sarcoïden zijn de belangrijkste tumoren bij paarden (Taylor en Haldorson, 2013). Ze komen wereldwijd voor bij dieren van alle rassen, kleuren, geslachten en leeftijden (Bogaert et al, 2008b). Ondanks dat het lokaal groeiende huidtumoren zijn die niet metastaseren kunnen ze toch voor veel ongemak voor paard en eigenaar en zelfs economische schade zorgen (Bogaert et al, 2008b).

Er werd reeds veel onderzoek gedaan naar equine sarcoïden en de mogelijkheden voor behandeling. Tot op heden is er geen enkele behandeling beschikbaar die alle sarcoïden kan genezen. Sommige van deze tumoren reageren niet of nauwelijks op de huidige behandelingen en er is steeds een risico op het optreden van recidieven.

Het is dus van groot belang dat er verder onderzoek gedaan wordt op het gebied van behandeling van equine sarcoïden. Om meer inzicht te verwerven in de slaagkansen van verschillende mogelijke behandelingen van equine sarcoïden en de factoren die deze kansen beïnvloeden werd deze studie uitgevoerd. Door de eigenaren van de behandelde paarden minimaal 6 maanden na de behandeling telefonisch te contacteren kon informatie verkregen worden over de resultaten van de behandeling op langere termijn.

De conclusies die uit dit onderzoek getrokken kunnen worden zullen gebruikt worden om in de toekomst beter te kunnen inschatten wat de prognose voor een behandeling is. Bovendien zal dit van nut zijn in de keuze van de meest geschikte behandeling voor elke patiënt.



## 1. Etiologie en voorkomen

Equine sarcoïden zijn tumoren van de dermis. Ze kunnen lokaal zeer invasief groeien, maar zaaien niet uit naar de inwendige organen. Het voorkomen van equine sarcoïden wordt geassocieerd met de aanwezigheid van het bovien papillomavirus (BPV) type 1 en type 2. Dit zijn virussen die normaal bij runderen teruggevonden worden en daar wratten veroorzaken (Taylor en Haldorson, 2013). BPV type 1 wordt vaker aangetroffen in equine sarcoïden dan BPV type 2 (Otten, 1993; Martens et al, 2001c; Bogaert et al, 2007; Wobeser et al, 2010). In de meeste van de onderzochte sarcoïden heeft men DNA, RNA en eiwitten afkomstig van boviene papillomavirussen kunnen aantonen (Amtmann et al, 1980; Nasir en Reid, 1999; Campo, 2002; Chambers et al, 2003; Yuan et al, 2007). De aanwezigheid van virale eiwitten wijst op een actieve virale infectie (Nasir en Reid, 1999; Carr et al, 2001a; Chambers et al, 2003). Het bovien papillomavirus wordt daarom gezien als belangrijke factor in het ontstaan van equine sarcoïden (Amtmann et al, 1980; Nasir en Reid, 1999; Chambers et al, 2003; Yuan et al, 2007; Nasir en Campo, 2008; Finlay, 2011) ondanks het feit dat er tot nu toe geen volledige viruspartikels uit de tumoren geïsoleerd konden worden (Chambers et al, 2003; Bogaert et al, 2010).

De ontwikkeling van sarcoïd achtige letsels kon in het experiment van Hartl et al (2011) uitgelokt worden door intradermale injectie van infectieuze virions bij 4 veulens. In tegenstelling tot natuurlijk ontstane sarcoïden verdwenen deze experimenteel geïnduceerde tumoren spontaan na ongeveer 6 maanden (Hartl et al, 2011). Deze observaties wijzen op het bestaan van additionele factoren die bijdragen aan de ontwikkeling van sarcoïden (Bogaert et al, 2005; Bogaert et al, 2008a). Deze factoren zijn tot op heden onbekend, de pathogenese van equine sarcoïden is dus nog niet volledig opgehelderd (Finlay, 2011).

Op de huid van veel paarden kan BPV DNA teruggevonden worden, zowel bij gezonde paarden die in contact komen met aangetaste dieren als bij paarden met sarcoïden (Bogaert et al, 2005; Bogaert et al, 2008a; Ogawa et al, 2004). Als BPV DNA aangetroffen wordt op macroscopisch en microscopisch normale huid en de aanwezige hoeveelheden BPV mRNA zijn veel kleiner dan in equine sarcoïden dan wordt dit beschouwd als latente aanwezigheid (Bogaert et al, 2008a). Dit komt voor op de gezonde huid zowel bij paarden die elders op het lichaam equine sarcoïden hebben als bij volledig gezonde paarden (Bogaert et al, 2007; Finlay, 2011). Latent aanwezig BPV DNA kan geactiveerd worden door trauma van het epitheel van de huid en kan dan aanleiding geven tot het ontstaan van equine sarcoïden (Campo et al, 1994; Finlay, 2011). Deze reactivatie en expressie van de virale genen zou veroorzaakt kunnen worden door de productie van inflammatoire cytokines en lokale stimulatie van de celdeling (Campo et al, 1994).

Er werd een significant verband aangetoond tussen de hoeveelheid intratumoraal gevonden BPV en de ernst van de sarcoïden. In de studie van Haralambus et al (2010) werden, bij paarden met 1 enkele langzaam groeiend sarcoïd, 1,4 kopieën BPV DNA teruggevonden per cel. Bij paarden met meerdere snelgroeiende sarcoïden werden tussen 3 en 569 kopieën BPV DNA gevonden per cel.

De prevalentie van equine sarcoïden in de paardenpopulatie is 0,6 tot 2 % (Bogaert et al, 2008b). Sarcoïden

ontwikkelen zich voornamelijk bij jong volwassen dieren, het grootste deel van de aangetaste dieren is jonger dan 6 jaar (Scott, 2003; Carr, 2003; Buechner-Maxwell, 2009). De incidentie is het hoogste bij paarden tussen 3 en 6 jaar oud (Broström, 1995; Foy et al, 2002; Scott en Miller, 2003), in tegenstelling tot de meeste andere tumoren bij mens en dier die vooral voorkomen bij oudere individuen. De gemiddelde leeftijd waarop paarden sarcoïden ontwikkelen is 3,5 tot 4 jaar (Broström, 1995).

Over een mogelijk verschil in incidentie bij de verschillende geslachten is geen overeenstemming. Een groot deel van de auteurs vindt geen geslachtsprevalentie voor het ontwikkelen van sarcoïden (Pulley en Stannard, 1990; Bogaert et al, 2008b). Enkele anderen beschrijven echter een hogere incidentie bij de ruiter (Scott en Miller, 2003; Bogaert et al, 2008b).

Genetische aanleg voor het ontwikkelen van sarcoïden wordt als een risicofactor gezien (Taylor en Haldorson, 2013). Er is een zekere rasprevalentie aangetoond (Broström, 1988), zo zijn Appaloosa's, Arabieren en Quarter Horses gevoeliger voor het ontwikkelen van sarcoïden dan paarden van andere rassen (Scott en Miller, 2003). De Standardbred zou dan weer minder risico lopen (Scott en Miller, 2003). Men heeft kunnen aantonen dat de aanwezigheid van bepaalde haplotypes van antigenen van leucocyten een risicofactor is voor het ontwikkelen van sarcoïden (Meredith et al, 1986; Broström et al, 1988). De lage incidentie van equine sarcoïden in de paardenpopulatie bevestigt echter de theorie dat er nog andere factoren betrokken zijn bij het ontstaan van de tumoren (Taylor en Haldorson, 2013).

Er zijn verschillende hypothesen over de transmissie van BPV tussen paarden en runderen of tussen paarden onderling. Tot nu toe is er echter geen definitief bewijs voor een van de theorieën (Bogaert et al, 2008b; Finlay, 2011; Taylor en Haldorson, 2013). Sommige onderzoeksgroepen vinden identieke sequenties van bepaalde onderzochte genen op het BPV DNA terug bij runderen en paarden (Otten, 1993; Carr et al, 2001b) terwijl anderen specifieke varianten van BPV isoleren uit equine sarcoïden die niet voorkomen bij runderen (Chambers et al, 2003; Nasir et al, 2007). Mogelijk kan BPV DNA dus verspreid worden door direct contact tussen paarden onderling of tussen paarden en runderen. Ook indirecte verspreiding, bijvoorbeeld via borstels of dekjes die voor meerdere paarden gebruikt worden, via verzorgers of via een besmette stal of weide zou een mogelijkheid kunnen zijn (Chambers et al, 2003; Bogaert et al, 2005; Bogaert et al, 2008a; Bogaert et al, 2008b; Finlay, 2011).

Een andere mogelijkheid is de overdracht van BPV door middel van insecten die functioneren als mechanische vectoren. Epidemiologische gegevens, het voorkomen van meerdere tumoren op 1 paard en de spontane ontwikkeling van sarcoïden op intacte huid bij paarden die geen contact hebben met runderen of andere paarden met sarcoïden ondersteunen deze theorie (Knottenbelt et al, 1995; Pascoe en Knottenbelt, 1999). Bovendien werd BPV DNA al teruggevonden in *Fannia carnicularis*, *Musca domestica*, *Musca autumnalis* en *Stomoxys calcitrans* gevangen in de omgeving van paarden met sarcoïden (Finlay et al, 2009; Finlay, 2011). Evenal Taylor en Haldorson (2013) is de auteur van dit artikel van mening dat er meer onderzoek nodig is om de transmissie van BPV verder op te helderen.

## 2. Symptomen

Equine sarcoïden kunnen over het hele lichaam voorkomen, maar ze worden het meest gevonden op het hoofd, het ventrale abdomen, de paragenitale regio en de benen (Foy et al, 2002; Scott en Miller, 2003; Bogaert et al, 2007; Bogaert et al, 2008b; Taylor en Haldorson, 2013). Op het hoofd zijn vooral de oogleden, de oren en de commissurae van de lippen regelmatig aangetast (Foy et al, 2002). In gebieden met koudere klimaten komen de tumoren vooral voor aan het hoofd en het ventraal abdomen terwijl ze in warmere klimaten vaker ter hoogte van de lidmaten aangetroffen worden (Nasir en Reid, 1999; Pascoe en Knottenbelt, 1999; Bogaert et al, 2008b). Als sarcoïden voorkomen op andere plaatsen zijn ze vaak het gevolg van een beschadiging van de huid (Foy et al, 2002; Taylor en Haldorson, 2013). Op de dorsale zijde van het abdomen worden het minst vaak sarcoïden teruggevonden (Knottenbelt et al, 1995).

Sarcoïden komen vaker voor op open wonden of plaatsen met huidtrauma, maar de reden daarvoor is niet duidelijk. Mogelijk spelen vliegen of andere insecten hierbij een rol (Taylor en Haldorson, 2013). Insecten vliegen immers vaak van paard naar paard en worden regelmatig teruggevonden op open wonden. Ter hoogte van een wonde kan het BPV rechtstreeks in contact komen met de subepidermale fibroblasten hetzij doordat het daar toevallig aanwezig is of doordat het door middel van vectoren op die plaats terechtkomt (Knottenbelt et al, 1995; Pascoe en Knottenbelt, 1999). De celdeling is dan lokaal al gestimuleerd in verband met de wondheling waardoor de cellen mogelijk makkelijker tumoraal ontaarden (Knottenbelt et al, 1995; Pascoe en Knottenbelt, 1999; Foy et al, 2002).

Afhankelijk van de plaats waar ze zich bevinden kunnen sarcoïden zorgen voor functionele problemen zoals kreupelheid en discomfort of vormen ze enkel een schoonheidsgebrek (Hewes en Sullins, 2009). De locatie van het sarcoïd op het lichaam heeft eveneens een significante relatie met de grootte. Sarcoïden op het hoofd zijn meestal kleiner terwijl sarcoïden op de ledematen meestal groter zijn in vergelijking met sarcoïden op andere plaatsen op het lichaam (Broström, 1995).

Een sarcoïd kan jarenlang stabiel blijven, langzaam groeien, snel groeien of lokaal sterk invasief groeien maar echte metastase treedt niet op (Pascoe en Knottenbelt, 1999; Bogaert et al, 2008). Als een paard eenmaal een sarcoïd heeft of heeft gehad is er ook altijd een verhoogde kans op het ontwikkelen van sarcoïden elders op het lichaam (Knottenbelt et al, 1995; Carstanjen et al, 1997).

Op doorsnede zien sarcoïden eruit als een verdikking van de dermis met een bleke gele kleur, weinig bloedvaten en een stevige structuur (Bogaert et al, 2008b). Er zijn maar weinig betrouwbare histologische kenmerken die leiden tot een zekere diagnose van equine sarcoïd (Finlay, 2011). Vooral bij occulte en nodulaire sarcoïden zijn de veranderingen ten opzichte van normaal weefsel meestal minimaal (Martens et al, 2000). De histologische diagnose kan gesteld worden op basis van fibroblasten proliferatie met een verhoogde celdichtheid en weinig capillairen (Martens et al, 2000; Finlay, 2011). De aanwezigheid van andere microscopische kenmerken is variabel, maar niet consistent genoeg om een differentiatie van de verschillende klinische types toe te laten op basis van histologie (Martens et al, 2000).

In de meeste gevallen bestaan sarcoïden uit een epidermale en een dermale component. De epidermale component kan echter atrofisch of afwezig zijn in sommige gevallen (Martens et al, 2000). Als de epidermis aanwezig is, is deze laag vaak hyperplastisch en hyperkeratotisch. In veel gevallen ziet men epidermale acanthose (Hewes en Sullins, 2009) en worden er rete pegs gevormd van meer dan 20 cellen lang vanuit de epidermis in de dieper gelegen lagen (Martens et al, 2000; Finlay, 2011). De veranderingen die men ziet ter hoogte van de epidermis worden waarschijnlijk veroorzaakt door groeifactoren die geproduceerd worden door de neoplastische fibroblasten in het onderliggende weefsel (Carr et al, 2001a).

Het uitzicht van de fibroblasten in de dermis varieert van langgestrekte cellen met puntige kernen tot afgeronde cellen met grote onregelmatige kernen. De aflijning van de afzonderlijke cellen is dikwijls slecht te onderscheiden (Finlay, 2011). De fibroblasten vormen samen vaak een typisch kransvormig patroon (Martens et al, 2000). Ter hoogte van de basale membraan zijn de fibroblasten loodrecht op de basale membraan georiënteerd. Het uitzicht dat hierdoor ontstaat wordt ook wel het 'picket fence' patroon genoemd (Martens et al, 2000; Finlay, 2011).

Het picket fence patroon en de rete pegs worden beschouwd als typisch voor equine sarcoïden, maar zijn slechts aanwezig bij ongeveer de helft van de sarcoïden (Martens et al, 2000). Het aantal fibroblasten in de dermis is verhoogd, maar de delingssnelheid van de cellen in het sarcoïd is meestal laag en er zullen dus weinig mitosefiguren zichtbaar zijn tijdens het histologisch onderzoek. De hoeveelheid collageen die aanwezig is, is zeer variabel en in zeldzame gevallen worden er ontstekingscellen teruggevonden (Martens et al, 2000; Hewes en Sullins, 2009).

Sarcoïden zijn onder te verdelen in 6 verschillende typen zoals geïntroduceerd door Knottenbelt (2005). Hieronder volgt een korte bespreking van de verschillende typen.

## 2.1 OCCULT SARCOÏD

Dit type equine sarcoïden verschijnt meestal als grijze, vlakke, min of meer ronde, haarloze plekken met een ruw schilverig oppervlak (Knottenbelt et al, 1995; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Halderson, 2013). De kenmerken van deze sarcoïden kunnen erg subtiel zijn en alleen gekenmerkt worden door een licht verdikte huid en een iets verdunde vacht met kleine veranderingen in pigmentatie (Knottenbelt et al, 1995). Ook op histologisch onderzoek zijn de veranderingen afwezig of minimaal. De typische epidermale veranderingen, zoals hyperplasie en rete pegs, worden bij de occulte sarcoïden vaak niet gezien. Ook de typische kransvormige patronen van fibroblasten komen bij dit type sarcoïden niet voor. De enige verandering die consequent gezien werd bij occulte sarcoïden is een verhoogde dichtheid van subepidermale fibroblasten tussen een verminderde hoeveelheid haarfollikels en zweetklieren (Martens et al, 2000). Op histologie kunnen deze sarcoïden dan ook soms gemist worden (Martens, 2000; Finlay, 2011). De occulte sarcoïden hadden in vergelijking met de andere typen sarcoïden een significant lagere celdichtheid (Martens et al, 2000).

## 2.2 VERRUCEUS SARCOÏD

Dit type sarcoïd openbaart zich als grijze wratachtige, haarloze, verhoornde of schilferende zones met een ruw oppervlak, die boven het normale huidoppervlak uitsteken (Knottenbelt et al, 1995; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). De epidermis is meestal hyperplastisch en hyperkeratotisch (Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Op histologie komen de vorming van rete pegs en het picket fence uitzicht consequent voor bij dit type van equine sarcoïd (Martens et al, 2000).

## 2.3 NODULAIR SARCOÏD

Deze tumoren vormen duidelijk afgelijnde nodules in het subcutane weefsel. Meestal liggen ze los van het onderliggend weefsel (Bogaert et al, 2008b; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013) en de bovenliggende huid is op het eerste zicht normaal. Op histologisch onderzoek zijn er weinig typische veranderingen zichtbaar. De typische epidermale veranderingen worden bij de nodulaire sarcoïden meestal niet gezien (Martens et al, 2000). In de studie van Martens et al (2000) was de epidermis in 50 % van de nodulaire sarcoïden zelfs dunner dan normaal. Als er al rete pegs aanwezig waren, waren deze bij de nodulaire sarcoïden steeds kort (Martens et al, 2000). Op histologie worden deze sarcoïden soms foutief gediagnosticeerd als fibromas, neurofibromas of fibrosarcomas (Martens et al, 2000; Finlay, 2011).

## 2.4 FIBROBLASTISCH SARCOÏD

Dit type equine sarcoïden bestaat uit verheven, vlezige tumoren die meestal heel snel bloeden. Fibroblastische sarcoïden hebben steeds ulceraties aan hun oppervlak (Martens et al, 2000; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013) met infiltratie van polymorfonucleaire ontstekingscellen. Als de epidermis aanwezig is, is deze rond de ulceraties steeds in een bepaalde mate hyperplastisch (Martens et al, 2000). Het fibroblastisch type kan ontstaan uit elk ander type en kan infiltratief groeien in de omliggende weefsels (Knottenbelt et al, 1995).

## 2.5 GEMENGD SARCOÏD

Dit type equine sarcoïden zijn dikwijls tumoren die al lange tijd aanwezig zijn of die herhaaldelijk getraumatiseerd werden (Scott en Miller, 2003). Ze zijn samengesteld uit twee of meer van de hierboven beschreven typen en hebben de kenmerken van de betrokken typen (Pascoe en Knottenbelt, 1999; Taylor en Haldorson, 2013).

## 2.6 KWAADAARDIG SARCOÏD

Dit type sarcoïd is een zeldzaam voorkomende vorm, ze werd slechts door 1 enkele onderzoeksgroep beschreven (Knottenbelt et al, 1995; Taylor en Haldorson, 2013). Deze vorm kan ingroeien in lymfevaten en zich via die vaten verspreiden tot in lymfeknopen (Bogaert et al, 2008b). De tumoren kunnen zich op die manier heel snel en invasief over het lichaam verspreiden (Taylor en Haldorson, 2013).

### 3. Diagnose

Bij het onderzoek van een paard dat verdacht wordt van equine sarcoïden is een zeer grondig lichamelijk onderzoek van belang om alle massa's of plaatsen met alopecie op te merken. De regionale lymfeknopen in de omgeving van een massa moeten ook geëvalueerd worden om een idee te hebben of zij al of niet in het ziekteproces betrokken zijn. Dit is vooral van belang in verband met de differentiaal diagnose, want sarcoïden metastaseren niet en zullen de lymfeknopen dus niet beïnvloeden. Ook moet beoordeeld worden of de massa lokaal invasief groeit dan wel of hij los ligt ten opzichte van de onderliggende weefsels. Uit het verhaal van de eigenaar kan meestal opgemaakt worden of de massa in de tijd groter geworden is of stabiel bleef (Hewes en Sullins, 2009).

In de meeste gevallen zijn sarcoïden te herkennen aan hun karakteristiek klinisch uitzicht. Als het macroscopische uitzicht van de zone verdacht van sarcoïd onvoldoende zekerheid biedt kan een swab genomen worden om daarop PCR-onderzoek uit te voeren om de aanwezigheid van BPV DNA aan te tonen (Martens et al, 2000). Deze test is zeer gevoelig en zal op verse of bevroren stalen waarin BPV DNA aanwezig is in 100 % van de gevallen een positief resultaat opleveren (Martens et al, 2001b). Het is ook mogelijk om histopathologisch onderzoek van het abnormale weefsel te doen (Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Er wordt dan liefst een excisie biopsie uitgevoerd van het volledige letsel met een zone normale huid. Onvolledige verwijdering van een sarcoïd, bijvoorbeeld voor het nemen van een biopt, kan namelijk leiden tot activatie van eventueel latent aanwezig BPV DNA. Het sarcoïd kan daardoor sneller gaan groeien (Knottenbelt et al, 1995; Martens et al, 2001b; Carr, 2003; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013) of er kan inflammatie optreden (Hewes en Sullins, 2009).

Als men een vermoeden heeft van equine sarcoïd zijn er verschillende mogelijke differentiaal diagnoses die in overweging genomen moeten worden (McConaghy et al, 1994; Knottenbelt et al, 1995). In volgorde van voorkomen zijn de volgende differentiaal diagnoses het meest waarschijnlijk:

- Hypergranulatieweefsel met epidermale hyperplasie is macroscopisch niet te onderscheiden van een fibroblastisch sarcoïd. Ook histologisch kan het moeilijk zijn om het onderscheid te maken hoewel hypergranulatieweefsel veel sterker gevasculeerd is dan een sarcoïd. In hypergranulatieweefsel komt bovendien nooit een picket fence patroon voor (Finlay, 2011).
- Equine papillomas hebben het uitzicht van bloemkoolachtige nodules op de neus en de lippen van jonge paarden (Finlay, 2011). Vooral een verruceus sarcoïd kan met het blote oog sterk lijken op een papilloma letsel (Taylor en Haldorson, 2013). Op histologie ontbreekt de dermale component bij papilloma's in tegenstelling tot het bifasische uitzicht dat meestal voorkomt bij sarcoïden (Finlay, 2011). Papilloma's regresseren bovendien vaak spontaan terwijl dat bij sarcoïden maar zeer zelden gebeurt (Broström, 1979).

- Squameus cel carcinoma's komen meestal voor op de muco-cutaneuze overgangen, vooral ter hoogte van de ogen en de uitwendige genitalia. Zij kunnen gemakkelijk onderscheiden worden van sarcoïden op basis van hun histologische kenmerken (Finlay, 2011).
- Neurofibroma's kunnen sterk lijken op peri-oculaire fibroblastische sarcoïden, vooral als ze ulceraties aan hun oppervlak hebben. Het onderscheid kan gemaakt worden op basis van het groeipatroon van de tumor. Neurofibroma's zullen de omliggende weefsels opzij duwen terwijl sarcoïden uitbreiden door infiltratie in de weefsels (Finlay, 2011).
- Fibrosarcoma's groeien net als sarcoïden lokaal invasief waardoor beide typen tumoren soms moeilijk van elkaar te differentiëren zijn. De fibrosarcoma's kunnen bovendien variëren in grootte en zijn vaak onregelmatig en slecht afgelijnd van het omliggende weefsel. De beste manier om tot een juiste diagnose te komen is dan histologie. Een fibrosarcoma bestaat vooral uit fibroblasten, collageen en reticulinevezels. De fibroblasten zijn meestal spoelvormig maar kunnen ook stervormig zijn en worden van elkaar gescheiden door enkele bundels collageenvezels. In een fibrosarcoma is de delingssnelheid hoog en ziet men dus een groot aantal mitosefiguren, veel celkernen met prominente nucleoli en soms meerkernige reuzencellen. Het cytoplasma kleurt slecht aan en de aflijning van de individuele cellen is moeilijk zichtbaar (Van Roggen en Fletcher, 1999).

## 4. Behandeling

Er is op dit moment geen enkele behandeling beschikbaar voor equine sarcoïden die steeds tot verdwijnen van de tumoren leidt. Men heeft verschillende methoden ter beschikking waaruit gekozen kan worden. Naast het type sarcoïd en de locatie op het paard (Taylor en Haldorson, 2013) moet bij het maken van de keuze ook rekening gehouden worden met de motivatie van de eigenaar en de vraag of de behandeling thuis of in een kliniek moet plaatsvinden (Hewes en Sullins, 2009).

Het is van groot belang om meteen de best mogelijke behandelmethode te kiezen (Pascoe en Knottenbelt, 1999), want als er recidief optreedt na behandeling zal het sarcoïd vaak agressiever en sneller groeien dan de oorspronkelijke tumor (Knottenbelt en Walker, 1994; McConaghy et al, 1994). Het latent aanwezige Bovien papillomavirus in de omliggende normale cellen wordt dan geactiveerd (Bogaert et al, 2008a) en de weefselschade die ontstaat door de behandeling kan een verhoogde productie van inflammatoire cytokines en een lokale stimulatie van de celdeling tot gevolg hebben (Campo et al, 1994). De kans dat een sarcoïd terugkomt is ook significant groter bij grote sarcoïden en bij sarcoïden die op een eerdere behandeling niet gereageerd hebben (Martens et al, 2001b).

Bij behandeling van één of meerdere equine sarcoïden is er een kans op spontane regressie van sarcoïden elders op het lichaam (Martens et al, 2001b). In geval van een groot aantal kleine sarcoïden kan men daarom overwegen om slechts een deel van de tumoren te behandelen en de overige goed in de gaten te houden zonder een behandeling in te stellen (Knottenbelt et al, 1995; Pascoe en Knottenbelt, 1999). In de studie van Martens et al (2001b) werd partiële of totale spontane regressie gezien bij 32 % van de onbehandelde tumoren bij paarden die op andere plaatsen op het lichaam behandeld waren door middel van conventionele excisie, excisie met de CO<sub>2</sub>-laser, Bacillus Calmette en Guérin (BCG) vaccinatie of cryochirurgie. Men moet in het achterhoofd houden dat sommige paarden met sarcoïden niet te genezen zijn. De behandeling van patiënten met een groot aantal sarcoïden of met sarcoïden die een groot oppervlak innemen heeft niet altijd de gewenste resultaten (Knottenbelt et al, 1995).

De meest voorkomende behandelingen worden hieronder besproken.

### 4.1 CHIRURGISCHE EXCISIE

Deze methode houdt in dat men de tumor chirurgisch verwijdert samen met een ruime marge gezond weefsel. In het artikel van Martens et al (2001b) spreekt men van excisie van een tumorvrije marge van 8 tot 16 millimeter afstand van de tumor terwijl het volgens Carstanjen et al (1997) 20 tot 30 millimeter moet zijn. Het weefsel wordt verwijderd tot in de onderliggende fascia (Martens et al, 2001b) waarbij zoveel mogelijk gebruik gemaakt wordt van de 'non-touch' techniek om autoinoculatie te voorkomen (Carstanjen et al, 1997; Martens et al, 2001b; Hewes en Sullins, 2009). Deze techniek houdt in dat contact met de tumor zoveel mogelijk vermeden wordt. Bovendien wordt de wonde nadat het sarcoïd weggenomen is door middel van conventionele chirurgie overvloedig gespoeld (Hewes en Sullins, 2009), bijvoorbeeld met 0,05 % chloorhexidine oplossing (Martens et al, 2001b). Als men werkt met de CO<sub>2</sub>-laser kan het wondbed met



behulp van de niet gefocuste laserstraal geïvaporiseerd worden. Voor het sluiten van de wonde gebruikt men nieuwe handschoenen en een nieuwe set instrumenten (Carstanjen et al, 1997; Martens et al, 2001b). Lokaal ter hoogte van de wonde kan een antibioticum aangebracht worden (Martens et al, 2001b). Waar mogelijk wordt de wonde gesloten zodat per primam heling kan gebeuren. Als er teveel spanning op de wonde staat kan gebruik gemaakt worden van spanningsverminderende huidincisies rond de wonde en ondermijnen (Hewes en Sullins, 2009).

Het is vaak lastig om het volledige sarcoïd te verwijderen door de lange rete pegs die diep in het gezonde weefsel kunnen groeien (McConaghy et al, 1994; Knottenbelt en Kelly, 2000; Hewes en Sullins, 2009). Als deze rete pegs niet volledig verwijderd worden kan het trauma zorgen voor activatie van het latent aanwezige BPV DNA. De kans op recidieven is dan groot (Carstanjen et al, 1997; Martens et al, 2001b) en de sarcoïden groeien dan meestal sneller en invasiever (McConaghy et al, 1994; Carr et al, 2001a; Bogaert et al, 2008a). Om te voorkomen dat het sarcoïd opnieuw begint te groeien vanuit deze rete pegs zou men steeds aanvullende therapie in combinatie met conventionele chirurgie moeten overwegen tenzij men zeker is dat al het tumorale weefsel verwijderd is. Lokale chemotherapie of behandeling van het wondbed met een laser zijn hiervoor het meest geschikt (Scott, 2011). Deze methoden worden verderop uitgebreid besproken.

Chirurgische excisie kan goede resultaten geven op voorwaarde dat de sarcoïden volledig te verwijderen zijn en er voldoende huid over blijft om de wonde primair te sluiten (Martens et al, 2001b; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Men selecteert dus best patiënten met goed bereikbare sarcoïden met een oppervlak van minder dan 10 centimeter voor deze behandeling (Martens et al, 2001b).

De chirurgie wordt best uitgevoerd onder algemene anesthesie, want als men werkt op het staande paard is de kans op een succesvolle ingreep veel kleiner (Bogaert et al, 2008c). Onder anesthesie heeft de chirurg het beste zicht op het sarcoïd, de beste kans om een ruime marge gezond weefsel weg te nemen en kan auto-inoculatie optimaal voorkomen worden (Broström, 1995).

De succesratio van conventionele chirurgie is in de meeste studies slechts 30 tot 50 % (McConaghy et al, 1994; Knottenbelt en Kelly, 2000). Als men de juiste voorzorgsmaatregelen neemt is het mogelijk om een veel lager percentage recidieven te bekomen. In de studie van Martens et al (2001b) werden de paarden die in aanmerking kwamen voor conventionele chirurgie streng geselecteerd, er werd aandacht besteed aan het voorkomen van autoinoculatie en er werd een ruime marge gezond weefsel mee verwijderd. Op die manier werd een succesratio van 82 % bekomen bij evaluatie na gemiddeld 20 maanden (Martens et al, 2001b). In die gevallen waarbij er toch recidieven optreden komen deze voor ter hoogte van de hechtingen van de oorspronkelijke wonde. Deze recidieven kunnen aangepakt worden wanneer ze nog klein zijn en geven dan weinig problemen (Hewes en Sullins, 2009).

Chirurgie met behulp van een CO<sub>2</sub>-laser geeft een succesratio van 60 tot 80 %, wat aanmerkelijk hoger is dan bij conventionele chirurgie (Carstanjen et al, 1997; Martens et al, 2001b). Met de laser kan men het weefsel snijden (groot sarcoïd) of verdampen (klein of plat sarcoïd) zonder het aan te raken zodat het risico

op verspreiding van de tumorale cellen en autoinoculatie kleiner is dan bij conventionele chirurgie (Martens et al, 2001b; Taylor en Haldorson, 2013). Er wordt ook minder schade veroorzaakt aan omliggend weefsel (Carr, 2006). De hoge succesratio in vergelijking met conventionele chirurgie kan bovendien verklaard worden door de strenge selectie van paarden die in aanmerking komen voor deze behandeling en de minimale thermale schade aan de omliggende weefsels waardoor de cellen met latent aanwezig virus zo min mogelijk verstoord worden (Martens et al, 2001b; Taylor en Haldorson, 2013). Het is daarbij wel van belang dat de instellingen van de laser juist zijn (Hewes en Sullins, 2009). Voor vaporisatie van een sarcoïd kan men een vermogen van 40 W gebruiken, voor excisie van een sarcoïd is 21 tot 25 W geschikt (Carstanjen et al, 1997). Ook moet men erop letten om de wondranden zo min mogelijk te beschadigen zodat een per primam wondheling mogelijk blijft (Hewes en Sullins, 2009).

Nadelen van de CO<sub>2</sub>-laser zijn de kans op littekenweefsel, alopecie, leukotrichia of een tijdelijk abnormaal haarkleed (Carstanjen et al, 1997; Bogaert et al, 2008c). De CO<sub>2</sub>-laser kan zorgen voor coagulatie van de bloed- en lymfevaten in de wondranden waardoor de wondheling moeilijker verloopt (Hewes en Sullins, 2009). De apparatuur is duur in aanschaf en er moeten veiligheidsmaatregelen genomen worden om ermee te kunnen werken (Carstanjen et al, 1997; Bogaert et al, 2008c). McCauley et al (2002) beschrijven bijvoorbeeld het vergrendelen van alle deuren van de operatiekamer, het plaatsen van waarschuwingssignalen worden op de deuren, het gebruik van veiligheidsbrillen en het vooraf behandelen van het instrumentarium om reflectie van de laserstraal tegen te gaan. De omliggende weefsels en de tracheotube moeten beschermd worden tegen de laserstraal door middel van natte handdoeken.

## 4.2 CRYOCHIRURGIE

Deze methode bestaat uit het aanbrengen van vloeibare stikstof met een temperatuur van -196°C op het sarcoïd, waardoor het weefsel bevroren wordt. Dit kan gedaan worden via een probe of door middel van een spray. De celmembranen raken beschadigd door de vorming van intracellulaire ijskristallen. Tijdens het bevroren wordt er gebruik gemaakt van thermokoppels om de temperatuur in het sarcoïd en in het omliggende weefsel nauwkeurig op te volgen (Martens et al, 2001b; Bogaert et al, 2008c; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Elke tumor wordt twee of drie keer snel bevroren tot een temperatuur van -20 tot -30°C en krijgt tussendoor de gelegenheid om langzaam weer op te warmen tot een temperatuur van 20°C (Martens et al, 2001b; Bogaert et al, 2008c; Hewes en Sullins, 2009) Op die manier zal optimale cryonecrose bereikt worden (Bogaert et al, 2008c).

Het is bij grote tumoren aan te raden om een chirurgische debulking uit te voeren tot op het niveau van de omliggende weefsels of zelfs iets dieper voor met cryochirurgie behandeld wordt. Vooral bij grote tumoren kan cryochirurgie anders veel tijd in beslag nemen (Bogaert et al, 2008c). Het is zelfs mogelijk dat grote tumoren meerdere malen behandeld moeten worden, want de temperatuurdaling dringt niet diep door in de onderliggende weefsels (McConaghy et al, 1994; Knottenbelt en Kelly, 2000).

De succesratio's die men weet te behalen door middel van cryochirurgie lopen met 9 tot 79 % (McConaghy et al, 1994; Knottenbelt en Kelly, 2000; Martens et al, 2001b) zeer sterk uiteen bij verschillende auteurs. Een succesratio van 70 tot 80 % kan behaald worden als men de tumor eerst chirurgisch verwijdert en daarna behandelt met cryochirurgie (Martens et al, 2001b). 0,5 tot 1 cm normaal weefsel rond de tumor moet mee behandeld worden met vloeibare stikstof (Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Na de ingreep worden de paarden best behandeld met een NSAID en systemisch antibioticum (Martens et al, 2001b). Binnen enkele dagen ontstaat een zwarte korst die twee tot vier weken na de behandeling zal necrotiseren en afvallen. De open wonde dient door middel van secundaire wondheling te genezen (Bogaert et al, 2008c). Het weefsel kan zes maanden of langer gedepigmenteerd blijven en er kunnen grote littekens met veel contractie achterblijven na de behandeling (Bogaert et al, 2008c; Taylor en Haldorson, 2013).

Cryochirurgie is minder geschikt voor het behandelen van sarcoïden in de perioculaire regio of op plaatsen waar belangrijke onderliggende structuren aanwezig zijn. Onderliggende zenuwen, bloedvaten, pezen of gewrichten zouden beschadigd kunnen raken tijdens de cryochirurgie (Scott en Miller, 2003; Bogaert et al, 2008c). Bij sarcoïden op plaatsen die moeilijk te bevriezen zijn zoals rond het oog is de kans op recidieven groter (Knottenbelt en Kelly, 2000). Na behandeling met cryochirurgie wordt het immuunsysteem gestimuleerd waardoor mogelijk regressie optreedt van sarcoïden op andere plaatsen op het lichaam (Lane, 1977).

#### 4.3 RADIOTHERAPIE

Bij radiotherapie wordt gebruik gemaakt van ioniserende straling om de tumorale cellen van het sarcoïd te doden door het beschadigen van hun DNA en eiwitten. In de diergeneeskunde wordt dit meestal gedaan door middel van interstitiële brachytherapie. Er worden dan kleine radioactieve implantaten ingebracht die zorgen voor een lokale hoge dosis straling, die echter weinig schade aan andere weefsels berokkent (Bogaert et al, 2008c). Vooral iridium-192 wordt veel gebruikt in de vorm van korrels of draden (Theon en Pascoe, 1995; Knottenbelt en Kelly, 2000; Byam-Cook et al, 2006).

Het dier wordt meestal onder anesthesie gebracht waarna het grootste deel van het sarcoïd chirurgisch verwijderd wordt. Vervolgens worden de radioactieve implantaten geplaatst die dan vijf tot zeven dagen (Henson en Dobson, 2004) of zelfs tot drie weken in het weefsel blijven om de laatste sarcoïdcellen te vernietigen (Taylor en Haldorson, 2013). De succesratio voor de behandeling van non-oculaire sarcoïden is respectievelijk 87 % en 74 % op één en vijf jaar na behandeling. Voor oculaire sarcoïden geldt een succesratio van 98 tot 100 % (Theon en Pascoe, 1995; Knottenbelt en Kelly, 2000; Byam-Cook et al, 2006).

Bestraling levert de beste resultaten, maar is duur en niet makkelijk toe te passen. Daarom wordt deze methode meestal gebruikt op plaatsen waar chirurgie moeilijk toegepast kan worden zoals op het ooglid of bij de commissuur van de lippen (Bogaert et al, 2008c). Ook recurrente sarcoïden zijn goede kandidaten voor behandeling door middel van radiotherapie (Bogaert et al, 2008c).

Belangrijke nadelen van deze methode zijn het lokale risico op necrose, infectie en een cosmetisch minder resultaat (Theon en Pascoe, 1995; Theon, 1998; Byam-Cook et al, 2006). Bovendien moet men rekening houden met het feit dat het dier tijdens de behandeling radioactieve straling uitzendt. Er is dus een risico voor de mensen die het dier verzorgen en men heeft te maken met een specifieke wetgeving. Het dier moet gedurende de behandeling in een gecontroleerde omgeving, voorzien van waarschuwingssignalen gestald worden (Walker et al, 1991; Byam-Cook et al, 2006; Bogaert et al, 2008c). Ook de afvoer van het afval van het dier moet gebeuren in overeenstemming met de wettelijke bepalingen.

## 4.4 CHEMOTHERAPIE

Bij de behandeling van equine sarcoïden wordt gekozen voor lokale applicatie van het chemotherapeuticum omdat dit leidt tot een hoge concentratie ter hoogte van de tumor terwijl de systemische blootstelling aan het chemotherapeuticum minimaal is. De toxiciteit van de behandeling lijft daardoor beperkt voor het dier. Sarcoïden zijn uitermate geschikt voor lokale behandeling omdat ze zich steeds op de huid bevinden en dus makkelijk bereikbaar zijn (Bogaert et al, 2008c).

De lokale behandeling kan intralesionaal of topicaal gebeuren (Bogaert et al, 2008c). Intralesionale behandeling geeft een hoge dosis in de tumor en een zeer accurate plaatsing (Theon, 1998; Mair en Couto, 2006). Intratumorale chemotherapie door middel van cisplatine is een zeer nuttige therapie bij sarcoïden (Theon et al, 2007). Men kan deze behandeling toepassen in combinatie met chirurgie als primaire sluiting van de wonde niet mogelijk is of bij incomplete verwijdering van de tumor. Als de wonde wel gesloten kan worden kan men ervoor kiezen om 10 tot 14 dagen na de chirurgie een chemotherapeuticum te injecteren bij patiënten met een hoog risico op complicaties of als er microscopische overblijfselen van het sarcoïd aanwezig zijn (Theon et al, 2007).

### 4.4.1 Intratumorale chemotherapie

Intratumorale chemotherapie bestaat uit het injecteren van bepaalde stoffen in het sarcoïd waardoor de tumor regresseert (Taylor en Haldorson, 2013). Bij paarden wordt vaak gebruikt gemaakt van cisplatine (Theon et al, 1993; Theon et al, 1994; Theon, 1998; Theon et al, 2007; Taylor en Haldorson, 2013), vooral bij sarcoïden op lastige plaatsen, waar er te weinig ruimte is om 12 mm marge te nemen bij het wegnemen van de tumor (Theon et al, 2007). Dat is ideaal omdat het geen weefselnecrose veroorzaakt, het effect is bovendien tijd en dosis afhankelijk en de cytotoxiciteit is niet afhankelijk van de groeisnelheid van de tumor (Theon et al, 2007). De zware metalen in cisplatine remmen de DNA synthese door direct op het DNA te binden. Een cisplatine emulsie is een visceuze oplossing die direct ingespoten kan worden in het sarcoïd (Tamzali et al, 2001; Theon et al, 2007; Taylor en Haldorson, 2013). De emulsie bestaat uit cisplatine in combinatie met een drager die ervoor moet zorgen dat de werkzame stof lange tijd ter plaatsen blijft om zo de therapeutische index te verbeteren (Theon et al, 1993; Theon et al, 2007). Stoffen die geschikt zijn als drager zijn sesamololie en amandelolie (Theon et al, 1993). Een waterige oplossing van 10 mg cisplatine in 1 ml gemengd met 2 ml sesamololie kan gebruikt worden voor de behandeling van de tumor (Bogaert et al, 2008c). Andere cisplatine formulaties worden beschreven, maar deze zijn minder effectief (Knottenbelt en

Kelly, 2000; Stewart et al, 2006). Er wordt ongeveer 1 mg cisplatine ingespoten per cm<sup>3</sup> tumor en 1 tot 2 cm normale huid rond de tumor wordt mee behandeld (Theon et al, 2007; Bogaert et al, 2008c).

Grote tumoren worden best eerst zoveel mogelijk chirurgisch verkleind (Theon et al, 1994; Theon, 1998; Hewes en Sullins, 2006; Theon et al, 2007) waarna men onmiddellijk begint met de eerste injectie. Een behandelingscyclus bestaat uit 4 injecties met steeds 2 weken tussentijd (Theon et al, 2007; Bogaert et al, 2008c). Er wordt steeds een serie injecties intratumoraal en peritumoraal gegeven door middel van de parallel row of field block techniek (Theon et al, 2007), afhankelijk van de afmetingen van de tumor. De parallelle vlakken moeten ongeveer 1 cm uit elkaar liggen en de afzonderlijke injecties 6 tot 8 mm uit elkaar. Het bepalen van het juiste behandelgebied is van groot belang voor het uiteindelijke resultaat van de behandeling en moet dus zeer nauwkeurig gebeuren. Er wordt gebruik gemaakt van een 22 of 25 Gauge naald omdat de vloeistof zeer visceus is (Theon et al, 2007).

Nadelen van het gebruik van cisplatine injecties zijn de uitvloeit van een deel van de vloeistof na injectie, moeilijk te gebruiken rond de ogen van het paard, risico op het prikken van de dierenarts vooral bij verzet van het paard en de onvoorspelbaarheid van de consistentie en de stabiliteit van het mengsel (Knottenbelt en Kelly, 2000).

De bijwerkingen die optreden bij deze behandeling zoals ontsteking, zwelling en lokale ulceratie, zijn steeds lokaal en zelflimiterend (Bogaert et al, 2008c). Het is daarbij wel aangewezen om profylactisch antibiotica en anti-inflammatoire middelen toe te dienen om de bijwerkingen te verminderen en een acute Clostridiuminfectie te voorkomen (Bogaert et al, 2008c). De bijwerkingen worden meer uitgesproken als er meer dan 2 behandelingscyclussen met cisplatine gebeuren op dezelfde plaats (Theon et al, 2007).

De succesratio voor deze ingreep ligt rond de 90 % (Theon et al, 1993; Theon et al, 1994; Theon, 1998; Taylor en Haldorson, 2013). In 1 studie werd zelfs 96,3 % succes beschreven na 1 volledige behandelingscyclus (Theon et al, 2007). Factoren als behandelingsprotocol, tumor stage en eerdere behandelingen hebben een significante invloed op de efficaciteit, grotere sarcoïden en reeds behandelde tumoren hebben een minder goede prognose (Theon et al, 2007).

Cisplatine electrochemotherapie is een relatief nieuwe techniek waarbij gebruik gemaakt wordt van injecties met cisplatine in combinatie met elektrische pulsen. Dit laatste zorgt ervoor dat celmembranen meer permeabel worden voor cisplatine zodat meer cisplatine opgenomen wordt in de tumorale cellen. In 1 studie werd voor deze techniek een succesratio van 98 % gevonden na 4 jaar opvolgen (Tamzali et al, 2001). Deze therapie moet wel onder algemene anesthesie uitgevoerd worden en het aantal behandelingen verschilt afhankelijk van de afmetingen van de tumor, de locatie en de diepte van infiltratie.

Cisplatine bestaat ook in korrelvorm. Deze beads kunnen ingeplant worden in de wonde na chirurgische debulking van het sarcoïd (Chen et al, 2003; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013) of als enige behandeling bij kleinere sarcoïden (Hewes en Sullins, 2009).

In vergelijking met het injecteren van een cisplatine oplossing zijn er minder behandelingen nodig, er is geen uitvloeit van cisplatine, de toepassing in de regio van de ogen is eenvoudiger en er is minder kans op prikincidenten (Hewes en Sullins, 2009).

Als men werkt met deze korrels dan worden deze ingebracht via kleine steekincisies in de tumor en het omgevende weefsel. De korrels worden meestal twee keer ingebracht met een tussentijd van ongeveer 1 maand. De succesratio voor deze ingreep ligt tussen 84 en 90 % (Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013).

Het gebruik van andere chemotherapeutica voor intratumorale toepassing wordt beschreven, maar deze zijn minder effectief dan cisplatine en worden dus niet op grote schaal gebruikt. Voorbeelden hiervan zijn bleomycine en 5-fluorouracil (Knottenbelt en Kelly, 2000; Stewart et al, 2006).

#### 4.4.2 Topicale chemotherapie

Er zijn verschillende zalven beschikbaar voor topische behandeling van sarcoïden met elk hun eigen voor- en nadelen. De meest gebruikten worden hieronder kort besproken.

5-fluorouracil zalf is vooral geschikt voor kleine occulte of verruceuze sarcoïden of voor verruceuze zone's op de huid. Belangrijk is dat de lesies niet dikker zijn dan 2 tot 3 millimeter, want de diffusie en de verdeling van de werkzame stof is niet optimaal in dikkere tumoren (Bogaert et al, 2008c; Theon, 1998). Hoe diep de werkzame bestanddelen uit de zalf doordringen in de weefsels kan niet precies gecontroleerd worden (Theon, 1998; Mair en Couto, 2006). Daarom wordt deze behandeling niet aangeraden voor de behandeling van nodulaire of invasief groeiende sarcoïden (Theon, 1998). De behandeling is erg geschikt voor behandeling van paarden die op controle komen na behandeling van een sarcoïd en waarbij de huid vlak is en alopecie vertoont (Hewes en Sullins, 2009).

De antitumorale werking van topicaal aangebracht 5-fluorouracil wordt veroorzaakt door een direct cytotoxisch effect en een contactallergie. 5-fluorouracil is een antimetabool in de biosynthese van DNA en RNA en werkt daardoor selectief op actief delende cellen van huidtumoren zoals sarcoïden (Theon, 1998). De gezonde huid is minder gevoelig door de barriere die gevormd wordt door het keratine in de bovenste laag van de epidermis en door de lagere delingssnelheid van de cellen (Theon, 1998; Mair en Couto, 2006). 5-fluorouracil zorgt voor een competitieve inhibitie van het enzym thymidylaat synthetase waardoor een depletie van thymidine trifosfaat, een precursor in de DNA synthese, ontstaat (Theon, 1998). Het werkt ook als contact allergeen en zorgt voor een uitgestelde hypersensitiviteitsreactie zodat de oppervlakkige cellen van de tumor afvallen (Mansell et al, 1975).

De zalf wordt 1 tot 3 maanden (Scott en Miller, 2003; Bogaert et al, 2008c) of 3 tot 4 maanden (Theon, 1998) na elkaar dagelijks aangebracht om het gewenste resultaat te bereiken. Het aantal behandelingen kan eventueel verminderd worden door het gebruik van een occlusief verband (Theon, 1998). Een andere

methode is 10 tot 14 dagen na elkaar de zalf aanbrengen tot de huid rood, ontstoken en geïrriteerd is. De behandeling wordt dan onderbroken om de huid te laten herstellen en daarna behandelt men weer 10 tot 14 dagen (Hewes en Sullins, 2009). 5-fluorouracil is mutageen en carcinogeen dus de eigenaar moet goed geïnformeerd worden over de veiligheidsmaatregelen die genomen moeten worden bij het gebruik van deze zalf (Theon, 1998).

De werking van 5-fluorouracil is optimaal in een actief letsel. Als het te behandelen sarcoïd niet actief is verdient het de aanbeveling om het eerst te debulken of door middel van de CO<sub>2</sub>-laser te debriden (Hewes en Sullins, 2009). Na de debulking zou het tumorale weefsel dan maximaal 3 millimeter dik mogen zijn om een goede penetratie van de werkzame stof te verzekeren (Mair en Couto, 2006). Onmiddellijk na de operatie kan de zalf aangebracht worden, want dit heeft volgens Mair en Couto (2006) geen nadelige effecten op de wondheling. Eventueel kan er podophylin toegevoegd worden aan de zalf om een betere penetratie van de epidermis te bekomen. De succesrate van deze behandeling is ongeveer 66 % (Knottenbelt en Kelly, 2000) en het littekenweefsel dat na de behandeling overblijft is doorgaans zeer minimaal (Pascoe en Knottenbelt, 1999).

Algemene bijwerkingen geassocieerd met het gebruik van 5-fluorouracil werden niet gerapporteerd. Wel is er lokaal vaak erythema, ulceratie, vorming van blaren en zwelling zichtbaar (Paterson, 1997). De behandelde letsels in de studie van Paterson (1997) waren pijnlijk maar de paarden lieten wel steeds toe dat de zalf aangebracht werd. Belangrijk is om er rekening mee te houden dat 5-fluorouracil een foto-sensitizer is, dus de behandelde letsels moeten beschermd worden tegen zonlicht (Theon, 1998).

AW3-ludes en AW4-ludes zalven zijn afkomstig van de University of Liverpool en worden enkel verkocht voor gebruik door dierenartsen. Ze zijn niet geregistreerd en de precieze samenstelling is dus onbekend. Bestanddelen die zeker teruggevonden worden in de zalven zijn zware metalen, 5-fluorouracil en thiouracil (Newton, 2000; Bogaert et al, 2008c). Men kan het sarcoïd het beste eerst debulken of verkleinen door middel van laser debridement, want de zalf werkt dan beter (Hewes en Sullins, 2009). Er moet 3 tot 5 maal behandeld worden dagelijks (Bogaert et al, 2008c) of om de dag (Newton, 2000; Bogaert et al, 2008c). Na een periode van 5 tot 10 weken zal de tumor necrose beginnen te vertonen terwijl de omgevende gezonde huid onaangetaast blijft (Newton, 2000). De behandeling kan leiden tot erge lokale irritatie en sterke littekencontractie, maar de succesratio is ongeveer 80 % bij sarcoïden die voor de eerste maal behandeld worden (Knottenbelt en Walker, 1994). Als er na 5 tot 10 weken geen verandering optreedt moet men overwegen om de therapie te herhalen of een andere behandeling toe te passen (Newton, 2000).

## 4.5 IMMUNOTHERAPIE

Immunotherapie heeft als doel om de mogelijkheden van het lichaam om de tumor aan te vallen te vergroten (Bogaert et al, 2008c). Dat is nodig omdat de tumor zich op de huid bevindt en het immuunsysteem dus niet voldoende in contact komt met de tumor. Er worden verschillende technieken gebruikt om de immunoreactie te stimuleren. De belangrijkste zijn injecties met BCG, imiquimod zalf, XXTerra en vaccinatie (Bogaert et al, 2008c).

### 4.5.1 BCG

BCG vaccinatie is de meest gebruikte immunostimulerende behandeling voor equine sarcoïden (Taylor en Haldorson, 2013). BCG werd lange tijd gebruikt als humane enting tegen tuberculose. Op dit moment is BCG in de humane geneeskunde nog in gebruik in de behandeling van bepaalde vormen van blaaskanker (Muto et al, 2013; Babjuk et al, 2013).

De enting die gebruikt wordt voor de bestrijding van equine sarcoïden kan levende verzwakte mycobacterium bovis stam bevatten, of een emulsie van gezuiverde gemodificeerde celwand extracten van mycobacterium bovis in olie [Regressin-V, Vetrepharm Research] of een combinatie van cytoskelettrehalose van de celwand van mycobacterium bovis gecombineerd met dimycolaat [Ribigen-E, Ribi Immunochem Research; Nomagen, Fort Dodge Laboratories] (Carr, 2003; Bogaert et al, 2008c; Buechner-Maxwell, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). De levende verzwakte mycobacterium bovis entingen worden in verband gebracht met anafylactische reacties en sterfte en worden dus niet aangeraden (Carr, 2003; Scott, 2011). Gezuiverde BCG celwand extracten of emulsies van volledige geïnactiveerde BCG stammen kunnen gebruikt worden met een veel kleiner risico op fatale nevenreacties (Carr, 2003; Buechner-Maxwell, 2009).

Er wordt aanbevolen om de tumor eerst chirurgisch te verkleinen (Theon, 1998) en vervolgens elke 2 tot 4 weken injecties met BCG toe te dienen (Martens et al, 2001b; Bogaert et al, 2008c; Taylor en Haldorson, 2013). De tumor dient daarbij verzadigd te worden met vaccin. Sommige groepen herhalen de injecties tot er volledige regressie van het sarcoïd optreedt (Taylor en Haldorson, 2013). Andere groepen geven standaard 4 injecties, maar breken het protocol eerder af als er totale regressie van de tumor is opgetreden en geven nog een 5e of 6e injectie als het resultaat van de eerste 4 behandelingen onvoldoende is (Martens et al, 2001b; Bogaert et al, 2008). Gemiddeld zijn 3,2 (Taylor en Haldorson, 2013) tot 3,9 (Martens et al, 2001b) vaccinaties nodig, bij individuele patiënten varieert het aantal tussen 2 en 9. Als de sarcoïden reeds geulcereerd zijn of bij zeer grote sarcoïden kan er eerst debulking toegepast worden, bij periculaire sarcoïden wordt dit niet gedaan (Martens et al, 2001b, Scott 2011).

Na behandeling door middel van BCG kunnen paarden algemene bijwerkingen zoals anorexie, lymfadenopathie en hoge koorts (tot 40°C.) en leukocytose vertonen (Scott, 2011). Lokaal is er kans op necrose, ulceratie, ernstige ontstekingsreacties en uitvloei. De eigenaar wordt hierover best vooraf geïnformeerd (Scott, 2011). Om de kans op deze bijwerkingen te verkleinen kan men de BCG behandeling combineren met de toediening van dexamethason of flunixin meglumine (Scott, 2011; Taylor en Haldorson,



2013). Bij gebruik op de ledematen komen er relatief veel lokale bijwerkingen voor zoals uitgebreid oedeem, lymfangitis en septische artritis (Bogaert et al, 2008c). BCG is dus minder geschikt voor gebruik op de penis en op de benen (Vanselow et al, 1988; Theon, 1998; Scott en Miller, 2003; Bogaert et al, 2008c).

De grootte en de locatie van de sarcoïden lijken van invloed op de resultaten (Klein, 1986). Behandeling van sarcoïden door middel van BCG geeft de beste resultaten bij kleine nodulaire en fibroblastische sarcoïden rond de ogen (83 tot 100 %), maar is minder effectief bij grotere tumoren op andere plaatsen (ongeveer 50 %) (Knottenbelt en Kelly, 2000; Scott en Miller, 2003; Komáromy et al, 2004; Bogaert et al, 2008c; Buechner-Maxwell, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Vooral sarcoïden op de benen en in de oksels en sarcoïden die voorafgaand behandeld werden met cryochirurgie reageren minder op de BCG vaccinaties (Scott en Miller, 2003; Scott, 2011).

De tumorregressie is gebaseerd op de uitgestelde hypersensitiviteitsreactie (Morton en Barth, 1995). BCG activeert de mononucleaire afweercellen waardoor er interleukine-1 vrijgesteld wordt (Vanselow et al, 1988; Martens et al, 2001b). Dit leidt tot stimulatie van de celgemedieerde immuniteit (Carr, 2003) en zowel de specifieke als de niet-specifieke mechanismen van het immuunsysteem komen in actie (Morton en Barth, 1995). De herkenning van de tumorcel specifieke antigenen als lichaamsvreemd wordt bevorderd (Carr, 2003; Hewes en Sullins, 2009) en de activiteit van de cytotoxische T cellen en de natural killer cellen tegen de tumorcellen neemt toe (Carr, 2003; Taylor en Haldorson, 2013). Op histopathologie ziet men enkel necrose van de tumorcellen waardoor bevestigd wordt dat er sprake is van een tumorspecifiek mechanisme (Taylor en Haldorson, 2013).

#### 4.5.2 Topicale immunotherapie

Er zijn verschillende zalven die ingezet kunnen worden in het kader van topicale immunotherapie, de belangrijkste zijn imiquimod en zalven met een mengsel van zinkchloride en sanguinarine.

Imiquimod wordt verkocht onder de naam Aldara (3M Pharmaceuticals) en bij mensen gebruikt voor het behandelen van onder andere genitale wratten, actine keratose en oppervlakkige basaal cel carcinoma's (Beutner et al, 1998; Marks et al, 2001, Salasche et al, 2002; Scott, 2011). De werkzame stof is een imidazoquinolinamine (Nogueira et al, 2006; Hewes en Sullins, 2009). Dat is een middel dat zorgt voor een grotere antivirale en antitumorale activiteit van het afweersysteem (Nogueira et al, 2006; Bogaert et al, 2008c). Het exacte mechanisme waarop de werking berust werd tot nu toe niet aangetoond, maar humane in vitro studies tonen immunoregulatorische effecten op de cel gemedieerde en niet-specifieke afweer mechanismen aan (Brenman, 2000; Sauder, 2000; Gollnick et al, 2001). De productie van cytokines waaronder interferon alfa, tumor necrose factor- $\alpha$ , en interleukines 1, 6, 8 en 12, en macrofaag ontstekingsproteïnes worden gestimuleerd (Brenman, 2000; Scott, 2011). Dat zorgt voor stimulatie van de celgemedieerde immuniteit en de celgemedieerde cytolytische antivirale activiteit. Daarnaast is er ook een directe proapoptotische activiteit door activatie van caspase en stimulatie van B-cell lymphoma 2, beide belangrijke eiwitten voor de apoptose (Scott, 2011). Een kleine pilot studie met niet eerder behandelde sarcoïden rapporteert positieve resultaten voor de behandeling met imiquimod (Nogueira et al, 2006). De

tumoren werden 3 maal per week gewassen met water en zeep en vervolgens ingesmeerd met een dun laagje imiquimod zalf gedurende 32 weken of tot volledige regressie van de tumor (Nogueira et al, 2006; Bogaert et al, 2008c; Hewes en Sullins, 2009). 60 % van de behandelde sarcoïden verdween volledig met deze behandeling en nog eens 20 % werd 75 % kleiner (Nogueira et al, 2006). Lokale bijwerkingen als ulceratie, pijn, alopecie, erythema en depigmentatie kwamen veel voor (Nogueira et al, 2006; Bogaert et al, 2008c), maar verdwenen steeds binnen de 30 dagen na beëindigen van de therapie met een aanvaardbaar cosmetisch resultaat (Nogueira et al, 2006). Aanvullende studies zijn nodig om meer informatie te verzamelen over deze behandelingsmethode.

Zalven die bestaan uit zinkchloride, water en sanguinarine zijn onder andere XXTerra (Larson Laboratories), Indian Mud (Original Cream Company) en Animex (NIES) (Hewes en Sullins, 2009; Scott, 2011, Taylor en Haldorson, 2013). Volgens de producent is XXTerra behandeling succesvol in 95 % van de gevallen, maar activatie van de tumor met sterke groei werd ook vastgesteld (Scott en Miller, 2003; Hewes en Sullins, 2009; Scott, 2011).

De zalf moet 4 tot 6 dagen dagelijks aangebracht worden en vervolgens elke 4 dagen totdat het sarcoïd afvalt. Na het aanbrengen van de zalf wordt het sarcoïd steeds bedekt door middel van een Telfa® wond dressing en een verband waar mogelijk (Scott, 2011). In een kleine pilot study met sarcoïden die niet eerder behandeld werden, werd op deze manier behandeld voor 3 tot 36 weken zonder het plaatsen van verbanden. Ongeveer 53 % van de sarcoïden verdween volledig, maar er was geen follow up van de patiënten na de behandeling (Scott, 2011). Sommige paarden in deze studie hadden last van bijwerkingen als lokale inflammatie en erge pijn (Scott, 2011).

Het aanbrengen van de zalf op de tumor zou resulteren in een verandering van de antigeniciteit van de tumor en stimulatie van het immuunsysteem van het paard (Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). De tumor zou vervolgens verdwijnen door de verhoogde activiteit van het immuunsysteem (Hewes en Sullins, 2009) terwijl het omliggende gezonde weefsel niet aangetast wordt (Scott, 2011).

Zestig dagen na de eerste behandeling heeft 40 % van de paarden opnieuw behandeling nodig met de zalf (Hewes en Sullins, 2009). Deze behandeling zou nog verder onderzocht moeten worden, want gecontroleerde studies zijn op dit moment niet beschikbaar (Taylor en Haldorson, 2013).

#### 4.5.3 Vaccinatie

Autovaccins worden niet op grote schaal gebruikt en verschillende auteurs (Knottenbelt et al, 1995; Pascoe en Knottenbelt, 1999) vermelden tegenvallende resultaten dus hierop zal niet verder ingegaan worden.

Vaccinatie door middel van chimeric virus-like particles (CVLPs) van BPV-1 L1–E7 genen werd onderzocht in een placebo gecontroleerde studie met veelbelovende resultaten. De sarcoïden in de behandelde groep leken meer regressie en minder progressie te vertonen ten opzichte van de controle groep (Mattil-Fritz et al, 2008; Ashrafi et al, 2008). Er moet nog verder onderzoek gedaan worden met grotere groepen dieren om

conclusies te kunnen trekken over de bruikbaarheid van deze vaccinatie voor de behandeling van equine sarcoïden (Ashrafi et al, 2008).

#### 4.5.4 Overige

Anecdotisch werd er gepubliceerd over intraveneuze en intralesionale toediening van door warmte gedode *Propionibacterium acnes* (Eqstim, Neogen). Deze behandeling zou goede resultaten geven, maar gedegen studies ontbreken tot nu toe (Taylor en Haldorson, 2013; Scott en Miller, 2003).

Ook intralesionale injectie van acemannan (Acemannan Immunostimulant, VPL) werd beschreven, maar is niet effectief voor de behandeling van equine sarcoïden (Scott en Miller, 2003).

## 4.6 ANTIVIRALE THERAPIE – ACYCLOVIR

De behandeling van sarcoïden door middel van acyclovirzalf is de laatste jaren in opmars. De behandeling is niet duur, er zijn geen bijwerkingen en de eigenaar of verzorger van het paard kan de behandeling zelf uitvoeren (Stadler et al, 2011). Paarden kunnen 1 maal per dag behandeld worden met een creme met 5 % acyclovir gedurende 2 tot 6 maanden. In een onderzoek op 47 sarcoïden reageerde 100 % van de tumoren op de behandeling door te verkleinen en 68 % verdween zelfs volledig (Stadler et al, 2011).

Als het gaat om grote sarcoïden is het wellicht verstandig om eerst chirurgische debulking uit te voeren, want de resultaten zijn minder goed bij sarcoïden dikker dan 5 millimeter. Het feit dat 32 % van de sarcoïden in het onderzoek van Stadler et al (2011) niet volledige verdwenen was, was waarschijnlijk te wijten aan het feit dat ze dikker waren dan 5 millimeter. Een andere beperking van deze behandelmethode is het feit dat een omgevingstemperatuur lager dan 5°C tot minder goede resultaten leidt (Stadler et al, 2011). Acyclovir wordt door Stadler et al (2011) aangeraden om routinematig te gebruiken voor de behandeling van milde gevallen van equine sarcoïden en eventueel als aanvullende therapie bij chirurgie.

## 5. Prognose

Sarcoïden zijn op zichzelf nooit dodelijk. Het is echter wel mogelijk dat ze grote functionele problemen met zich mee brengen voor het dier of voor het werk dat het dier moet doen. De tumoren kunnen bijvoorbeeld hinder veroorzaken op de plaats waar de singel of het hoofdstel horen te zitten, of op de oogleden van het paard. Door het feit dat de genetische component een rol speelt in de ontwikkeling van sarcoïden zijn aangetaste dieren ook voor de fokkerij van minder waarde. Dit in combinatie met het cosmetisch aspect maakt dat het voorkomen van sarcoïden de economische waarde van een paard aanzienlijk doet dalen (Bogaert et al, 2008b).

Er bestaat een groot aantal behandelingsmethoden die bij een bepaald percentage van de patiënten succesvol zijn. Om tot goede resultaten te komen is het van belang om de juiste methode te selecteren voor elk individueel sarcoïd. Een belangrijk probleem bij de behandeling van sarcoïden is de relatief grote kans op lokale recidieven. Dit zou veroorzaakt worden door auto-inoculatie tijdens chirurgie en het feit dat sarcoïden lokaal invasief groeien waardoor het moeilijk is om alle uitlopers van de tumor te bestrijden (Klein, 1990; Howart, 1990). Als men in de randen van de chirurgische wonde BPV DNA kan aantonen verhoogt de kans op recidieven significant (Martens et al, 2001a). Het optreden van recidieven is significant geassocieerd met hoe snel de behandeling gestart wordt, de duur van de behandeling, de afmetingen van de tumor en localisaties distaal op de benen (Broström, 1995). Als het sarcoïd recidiveert of na de behandeling niet volledig verdwijnt kan een oorspronkelijk langzaam groeiend of stabiel equine sarcoïd sneller en invasiever gaan groeien (Knottenbelt et al, 1995). Er is aangetoond dat grote sarcoïden meer kans hebben om terug te komen na behandeling (Martens et al, 2001b). Paarden met slechts 1 sarcoïd hebben minder kans op recidieven na behandeling dan paarden met multipele sarcoïden (Carstanjen et al, 1997). Recurrente sarcoïden groeien sneller en invasiever dan primaire sarcoïden (Carr, 2003). Een paard dat eenmaal een sarcoïd heeft gehad heeft een grotere kans op het ontwikkelen van sarcoïden dan een naïef paard. (Knottenbelt et al, 1995; Carstanjen et al, 1997). De prognose voor equine sarcoïden is dus altijd gereserveerd (Pascoe en Knottenbelt, 1999).

Hoe eerder de diagnose gesteld wordt, hoe beter de prognose is, want 1 kleine tumor is beter te behandelen dan multipele grotere tumoren (Goodrich et al, 1998). Ook de locatie van het sarcoïd heeft een invloed op de prognose. Sarcoïden distaal op de benen en rond de ogen hebben een slechtere prognose dan op andere locaties (Knottenbelt, 2005; Carr, 2009)

## 6. Preventie

Op dit moment is preventie van sarcoïden erg lastig omdat de pathogenese niet volledig opgehelderd is (Finlay, 2011). Zeker is dat BPV een belangrijke rol speelt in het ontstaan van sarcoïden (Amtmann et al, 1980; Nasir en Reid, 1999; Chambers et al, 2003; Yuan et al, 2007; Finlay, 2011), dus het contact van paarden met BPV moet zoveel mogelijk vermeden worden. Men heeft tot nu toe niet kunnen aantonen hoe de transmissie van BPV gebeurt (Bogaert et al, 2008b; Finlay, 2011; Taylor en Haldorson, 2013), dus moet geprobeerd worden om elke mogelijke overdracht tegen te gaan. In praktijk komt dat neer op het gebruik van eigen materialen voor elk paard, insectenbestrijding, het voorkomen van direct contact van een gezond paarden met BPV letsels bij andere paarden of runderen.

Paarden die sarcoïden ontwikkelen moeten zo snel mogelijk behandeld worden om het ontstaan van multipiele grote tumoren tegen te gaan. Dit met het oog op de prognose en om de overdracht naar andere paarden te voorkomen. In de toekomst is het misschien mogelijk om een vaccin te ontwikkelen om paarden tegen sarcoïden te beschermen (Ashrafi et al, 2008; Taylor en Haldorson, 2013).

## Materiaal en methoden

Deze masterproef bestaat uit een literatuurstudie en een retrospectieve studie. De literatuurstudie is gebaseerd op de huidige literatuur die beschikbaar is rond de problematiek van het equine sarcoïd en de behandeling daarvan.

De retrospectieve studie werd uitgevoerd op alle paarden die in de periode van januari 2008 tot en met december 2013 behandeld zijn voor sarcoïden op de faculteit diergeneeskunde van de Universiteit Gent in Merelbeke. De gegevens over deze paarden en de behandelingen die zij in de kliniek ondergingen werden voor deze studie verzameld uit het digitaal archief van de faculteit en in een database gezet.

De paarden werden behandeld door middel van excisie (conventioneel of CO<sub>2</sub>-laser), cryotherapie, BCG vaccinatie, implantatie van cisplatine beads, imiquimod zalf, acyclovir zalf, carboplatine injecties, IL-12, autovaccinatie, cisplatine slow release gel, acyclovir systemisch of Knottenbelt zalf.

Ten minste 6 maanden na het laatste bezoek aan de kliniek werden de eigenaren van alle paarden telefonisch gecontacteerd om te informeren naar het resultaat van de behandeling op langere termijn. Er werd per tumor geïnformeerd of de tumor volledig verdwenen is na de behandeling, of de tumor later ooit nog gerecidiveerd is en of het paard op andere plaatsen op het lichaam sarcoïden ontwikkeld heeft. Als het paard inmiddels niet meer in het bezit was van de eigenaar werd gevraagd naar de situatie op het moment van verkoop of overlijden en de datum daarvan werd genoteerd.

De descriptieve statistiek werd uitgevoerd met het programma R CRAN versie 3.0.2 (R Core Team, 2013). Er werd steeds onderscheid gemaakt tussen de resultaten op niveau van het individuele sarcoïd of op het niveau van het paard. Zo werd het resultaat op niveau van het sarcoïd beschouwd als gunstig wanneer het sarcoïd volledig verdwenen was. Sarcoïden die verkleind maar niet verdwenen waren werden beschouwd als een partieel gunstig resultaat terwijl sarcoïden die stabiel gebleven waren of groeiden als ongunstig resultaat genoteerd werden. De analyses werden gedaan op de totale groep sarcoïden en op de subgroepen van de verschillende typen sarcoïden en de verschillende behandelingen. Op paardniveau werd het resultaat van de behandeling als gunstig beschouwd als alle sarcoïden bij het betreffende paard volledig verdwenen waren. In alle andere gevallen werd het resultaat als ongunstig beschouwd. De analyse werd gedaan op de totale groep paarden en op de subgroepen van de verschillende typen sarcoïden en de verschillende behandelingen.

Het script dat ingevoerd werd in R CRAN om tot deze resultaten te komen is terug te vinden in appendix I.

De verklarende statistiek werd uitgevoerd met SPSS versie 22.0 (IBM Corp., 2013) op de paarden waarvan de follow up informatie bekend was. Om verbanden tussen de grootheden te testen werd steeds gebruik gemaakt van de Chi kwadraat test. De grootte van significante verbanden werd ingeschat aan de hand van de niet-gestandaardiseerde residuele waarden.

## Resultaten

### BESCHRIJVENDE STATISTIEK

Er werden in totaal 314 paarden geselecteerd uit het digitale archief voor deze studie. Binnen de groep patiënten waren er 133 merries, 147 ruinen, 33 hengsten en van 1 paard werd het geslacht niet genoteerd. De paarden in de database hadden een gemiddelde leeftijd van 8,79 jaar op het moment van behandeling met een minimum van 0 en een maximum van 26,86 jaar (standaarddeviatie (SD) 4,53). Er waren 5 paarden waarvan de leeftijd op het moment van behandelen niet bekend was. Op sarcoïdniveau was de gemiddelde leeftijd van het paard met het sarcoïd op het moment van behandelen 8,57 jaar (SD 4,16). Er waren 191 paarden in de database waarvoor de follow up informatie beschikbaar was, deze paarden hadden samen 486 sarcoïden. Voor de analyse werden de paarden met follow up informatie naar leeftijd ingedeeld in vier groepen (A: < 5 jaar, B: 5 – 10 jaar, C: 10 – 15 jaar, D > 15 jaar). De verdeling van de paarden en de sarcoïden over de verschillende groepen is respectievelijk terug te vinden in tabel 1 en tabel 2.

Tabel 1. Leeftijd op paardniveau op het moment van behandeling met percentage ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan de leeftijd bekend is.

	Aantal	Percentage	Valide percentage
<b>A</b>	19	9,95 %	10,00 %
<b>B</b>	110	57,59 %	57,89 %
<b>C</b>	42	22,00 %	22,11 %
<b>D</b>	19	9,95 %	10,00 %
<b>Totaal</b>	190	99,48 %	100,00 %
<b>Onbekend</b>	1	0,52 %	

Tabel 2. Leeftijd paarden op sarcoïdniveau op het moment van behandeling met percentage ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan de leeftijd bekend is.

	Aantal	Percentage	Valide percentage
<b>A</b>	64	13,17 %	13,20 %
<b>B</b>	268	55,14 %	55,26 %
<b>C</b>	113	23,25 %	23,30 %
<b>D</b>	40	8,23 %	8,25 %
<b>Totaal</b>	485	99,79 %	100,00 %
<b>Onbekend</b>	1	0,21 %	

In totaal werden er 865 sarcoïden bekeken binnen deze studie. Het gemiddeld aantal sarcoïden per paard was 2,75 met een minimum van 1 en een maximum van 29 (SD 3,23). 387 sarcoïden kwamen voor bij een ruïn, 405 bij een merrie, 72 bij een hengst en 1 sarcoïd bij een paard met onbekend geslacht. Er waren 120 occulte, 87 nodulaire, 208 verruceuze, 96 fibroblastische en 174 gemengde tumoren aanwezig en van 180 sarcoïden was het type onbekend. In deze studie waren er 69 paarden met occulte sarcoïden, 66 met nodulaire sarcoïden, 89 met verruceuze sarcoïden, 71 met fibroblastische sarcoïden en 122 met gemengde

sarcoïden. 84 paarden hadden sarcoïden van een onbekend type. Er waren 202 geulcereerde sarcoïden en 663 niet-geulcereerde sarcoïden. Het aantal primaire sarcoïden was 656 terwijl er 197 recidieven en 12 sarcoïden met een onbekende voorgeschiedenis bekeken werden. De sarcoïden werden op basis van het oppervlak dat zij innamen ingedeeld in 3 categorieën, klein (< 25 cm<sup>2</sup>), middel (25-100 cm<sup>2</sup>) en groot (>100 cm<sup>2</sup>). In tabel 3 is weergegeven hoe de sarcoïden over deze 3 categorieën verdeeld zijn.

Tabel 3. Indeling op basis van de afmetingen van het oppervlak op sarcoïdniveau met percentage ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan de grootte bekend is.

	Aantal	Percentage	Valid percentage
<b>Groot</b>	10	2,06 %	3,56 %
<b>Klein</b>	233	47,94 %	82,92 %
<b>Middel</b>	38	7,82 %	13,52 %
<b>Totaal</b>	281	57,82 %	100,00 %
<b>Onbekend</b>	205	42,18 %	

Het aantal sarcoïden waarop elke behandeling werd toegepast binnen deze studie is samengevat in tabel 4. Hierin is het aantal keer dat elke behandeling gekozen werd ook uitgedrukt in een percentage ten opzichte van het totaal aantal sarcoïden in die categorie. De excisie werd het meeste uitgevoerd op sarcoïden in het algemeen (48,90 %) en werd ook binnen elk type sarcoïd het meest gedaan. Topicale applicatie van acyclovir is de tweede meeste gekozen behandeling over alle sarcoïden (11,68 %). Binnen de groep van occulte sarcoïden neemt deze behandeling een belangrijke plaats in met 37,50 % en ook bij de gemengde sarcoïden wordt relatief vaak voor acyclovir gekozen (14,94 %). Een derde veel gebruikte therapie voor equine sarcoïden in deze studie was de topicale applicatie van imiquimod. In de totale groep van sarcoïden werd dit toegepast in 10,98 % van de gevallen, bij occulte (15,83 %) en verruceuze (12,98 %) was dit percentage zelfs nog hoger.

Tabel 4. Toegepaste behandelingen in absolute aantallen en percentages

Behandeling	Alle sarcoïden		Occult		Nodulair		Verruceus		Fibroblastisch		Gemengd		Onbekend	
Acyclovir	101	11,68 %	45	37,50 %	4	4,60 %	14	6,73 %	4	4,17 %	26	14,94 %	8	4,44 %
Autovaccinatie	16	1,85 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %	16	8,89 %
BCG	70	8,09 %	3	2,50 %	16	18,39 %	8	3,85 %	8	8,33 %	17	9,77 %	18	10,00 %
Chemotherapie	27	3,12 %	0	0,00 %	4	4,60 %	1	0,48 %	7	7,29 %	8	4,60 %	7	3,89 %
Cryochirurgie	63	7,28 %	0	0,00 %	5	5,75 %	14	6,73 %	20	20,83 %	8	4,60 %	16	8,89 %
Excisie	423	48,90 %	50	41,67 %	48	55,17 %	137	65,87 %	40	41,67 %	73	41,95 %	75	41,67 %
Excisie + chem.	63	7,28 %	3	2,50 %	8	9,20 %	4	1,92 %	14	14,58 %	23	13,22 %	11	6,11 %
IL-12	1	0,12 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %	1	0,57 %	0	0,00 %
Imiquimod	95	10,98 %	19	15,83 %	1	1,15 %	27	12,98 %	3	3,13 %	17	9,77 %	29	16,11 %
Knottenbeltzalf	2	0,23 %	0	0,00 %	1	1,15 %	1	0,48 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Zorac	2	0,23 %	0	0,00 %	0	0,00 %	1	0,48 %	0	0,00 %	0	0,00 %	0	0,00 %
Onbekend	2	0,23 %	0	0,00 %	0	0,00 %	1	0,48 %	0	0,00 %	1	0,57 %	0	0,00 %
<b>Totaal</b>	<b>865</b>	<b>100,00 %</b>	<b>120</b>	<b>100,00 %</b>	<b>87</b>	<b>100,00 %</b>	<b>208</b>	<b>100,00 %</b>	<b>96</b>	<b>100,00 %</b>	<b>174</b>	<b>100,00 %</b>	<b>180</b>	<b>100,00 %</b>



In tabel 5 zijn de resultaten van de behandeling op paardniveau weergegeven. Er werden in totaal 314 paarden behandeld, maar omdat de eigenaren onbereikbaar waren konden er geen gegevens verzameld worden over de resultaten bij 128 paarden. Dit komt overeen met 40,76 % van het totaal aantal patiënten en het percentage gunstige en ongunstige resultaten na behandeling werd daarom enkel berekend op basis van de paarden waarvan de follow up informatie bekend was. Na de follow up periode waren 127 paarden nog volledig vrij van sarcoïden, dat komt overeen met 68,28%. Bij 59 paarden (31,72 %) sloeg de behandeling niet aan of waren er recidieven.

Tabel 5. Resultaat van de behandeling op paardniveau in absolute aantallen en percentages met percentage ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan het resultaat bekend is.

	Aantal	Percentage	Valide percentage
<b>Gunstig</b>	127	40,45%	68,28%
<b>Ongunstig</b>	59	18,79%	31,72%
<b>Totaal</b>	186	59,24%	100,00%
<b>Loss</b>	128	40,76%	

Van de 865 behandelde sarcoïden was de uitslag in 365 gevallen gunstig, in 19 gevallen partieel gunstig, in 102 gevallen ongunstig (zie tabel 6). Over 379 sarcoïden is geen follow up informatie bekend, dit komt overeen met 43,82 % van het totaal aantal sarcoïden. In tabel 4 zijn daarom de succesratio's berekend in percentages en valide percentages. Binnen deze studie had een willekeurig sarcoïd 75,10 % kans om na behandeling volledig te verdwijnen en geen recidief te vertonen tenminste 6 maanden na de behandeling.

Tabel 6. Resultaat van behandeling op sarcoïdniveau per type sarcoïd in absolute aantallen (eerste waarde), percentages (tweede waarde) en valide percentages (derde waarde). Percentage berekend ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan het resultaat bekend is.

Type sarcoïd	Gunstig			Ongunstig			Partieel			Totaal			Loss	
<b>Fibroblastisch</b>	40	41,67 %	72,73 %	14	14,58 %	25,45 %	1	1,04 %	1,82 %	55	57,29 %	100,00 %	41	42,71 %
<b>Nodulair</b>	39	44,83 %	75,00 %	10	11,49 %	19,23 %	3	3,45 %	5,77 %	52	59,77 %	100,00 %	35	40,23 %
<b>Occult</b>	49	40,83 %	74,24 %	8	6,67 %	12,12 %	9	7,50 %	13,64 %	66	55,00 %	100,00 %	54	45,00 %
<b>Verruceus</b>	99	47,60 %	81,15 %	22	10,58 %	18,03 %	1	0,48 %	0,82 %	122	58,65 %	100,00 %	86	41,35 %
<b>Gemengd</b>	68	39,08 %	68,69 %	28	16,09 %	28,28 %	3	1,72 %	3,03 %	99	56,90 %	100,00 %	75	43,10 %
<b>Onbekend</b>	70	38,89 %	76,09 %	20	11,11 %	21,74 %	2	1,11 %	2,17 %	92	51,11 %	100,00 %	88	48,89 %
<b>Totaal</b>	365	42,20 %	75,10 %	102	11,79 %	20,99 %	19	2,20 %	3,91 %	486	56,18 %	100,00 %	379	43,82 %

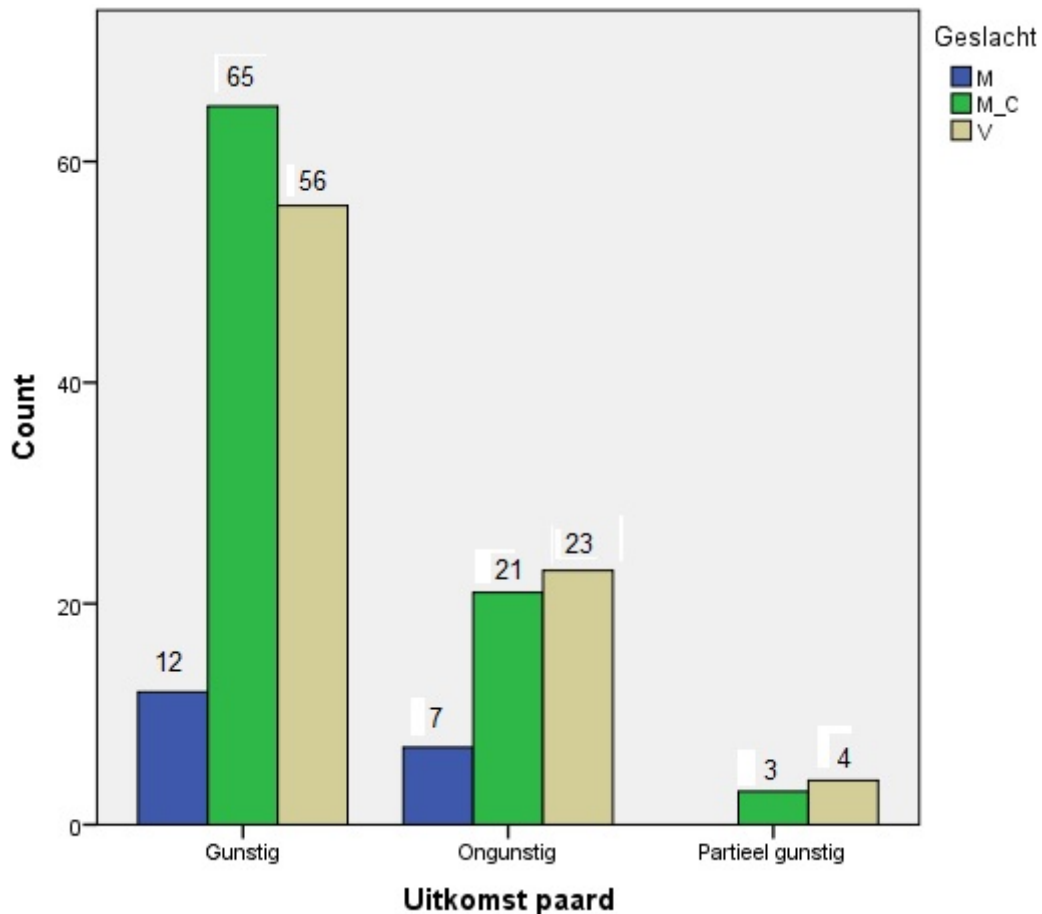
De resultaten voor elke gekozen behandeling zijn samengevat in tabel 7. Excisie is met een succesratio van 87,75 % de meest succesvolle therapie. Autovaccinatie en Knottenbelt zelf scoren eveneens goed, maar het aantal sarcoïden waarop dit werd toegepast is te klein om een betrouwbaar resultaat te bekomen. De minst succesvolle therapie is BCG vaccinatie met een succesratio van 48,28 %.

Tabel 7. Resultaat van de behandeling op sarcoïdniveau per behandeling in absolute aantallen, percentages en valide percentages. Percentage berekend ten opzichte van de totale groep en valide percentage ten opzichte van alle paarden waarvan het resultaat van de behandeling bekend is.

Behandeling	Gunstig			Ongunstig			Partieel gunstig			Totaal			Loss	
Excisie	222	52,48 %	87,75 %	29	6,86 %	11,46 %	2	0,47 %	0,79 %	253	59,81 %	100,00 %	170	40,19 %
Acyclovir	27	26,73 %	58,70 %	10	9,90 %	21,74 %	9	8,91 %	19,57 %	46	45,54 %	100,00 %	55	54,46 %
Imiquimod	31	32,63 %	67,39 %	11	11,58 %	23,91 %	4	4,21 %	8,70 %	46	48,42 %	100,00 %	49	51,58 %
BCG	14	20,00 %	48,28 %	14	20,00 %	48,28 %	1	1,43 %	3,45 %	29	41,43 %	100,00 %	41	58,57 %
Cryochirurgie	24	38,10 %	55,81 %	18	28,57 %	41,86 %	1	1,59 %	2,33 %	43	68,25 %	100,00 %	20	31,75 %
Excisie + chem.	18	28,57 %	69,23 %	8	12,70 %	30,77 %	0	0,00 %	0,00 %	26	41,27 %	100,00 %	37	58,73 %
Chemotherapie	12	46,15 %	54,55 %	8	30,77 %	36,36 %	2	7,69 %	9,09 %	22	84,62 %	100,00 %	4	15,38 %
Autovaccinatie	14	87,50 %	87,50 %	2	12,50 %	12,50 %	0	0,00 %	0,00 %	16	100,00 %	100,00 %	0	0,00 %
Knottenbeltzalf	2	100,00 %	100,00 %	0	0,00 %	0,00 %	0	0,00 %	0,00 %	2	100,00 %	100,00 %	0	0,00 %
Zorac	0	0,00 %	0,00 %	0	0,00 %	0,00 %	1	50,00 %	100,00 %	1	0,00 %	100,00 %	1	50,00 %
IL-12	0	0,00 %	0,00 %	1	100,00 %	100,00 %	0	0,00 %	0,00 %	1	100,00 %	100,00 %	0	0,00 %
Onbekend	0	0,00 %	0,00 %	0	0,00 %	0,00 %	0	0,00 %	0,00 %	0	0,00 %	0,00 %	2	100,00 %

## VERKLARENDE STATISTIEK

Op paardniveau was er geen significant verband ( $p > 0,05$ ) tussen geslacht van het paard en het resultaat van de behandeling (zie figuur 1). Ook de leeftijdscategorie waartoe een paard behoorde bleek geen verband te vertonen met het resultaat van de behandeling ( $p > 0,05$ ).



Figuur 1. Gegroepeerde frequenties op basis van het geslacht van het paard en het resultaat van de behandeling. (M: mannelijk, M\_C: mannelijk gecastreerd en V: vrouwelijk)

Er werd op sarcoïdniveau een significant verband ( $p < 0,001$ ) gevonden tussen het type sarcoïd en gebruikte behandeling. Fibroblastische sarcoïden werden het vaakst behandeld met cryotherapie (ongestandaardiseerde residuele waarde (NSR) 6,2) of chemotherapie (NSR 4,8). Gemengde sarcoïden werden het vaakst met imiquimod behandeld (NSR 4,2) en het minst vaak met excisie (NSR -8,4). Nodulaire sarcoïden werden niet vaak met acyclovir (NSR -4,5) of imiquimod (NSR -4,1) behandeld maar wel vaak met BCG (NSR 6,0). Bij occulte sarcoïden werd juist wel vaak acyclovir toegepast (NSR 10,9) en slechts weinig cryotherapie (NSR -5,7). Verruceuze sarcoïden ten slotte werden het vaakst behandeld door middel van excisie (NSR 9,9 en het minst door middel van BCG (NSR -5,1).

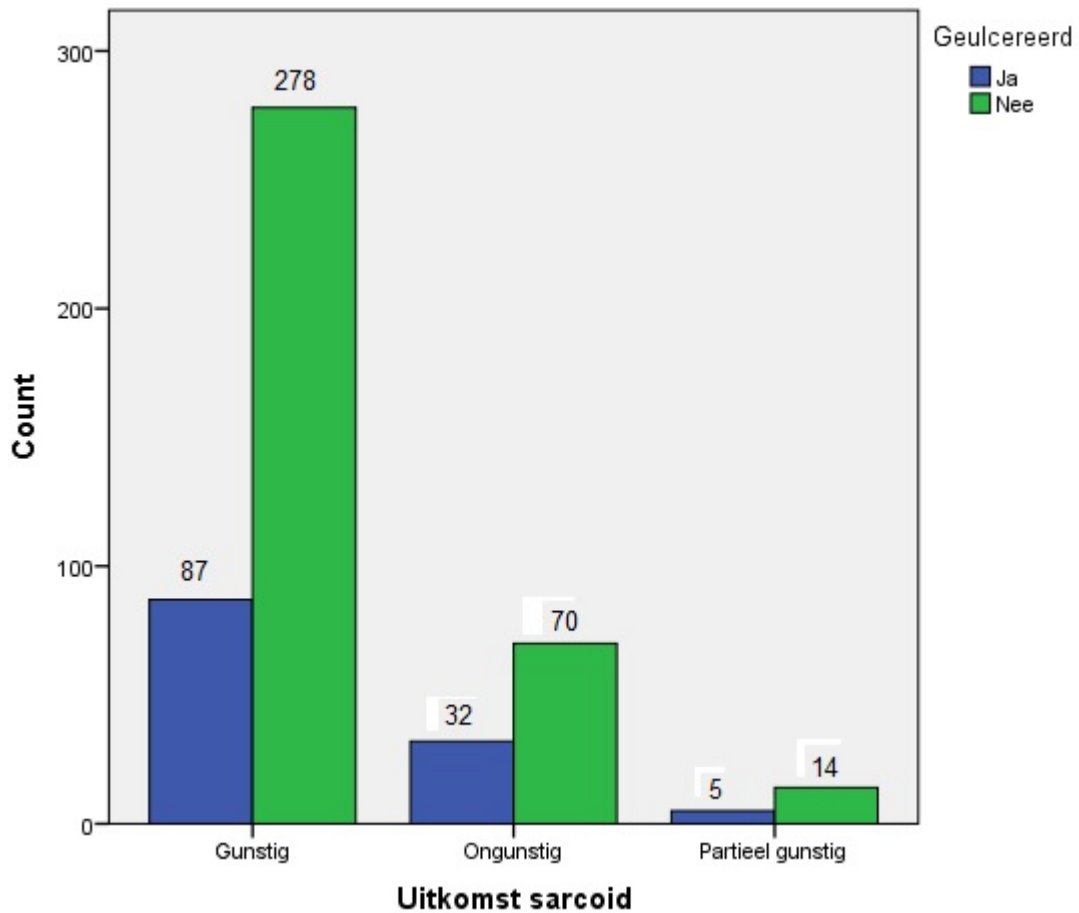
Tussen het de afmetingen van het oppervlak van het sarcoïd en de gekozen behandeling werd op sarcoïdniveau een significant verband ( $p < 0,01$ ) gevonden. Kleine sarcoïden werden het meest behandeld door middel van excisie (NSR 5,3), imiquimod (NSR 3,8) of acyclovir (NSR 3,3). Bij middelgrote sarcoïden werden vooral cryochirurgie (NSR 2,9) en excisie met chemotherapie (NSR 2,6) veel gebruikt.

Er werd een significant verband ( $p < 0,001$ ) aangetoond op sarcoïdniveau tussen al of niet geulcereerd zijn en de keuze van behandeling. Bij geulcereerde sarcoïden werd eerder gekozen voor cryotherapie (NSR 12,0) en veel minder voor excisie (NSR -9,8). Bij niet geulcereerde sarcoïden was deze relatie omgekeerd.

Tussen het al of niet recidief zijn en de keuze van behandeling werd een significant verband ( $p < 0,001$ ) gevonden op sarcoïdniveau. Recidieven werden vaker behandeld met cryotherapie (NSR 14,6) en minder vaak met excisie (NSR -7,9) terwijl dit voor primaire tumoren andersom is. Eveneens werd er een verband gevonden tussen al of niet recidief zijn en het type sarcoïd. Recidieven zijn vaker fibroblastisch (NSR 8,8) terwijl primaire sarcoïden vaker occult zijn (NSR 8,0)

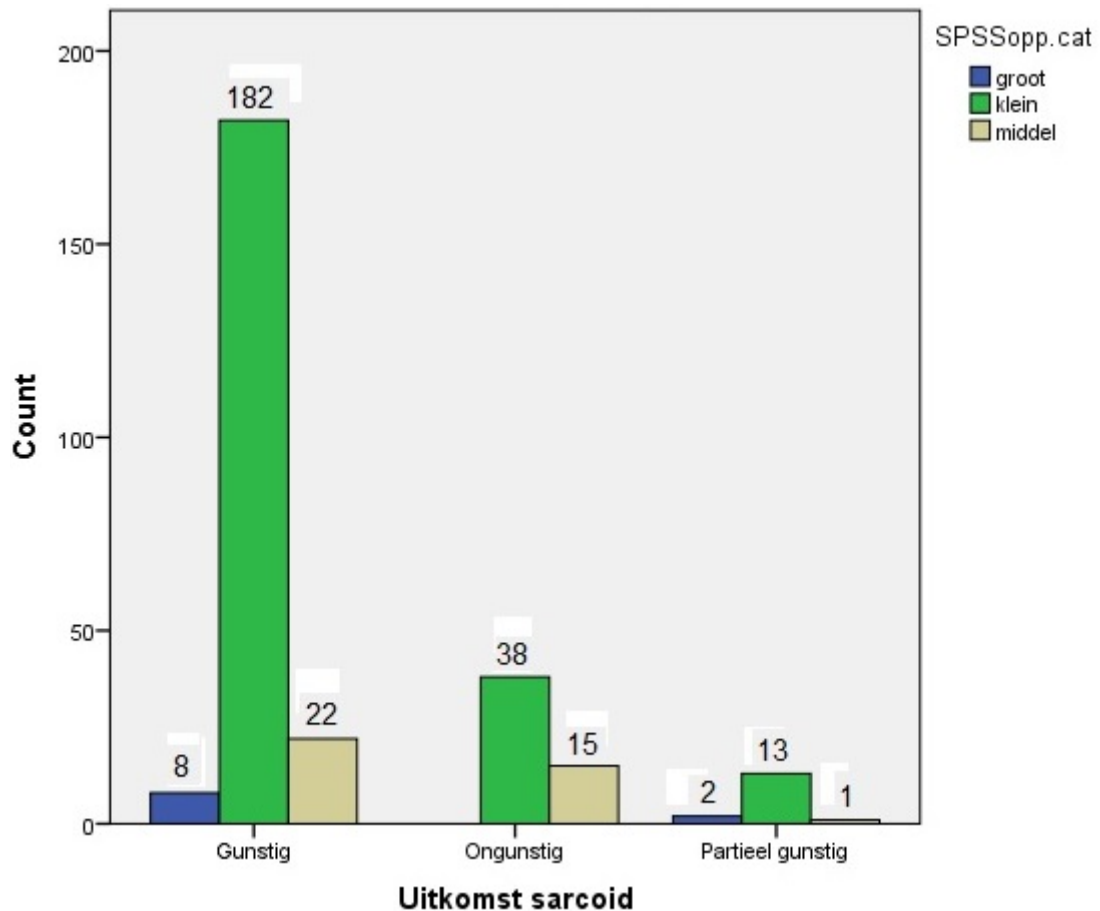
Er werd op sarcoïdniveau een significant verband ( $p < 0,01$ ) gevonden tussen type sarcoïd en de resultaat van de behandeling. Zo hadden verruceuze sarcoïden een gunstig resultaat in 81,15 % (NSR 7,4) van de gevallen terwijl sarcoïden van het gemengde type veel vaker een ongunstig resultaat na behandelen vertonen (NSR 7,3). Sarcoïden van het fibroblastische type waren eveneens significant geassocieerd met ongunstige uitslagen, maar deze associatie was minder sterk (NSR 2,5) dan bij de gemengde sarcoïden.

Tussen het al of niet geulcereerd zijn en de resultaat van de behandeling kon op sarcoïdniveau geen significant verband ( $p > 0,05$ ) aangetoond worden (zie figuur 2). Er was wel een trend zichtbaar waarbij geulcereerde sarcoïden meer tot ongunstige resultaten leidden (NSR 6,0) terwijl niet geulcereerde sarcoïden vaker een gunstig resultaat hadden (NSR 6,1).



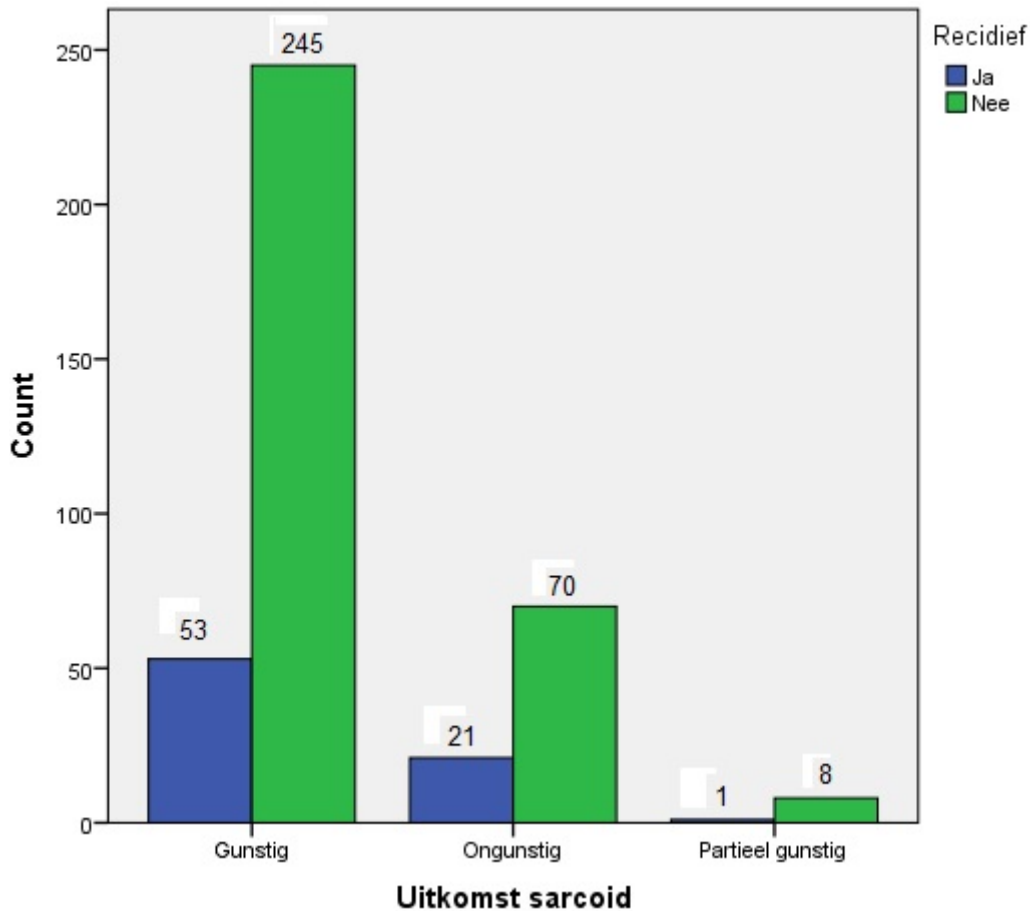
Figuur 2. Gegroepeerde frequenties op basis van de aanwezigheid van ulceraties en het resultaat van de behandeling.

Er werd een significant verband ( $p < 0,01$ ) gevonden tussen de afmetingen van het oppervlak van het sarcoïd en het resultaat van de behandeling op sarcoïdniveau (zie figuur 3). Kleine sarcoïden hadden duidelijk meer gunstige resultaten (NSR 6,2), terwijl middelgrote sarcoïden vaker tot ongunstige resultaten leidden (NSR 7,8). Ook tussen de afmetingen van het oppervlak van het sarcoïd en het type werd een significant verband gevonden. Verruceuze sarcoïden zijn vaker klein (NSR 8,2), terwijl gemengde sarcoïden vaker middelgroot zijn (NSR 9,0)



Figuur 3. Gegroepeerde frequenties op basis van de afmetingen van het oppervlak van het sarcoïd en het resultaat van de behandeling.

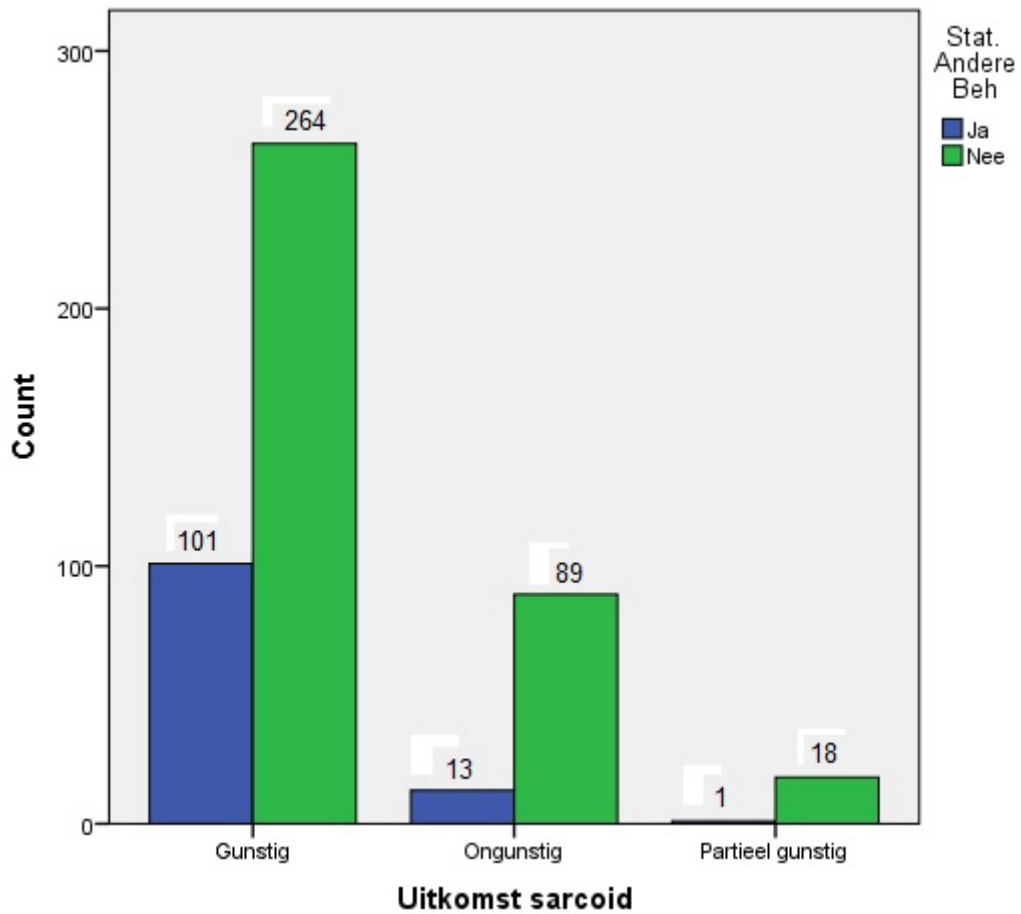
Er werd op sarcoïdniveau geen significant verband ( $p > 0,05$ ) aangetoond tussen het al of niet recidief zijn en de gekozen behandeling. Er was wel een trend zichtbaar waarbij recidieven meer ongunstige resultaten (NSR 3,9) hadden en primaire tumoren meer gunstige resultaten (NSR 3,2), maar dit was niet significant (Zie figuur 4).



Figuur 4. Gegroepeerde frequenties op basis van al of niet recidief zijn en het resultaat van de behandeling.

Er werd op sarcoïdniveau een significant verband ( $p < 0,001$ ) gevonden tussen gebruikte behandeling en resultaat van de behandeling. De behandeling die het vaakst tot gunstige resultaten leidde was excisie (NSR 31,2), terwijl excisie met chemotherapie het vaakst leidde tot een ongunstig resultaat (NSR 9,0).

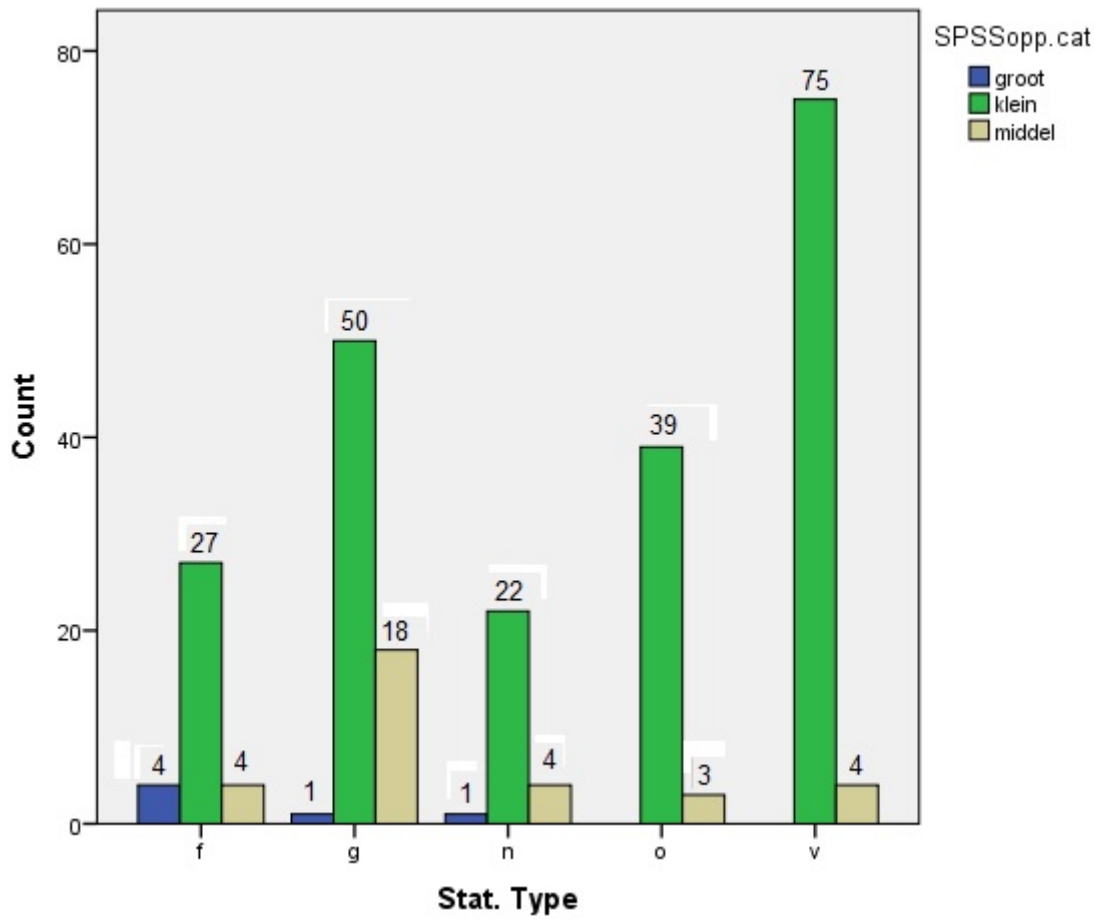
Er was op sarcoïdniveau een significant verband ( $p < 0,01$ ) tussen het resultaat van de behandeling en het al dan niet parallel behandelen van een ander letsel op het lichaam met een immunostimulerend middel (zie figuur 5). Als er tegelijkertijd een andere immunostimulerende behandeling werd toegepast was de kans op een gunstig resultaat groter voor het beschouwde sarcoïd (NSR 14,6). Als er geen andere behandeling toegepast werd was de kans op een ongunstig resultaat groter (NSR 11,1).



Figuur 5. Gegroepeerde frequenties op basis van immunostimulerende behandeling elders op het lichaam en resultaat van de behandeling.

Het oppervlak dat het sarcoïd innam was significant gecorreleerd met het type ( $p < 0,001$ ). Gemengde sarcoïden waren vaker groot (NSR 9,0) terwijl verruceuze sarcoïden juist vaker klein waren (NSR 8,2). Dit verband is zichtbaar gemaakt in figuur 6.





Figuur 6. Gegroepeerde frequenties op basis van type sarcoid en de afmetingen van het oppervlak.

## Bespreking

De resultaten gevonden in deze studie komen voor een groot deel overeen met de informatie die al bekend was over equine sarcoïden uit eerdere publicaties. Geslacht en leeftijd van de paarden hadden geen significante invloed op de uitkomst van de behandeling. De meeste paarden in deze studie hadden een leeftijd tussen vijf en tien jaar, de gemiddelde leeftijd op paardniveau was 8,79 jaar. In de literatuur wordt beschreven dat paarden sarcoïden ontwikkelen op een gemiddelde leeftijd van 3,5 tot 4 jaar (Broström, 1995) terwijl de incidentie het hoogste is bij paarden tussen 3 en 6 jaar oud (Broström, 1995; Foy et al, 2002; Scott en Miller, 2003). Dat verschil zou verklaard kunnen worden door het feit dat de leeftijd waarvan in deze studie gesproken wordt de leeftijd is waarop het paard behandeld werd. Het sarcoïd is dan meestal al enige tijd aanwezig en kan zich dus op jongere leeftijd ontwikkeld hebben. De paarden in deze studie vormen geen aselechte steekproef uit de populatie dus over predisponerende factoren voor het ontwikkelen van sarcoïden kunnen geen uitspraken gedaan worden.

Binnen de huidige studie is excisie de meest uitgevoerde en ook de meest succesvolle behandeling (87,75 % gunstige resultaten). Dit resultaat komt ongeveer overeen met de 82 % succesratio die beschreven wordt door Martens et al (2001b), maar staat in contrast met het groot aantal recidieven dat gerapporteerd werd door McConaghy et al (1994) en Broström (1995). De zeer zorgvuldige toepassing van de non-touch techniek en het verwijderen van een ruime marge gezond weefsel werden al eerder genoemd als belangrijke factoren voor een hoge succesratio bij deze behandeling (Martens et al, 2001b; Hewes en Sullins, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). In de literatuur wordt vermeld dat er chemotherapie of een andere aanvullende therapie toegepast kan worden als men niet zeker is dat al het tumorale weefsel verwijderd is (Scott, 2011). In de huidige studie werd een minder goed resultaat gevonden voor excisie in combinatie met chemotherapie dan voor excisie alleen. Dit kan wellicht verklaard worden door het feit dat de combinatie van excisie en chemotherapie veel toegepast wordt bij tumoren op moeilijk bereikbare plaatsen of als men niet zeker is of men het volledige sarcoïd heeft kunnen wegnemen.

De BCG vaccinatie is in deze studie de minst succesvolle behandeling met 48,28 %. Dat percentage is lager dan de 83 tot 100 % rond de ogen en ongeveer 50 % op andere plaatsen op het lichaam die in verschillende publicaties genoemd worden (Knottenbelt en Kelly, 2000; Scott en Miller, 2003; Komáromy et al, 2004; Bogaert et al, 2008c; Buechner-Maxwell, 2009; Taylor en Haldorson, 2013). Dit zou verklaard kunnen worden door de relatief kleine groep van 30 patiënten die behandeld werden en waar de follow up informatie bekend is. De ernstige bijwerkingen zoals anafylactische reacties en sterfte die in verband gebracht worden met gebruik van levende verzwakte mycobacterium bovis entingen (Carr, 2003; Scott, 2011) werden niet gezien.

Behandelingen door middel van cryotherapie leidden in 55,81 % van de gevallen tot een gunstig resultaat. Dat is minder dan de 70 tot 80 % die beschreven wordt in de publicatie van Martens et al (2001b). Een mogelijke verklaring hiervoor is het feit dat cryotherapie in de huidige studie voor vaak gebruikt werd voor actieve, snel groeiende sarcoïden. Zulke tumoren hebben meer kans op een ongunstig resultaat na behandeling (Broström, 1995).

De conclusie dat grote sarcoïden moeilijker te genezen zijn die uit deze studie getrokken kan worden is in overeenstemming met de reeds beschikbare informatie in de literatuur (Broström, 1995; Goodrich et al, 1998). Het verband tussen de afmetingen van het oppervlak van het sarcoïd en het resultaat van de behandeling is significant door de resultaten van de kleine en de middelgrote sarcoïden. De groep van de grote sarcoïden is te klein om bij te dragen aan dit verband. Het was daarom mogelijk beter geweest om de sarcoïden slechts in 2 groepen op te splitsen naar oppervlakte met als grenswaarde 25 cm<sup>2</sup>.

De verbanden die significante resultaten opleverden werden allemaal onderzocht op niveau van het individuele sarcoïd. Zo was er een verband tussen type sarcoïd en het resultaat van de behandeling. De resultaten waren het meest gunstig voor verruceuze sarcoïden en het meest ongunstig voor gemengde sarcoïden. Dit kan wellicht verklaard worden door het feit dat gemengde sarcoïden vaker middelgroot zijn terwijl verruceuze sarcoïden juist vaker klein zijn. Fibroblastische sarcoïden groeien het meest actief en men zou dus kunnen verwachten dat deze groep het moeilijkst te behandelen zou zijn. In deze studie leidden de sarcoïden van het fibroblastische type wel vaker tot ongunstige uitslagen, maar deze associatie was minder sterk dan bij de gemengde sarcoïden. Dit kan veroorzaakt worden door het feit dat fibroblastische sarcoïden vaker recidieven zijn, de eigenaar is op dat moment reeds gesensibiliseerd en de paarden staan vaak onder controle van een dierenarts. Er kan dus verondersteld worden dat deze sarcoïden sneller aangepakt worden en waardoor de kans op een gunstig resultaat vergroot wordt. Deze hypothese wordt ondersteund door het feit dat slechts 27 van de 35 fibroblastische sarcoïden klein waren bij behandeling en slecht 4 groot, terwijl het gaat om het meest actief groeiende type.

Er werd een significant verband gevonden tussen de toepassing van immunostimulerende behandelingen op sarcoïden elders op het lichaam en het resultaat van de behandeling. De toepassing van een andere immunostimulerende behandeling leidt tot een grotere kans op een gunstig resultaat voor het beschouwde sarcoïd. Voor cryotherapie werd door Lane (1977) al beschreven dat het immuunsysteem gestimuleerd wordt waardoor mogelijk regressie optreedt van sarcoïden elders op het lichaam. Dat is in overeenstemming met hetgeen in de huidige studie aangetoond werd. Bij de toepassing van BCG vaccinaties zou een zelfde mechanisme verantwoordelijk kunnen zijn voor het grotere aantal gunstige resultaten voor behandelde sarcoïden elders op het lichaam.

Geulcereerde sarcoïden worden verondersteld over het algemeen actiever te groeien en daardoor moeilijker te behandelen te zijn. In de huidige studie werd wel een trend zichtbaar waarbij geulcereerde sarcoïden meer tot ongunstige resultaten leidden in tegenstelling tot niet geulcereerde sarcoïden. Er kon echter geen significant verband worden aangetoond tussen al of niet geulcereerd zijn en het resultaat van de behandeling. Dit werd mogelijk veroorzaakt door het feit dat de groepen zeer ongelijk verdeeld waren.

Tussen het al of niet recidief zijn en het resultaat van de behandeling kon werd eveneens geen significant verband aangetoond worden. Ook in dit geval is er wel een trend zichtbaar waarbij recidieven meer ongunstige resultaten zouden geven. In verschillende studies werd al aangetoond dat recidieven over het

algemeen sneller en meer invasief groeien in vergelijking met primaire sarcoïden (Knottenbelt en Walker, 1994; McConaghy et al, 1994; Carr et al, 2001a; Bogaert et al, 2008a). De kans op locale recidieven is ook groter bij sarcoïden die al eerder zonder succes behandeld werden (Martens et al, 2001b). Op basis van deze informatie zou verwacht kunnen worden dat recidieven minder gunstige resultaten geven na behandeling. Er werd wel een significant verband gevonden tussen het al of niet recidief zijn en het type sarcoïd. Recidieven zijn in deze vaker van het fibroblastisch type en in deze studie werd voor fibroblastische sarcoïden vaker cryotherapie gekozen als behandeling. Primaire tumoren waren vaker van het occulte type en in deze studie werden occulte sarcoïden vaker door middel van excisie of acyclovir behandeld.

De informatie uit deze studie kan erg nuttig zijn in de overweging of het verantwoord is een bepaald paard te behandelen. Als een paard slechts 1 sarcoïd heeft is de kans op een gunstig resultaat 6 maanden na behandeling 75,10 %. De gemiddelde succesratio voor paarden in deze studie is 68,28 %, dat kan wellicht verklaard worden door een slechtere prognose voor paarden met meerdere sarcoïden. Als men bij deze informatie de overige kenmerken van het paard en de sarcoïden in acht neemt kan de prognose juist ingeschat worden.

De eigenaren van 128 van de 314 paarden konden telefonisch niet bereikt worden, dit komt overeen met 43,82 % van het totaal aantal sarcoïden. Het zou dus goed zijn om hier nog wat meer tijd in te investeren om zo een meer compleet overzicht te krijgen van de resultaten van de behandelingen die binnen deze studie vallen. Met behulp van de extra gegevens is het misschien mogelijk om significante verbanden aan te tonen voor de trends met betrekking tot het resultaat van de behandeling in relatie tot het al dan niet recidief of geulcereerd zijn.

## Bronnenlijst

- Amtmann E., Müller H., Sauer G. (1980). Equine connective tissue tumors contain unintegrated bovine papilloma virus DNA. *Journal of Virology*. 35, 962-964.
- Ashrafi G. H., Piuko K., Burden F., Yuan Z., Gault E. A., Müller M., Trawford A., Reid S. W. J., Nasir L., Campo M. S. (2008). Vaccination of sarcoid-bearing donkeys with chimeric virus-like particles of bovine papillomavirus type 1. *Journal of general virology* 89, 148-157.
- Babjuk M., Burger M., Zigeuner R., Shariat S.F., van Rhijn B.W.G., Compérat E., Sylvester R. J., Kaasinen E., Böhle A., Redorta J. P., Rouprêt M. (2013). EAU Guidelines on Non-Muscle-invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder: Update 2013. *European Urology* 64, 639-653.
- Beutner K.R., Tying S.K., Trofatter K.F. Jr., Douglas J.M. Jr., Spruance S., Owens M.L., Fox T. L., Hougham A. J., Schmitt K. A. (1998). Imiquimod, a patient-applied immune-response modifier for treatment of external genital warts. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42, 789-794.
- Bogaert L., Martens A., De Baere C., Gasthuys F. (2005). Detection of bovine papillomavirus DNA on the normal skin and in the habitual surroundings of horses with and without equine sarcoids. *Research in Veterinary Science* 79, 253-258.
- Bogaert L., Martens A., Depoorter P., Gasthuys F. (2008b). Equine sarcoids, part 1: clinical presentation and epidemiology. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 2-9.
- Bogaert L., Martens A., Depoorter P., Gasthuys F. (2008c). Equine sarcoids, part 2: current treatment modalities. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 62-67.
- Bogaert L., Martens A., Kast W.M., Van Marck E., De Cock H. (2010). Bovine papillomavirus DNA can be detected in keratinocytes of equine sarcoid tumors. *Veterinary Microbiology* 146, 269-275.
- Bogaert L., Martens A., Van Poucke M., Ducatelle R., De Cock H., Dewulf J., De Baere C., Peelman L., Gasthuys F. (2008a). High prevalence of bovine papillomaviral DNA in the normal skin of equine sarcoid-affected and healthy horses. *Veterinary Microbiology* 129, 58-68.
- Bogaert L., Van Poucke M., De Baere C., Dewulf J., Peelman L., Ducatelle R., Gasthuys F., Martens, A. (2007). Bovine papillomavirus load and mRNA expression, cell proliferation and p53 expression in four clinical types of equine sarcoid. *Journal of General Virology* 88, 2155-2161.
- Brennan SA. (2000). Method employing imiquimod cream for treatment of topical sarcoidosis on equine. Google Patents
- Broström H., Fahlbrink E., Dubath M.L., Lazary S. (1988). Association between equine leucocyte antigens (ELA) and equine sarcoid tumors in the population of Swedish halfbreds and some of their families. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 19, 215-223.
- Broström H. (1995). A clinical and epidemiologic study in relation to equine leukocyte antigens (ELA). *Acta Veterinaria Scandinavica* 36, 223-236.
- Buechner-Maxwell V. (2009). Skin tumors. In: Robinson N.E. en Sprayberry K.A., (Editors) *Current therapy in equine medicine*, 6e editie, Saunders Elsevier, St. Louis, p. 692.

- Byam-Cook K.L., Henson F.M., Slater J.D. (2006). Treatment of periocular and non-ocular sarcoids in 18 horses by interstitial brachytherapy with iridium-192. *Veterinary Record* 159, 337-341.
- Campo M.S. (2002). Animal models of papillomavirus pathogenesis. *Virus Research* 89, 249-261.
- Campo M., Jarrett W., O'Neil W., Barron R. (1994). Latent papillomavirus infection in cattle. *Research in veterinary science* 56, 151-157.
- Carr E.A., Theon A.P., Madewell B.R., Griffey S.M., Hitchcock M.E. (2001a). Bovine papillomavirus DNA in neoplastic and nonneoplastic tissues obtained from horses with and without sarcoids in the western United States. *American Journal of Veterinary Research* 62, 741-744.
- Carr E. A., Théon A. P., Madewell B. R., Hitchcock M. E., Schlegel R., Schiller J. T. (2001b). Expression of a transforming gene (E5) of bovine papillomavirus in sarcoids obtained from horses. *American journal of veterinary research* 62, 1212-1217.
- Carr E.A. (2003). Equine sarcoid. In: Robinson NE (Editor) *Current therapy in equine medicine*, 4e editie, Saunders, St. Louis, p.203–205.
- Carr E.A. (2006). Skin conditions amenable to surgery. In: Auer M. en Stick (editors). *Equine Surgery*, Saunders, St. Louis, p. 309-320.
- Carr, E.A. (2009). New developments in diagnosis and treatment of equine sarcoids. In Robinson N.E. en Sprayberry K.A. (Editors) *Current therapy in equine medicine*, 6e editie, Saunders Elsevier St. Louis.
- Carstanjen B., Jordan P., Lepage O.M. (1997). Carbon dioxide laser as a surgical instrument for sarcoid therapy: a retrospective study on 60 cases. *The Canadian Veterinary Journal* 38, 773-776.
- Chambers G., Ellsmore V.A., O'Brien P.M., Reid S.W., Love S., Campo M.S., et al. (2003) Association of bovine papillomavirus with the equine sarcoid. *Journal of General Virology* 84, 1055-1062.
- Chen F.A., Kuriakose M.A., Zhou M.X., DeLacure M.D., Dunn R.L. (2003) Biodegradable polymer-mediated intratumoral delivery of cisplatin for treatment of human head and neck squamous cell carcinoma in a chimeric mouse model. *Head & Neck* 25, 554-560.
- Finlay M. (2011) *Equine sarcoids and bovine papillomavirus: unravelling the viral pathogenesis*, PhD thesis, University of Glasgow
- Finlay M., Yuan Z., Burden F., Trawford A., Morgan I. M., Saveria Campo M., Nasir L. (2009). The detection of Bovine Papillomavirus type 1 DNA in flies. *Virus research* 144, 315-317.
- Foy J.M., Rashmir-Raven A.M., Brashier M.K. (2002) Common equine skin tumors. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 24, 242.
- Gollnick H., Barasso R., Jappe U., Ward K., Eul A., Carey-Yard M., et al. (2001). Safety and efficacy of imiquimod 5 % cream in the treatment of penile genital warts in uncircumcised men when applied three times weekly or once per day. *International Journal of STD & AIDS* 12, 22-28.
- Goodrich L., Gerber H., Marti E., Antczak D. F. (1998) Equine sarcoids. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* 14, 607-623.
- Haralambus R., Burgstaller J., Klukowska-Rötzler J., Steinborn R., Buchinger S., Gerber V., Brandt S. (2010). Intralesional bovine papillomavirus DNA loads reflect severity of equine sarcoid disease. *Equine veterinary journal* 42, 327-331.

- Hartl B., Hainisch E. K., Shafti-Keramat S., Kimbauer R., Corteggio A., Borzacchiello G., Brandt S. (2011). Inoculation of young horses with bovine papillomavirus type 1 virions leads to early infection of PBMCs prior to pseudo-sarcoid formation. *Journal of General Virology* 92, 2437-2445.
- Henson F.M.D., Dobson J.M. (2004). Use of radiation therapy in the treatment of equine neoplasia. *Equine Veterinary Education* 16, 315-318.
- Hewes C.A., Sullins K.E. (2009). Review of the treatment of equine cutaneous neoplasia. *American Association of Equine Practitioners. Proceedings of the annual convention* 55, 386-393.
- IBM Corp. (2013). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Komáromy A. M., Andrew S. E., Brooks D. E., Detrisac C. J., Gelatt K. N. (2004). Periocular sarcoid in a horse. *Veterinary ophthalmology* 7, 141-146.
- Knottenbelt D.C. (2005) A Suggested Clinical Classification for the Equine Sarcoid. *Clinical Techniques in Equine Practice* 4, 278-295.
- Knottenbelt D.C., Kelly D.F. (2000). The diagnosis and treatment of periorbital sarcoid in the horse: 445 cases from 1974 to 1999. *Veterinary Ophthalmology* 3, 169-191.
- Knottenbelt D., Knottenbelt S., Edwards E.D. (1995). Diagnosis and treatment of the equine sarcoid. In *Practice* 17, 123-129.
- Knottenbelt D.C., Walker J.A. (1994). Topical treatment of the equine sarcoid. *Equine Veterinary Education* 6, 72-75.
- Lane J.G. (1977). The Treatment of Equine Sarcoids by Cryosurgery. *Equine Veterinary Journal* 9, 127-33.
- Mair T.S., Couto C.G. (2006). The use of cytotoxic drugs in equine practice. *Equine Veterinary Education* 18, 149-156.
- Mansell P. W., Litwin M. S., Ichinose H., Krementz E. T. (1975). Delayed hypersensitivity to 5-fluorouracil following topical chemotherapy of cutaneous cancers. *Cancer research* 35, 1288-1294.
- Marks R., Gebauer K., Shumack S., Amies M., Bryden J., Fox T.L., et al. (2001). Imiquimod 5 % cream in the treatment of superficial basal cell carcinoma: Results of a multicenter 6-week dose-response trial. *Journal of the American Academy of Dermatology* 44, 807-813.
- Martens A., De Moor A., Demeulemeester J., Ducatelle R. (2000) Histopathological characteristics of five clinical types of equine sarcoid. *Research in Veterinary Science* 69, 295-300.
- Martens A., De Moor A., Demeulemeester J., Peelman L. (2001a). Polymerase chain reaction analysis of the surgical margins of equine sarcoids for bovine papilloma virus DNA. *Veterinary Surgery* 30, 460-467.
- Martens A., De Moor A., Vlaminck L., Pille F., Steenhaut M. (2001b). Evaluation of excision, cryosurgery and local BCG vaccination for the treatment of equine sarcoids. *Veterinary Record* 149, 665-669.
- Martens A., De Moor A., Ducatelle R. (2001c). PCR detection of bovine papilloma virus DNA in superficial swabs and scrapings from equine sarcoids. *The Veterinary Journal* 161, 280-286.
- Mattil-Fritz S., Scharner D., Piuko K., Thönes N., Gissmann L., Müller H., Müller M. (2008). Immunotherapy of equine sarcoid: dose-escalation trial for the use of chimeric papillomavirus-like particles. *Journal of general virology* 89, 138-147.

- McCauley C. T., Hawkins J. F., Adams S. B., Fessler J. F. (2002). Use of a carbon dioxide laser for surgical management of cutaneous masses in horses: 32 cases (1993-2000). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220, 1192-1197.
- McConaghy F.F., Davis R.E., Reppas G.P., Rawlinson R.J., McClintock S.A., Hutchins D.R., et al. (1994). Management of equine sarcoids: 1975–93. *New Zealand Veterinary Journal* 42, 180-184.
- Meredith D., Elser A. H., Wolf B., Soma L. R., Donawick W. J. Lazary, S. (1986). Equine leukocyte antigens: relationships with sarcoid tumors and laminitis in two pure breeds. *Immunogenetics* 23, 221-225.
- Morton D.L., en Barth A. (1995). Local therapy with biologic agents. In: DeVita V.T., Hellmann S., Rosenberg S.A. (editors) *Biologic therapy of cancer*, 2e editie, Lippincott, Philadelphia, p. 691-704.
- Muto S., Nakajima A., Horiuchi A., Inoue M., China T., Saito K., et al. (2013) Maintenance Therapy with Intravesical Bacillus Calmette–Guérin in Patients with Intermediate- or High-risk Non-muscle-invasive Bladder Cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 43, 305-313.
- Nasir L., & Campo M. S. (2008). Bovine papillomaviruses: their role in the aetiology of cutaneous tumours of bovids and equids. *Veterinary dermatology* 19, 243-254.
- Nasir L., Reid S.W. (1999) Bovine papillomaviral gene expression in equine sarcoid tumours. *Virus Research* 61, 171-175.
- Nasir L., Gault E., Morgan I.M., Chambers G., Ellsmore V., Campo M.S. (2007) Identification and functional analysis of sequence variants in the long control region and the E2 open reading frame of bovine papillomavirus type 1 isolated from equine sarcoids. *Virology* 364, 355-361.
- Nogueira S.A., Torres S.M., Malone E.D., Diaz S.F., Jessen C., Gilbert S. (2006). Efficacy of imiquimod 5 % cream in the treatment of equine sarcoids: a pilot study. *Veterinary Dermatology* 17, 259-265.
- Ogawa T., Tomita Y., Okada M., Shinozaki K., Kubonoya H., Kaiho I., et al. (2004) Broad-spectrum detection of papillomaviruses in bovine teat papillomas and healthy teat skin. *Journal of general virology* 85, 2191-2197.
- Pascoe, R.R. en Knottenbelt, D.C. (1999). *Manual of Equine Dermatology*, W. B. Saunders, New York, p. 149-156.
- Paterson S. (1997). Treatment of superficial ulcerative squamous cell carcinoma in three horses with topical 5-fluorouracil. *Veterinary record* 141, 626-628.
- Pulley L.T. en Stannard A.A. (1990). Skin and soft tissues. In: Moulton J.E. (Editor). *Tumours in domestic animals*, University of California Press, Los Angeles, p. 27-31.
- R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Salasche S.J., Levine N., Morrison L. (2002). Cycle therapy of actinic keratoses of the face and scalp with 5 % topical imiquimod cream: An open-label trial. *Journal of the American Academy of Dermatology* 47, 571-577.
- Sauder DN. (2000). Immunomodulatory and pharmacologic properties of imiquimod. *Journal of the American Academy of Dermatology* 43, S6-11.



- Scott D.W. en Miller W.J. (2003). Neoplastic and non-neoplastic tumors. In: Scott D.W. en Miller W.J. (Editors) *Equine dermatology*, WB Saunders Co, St. Louis, p. 698–795.
- Scott D.W. (2011). Neoplasms, Cysts, Hamartomas, and Keratoses. In: Scott D.W. en Miller W.J. (Editors) *Equine dermatology*, 2e editie, WB Saunders Co, St. Louis, p. 479-488.
- Stadler S., Kainzbauer C., Haralambus R., Brehm W., Hainisch E., Brandt S. (2011). Successful treatment of equine sarcoids by topical aciclovir application. *Veterinary Record* 168, 11.
- Stewart A.A., Rush B., Davis E. (2006). The efficacy of intratumoural 5-fluorouracil for the treatment of equine sarcoids. *Australian Veterinary Journal* 84, 101-106.
- Taylor S., Haldorson G. (2013). A review of equine sarcoid. *Equine Veterinary Education* 25, 210-216.
- Tamzali Y., Teissie J., Rols M. (2001) Cutaneous tumor treatment by electrochemotherapy: preliminary clinical results in horse sarcoids. *Révue de Médecine Vétérinaire* 152, 605-610.
- Theon A.P. (1998). Intralesional and topical chemotherapy and immunotherapy. *Veterinary Clinics of North America Equine Practice* 14, 659-671.
- Theon A.P., Pascoe J.R. (1995). Iridium-192 interstitial brachytherapy for equine periocular tumours: treatment results and prognostic factors in 115 horses. *Equine Veterinary Journal* 27, 117-121.
- Theon A.P., Pascoe J.R., Carlson G.P., Krag D.N. (1993). Intratumoral chemotherapy with cisplatin in oily emulsion in horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202, 261-267.
- Theon A.P., Pascoe J.R., Meagher D.M. (1994). Perioperative intratumoral administration of cisplatin for treatment of cutaneous tumors in equidae. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 205, 1170-1176.
- Theon A.P., Wilson W.D., Magdesian K.G., Pusterla N., Snyder J.R., Galuppo L.D. (2007) Long-term outcome associated with intratumoral chemotherapy with cisplatin for cutaneous tumors in equidae: 573 cases (1995-2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 230, 1506-1513.
- Van Roggen, G., Fletcher, M. (1999) Myxoid tumours of soft tissue. *Histopathology* 35, 291-312.
- Vanselow B. A., Abetz I., Jackson A. R. B. (1988). BCG emulsion immunotherapy of equine sarcoid. *Equine veterinary journal* 20, 444-447.
- Walker M., Adams W., Hoskinson J., Held J.P., Blackford J., Geiser D., et al. (1991) Iridium-192 brachytherapie for equine sarcoid, one and two year remission rates. *Veterinary radiology* 32, 206-208.
- Wobeser B. K., Davies J. L., Hill J. E., Jackson M. L., Kidney B. A., Mayer M. N., Allen A. L. (2010). Epidemiology of equine sarcoids in horses in western Canada. *The Canadian Veterinary Journal* 51, 1103.
- Yuan Z., Gallagher A., Gault E.A., Campo M.S., Nasir L. (2007) Bovine papillomavirus infection in equine sarcoids and in bovine bladder cancers. *Veterinary Journal* 174, 599-604.