

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2003

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2003

© 2003 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Wettenberg
Printed in Germany

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE
www.vvb-ips.de

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. M. Reinacher

**Untersuchungen zu Einteilung und Pathogenese
des feline Fibrosarkoms**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Tamara Bleier

Tierärztin aus Forbach

Gießen, 2003

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h. c.c B.Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M.Reinacher

2. Berichterstatter: HDoz Dr. A. Moritz

Tag der mündlichen Prüfung: 01.12.2003

Man kann das Leben nur rückwärts verstehen,
Leben muss man es vorwärts!

Meinen Eltern
in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis		Seite
1	EINLEITUNG	1
2	LITERATURÜBERSICHT	2
2.1	Das Fibrosarkom	2
2.2	Fibrosarkome der Katze	2
2.2.1	FeLV-negative Fibrosarkome	2
2.2.1.1	Vakzine-assoziierte Fibrosarkome	2
2.2.1.1.1	Vakzine-assoziierte Tumoren bei anderen Tierarten	6
2.2.1.1.2	Fremdkörper- und Entzündungs-assoziierte Tumoren beim Menschen	6
2.2.1.2	Nicht Vakzine-assoziierte Fibrosarkome beziehungsweise Fibrosarkome ohne Hinweise auf die Pathogenese bei der Katze	7
2.2.2	Bisherige Untersuchungen an feline Fibrosarkomen	7
2.2.2.1	Immunhistologische Untersuchungen	7
2.2.2.2	Elektronenmikroskopische Untersuchungen an feline Fibrosarkomen	9
2.2.2.3	Molekularbiologische Untersuchungen an feline Fibrosarkomen	10
2.2.3.4	Mehrkernige Riesenzellen in Tumoren der Katze	10
2.2.3	FeLV und FeSV-assoziierte Fibrosarkome	13
2.2.3.1	FeSV	13
2.2.3.2	Replikation des FeSV	13
2.2.3.2.1	FeSV-Isolate	14
2.3	Möglichkeiten zur immunhistologischen Charakterisierung von Fibroblasten und anderen Zellarten, zur Darstellung von Entzündungszellen und zur Darstellung der Rate von Tumorzellproliferation und Zelluntergang bei der Katze	16
2.3.1	Immunhistologische Charakterisierung von Entzündungszellen	16
2.3.2	Tumorzellproliferation- und Zelluntergang	16
2.3.3	Möglichkeiten zum Nachweis phänotypischer Charakteristika von Makrophagen	18
2.3.3.1	Nachweis von MHC II	18
2.3.3.2	Nachweis von CD18	19

3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	20
3.1	Material und Methoden	20
3.1.1	Untersuchungsmaterial	20
3.1.2	Vorberichte	21
3.1.3	Fixierung und histologische Präparation	21
3.1.4	Immunhistologie	22
3.1.4.1	Seren und Antiseren	22
3.1.4.1.1	Schweine-, Kaninchen-, Pferde- und Rattenserum	22
3.1.4.1.2	Antiseren	22
3.1.4.1.2.1	Primärantikörper	22
3.1.4.1.2.2	Sekundärantikörper	23
3.1.4.1.2.3	Tertiärantikörper und Detektionssysteme	23
3.1.4.2	Antigen-Demaskierung	24
3.1.4.3	Nachweis des FeLV-Antigen an Formalin-fixiertem Gewebe	24
3.1.4.4	Nachweis des CD3-Antigens	26
3.2.4.5	Nachweis des CD45R-Antigens	27
3.2.4.6	Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens	28
3.2.4.7	Nachweis des proliferating cell nuclear antigens (PCNA)	30
3.2.4.8	Nachweis des antiapoptotischen Proteins bcl-2	31
3.2.4.9	Nachweis des MHC II-Antigens	32
3.2.4.10	Nachweis des CD18-Antigens	34
3.1.5	Immunhistologische Kontrollen	36
3.1.6	Auswertung der Immunhistologie	36
3.1.6.1	Auswertung des FeLV-Antigen-Nachweises	36
3.1.6.2	Auswertung des myeloid/histiocyte-Antigens	36
3.1.6.3	Auswertung des PCNA-, Bcl-2, CD18- und MCH II-Antigens	36
3.1.6.4	Auswertung der CD3-, CD45R-Antigen-Nachweise	37
3.1.6.5	Auswertung der Elastica van Gieson Färbung	37
3.1.6.6	Auswertung der Histopathologie	37
3.1.7	Enzymhistochemie	37
3.1.7.1	Nachweis der Tartrat-resistenten Phosphatase (TRAP)	37
3.1.7.2	Kontrollen für die Enzymhistochemie	39

3.1.8	Spezialfärbungen	40
3.1.8.1	Elastica-van Gieson Färbung	40
3.1.9	Terminale Deoxynukleotidyl-Transferase- (TUNEL-) Methode zur Darstellung apoptotischer Zellen	41
3.1.10	Statistische Analyse	42
3.2	Ergebnisse	44
3.2.1	Alter, Rasse, Geschlecht, FeLV-Status	44
3.2.2	Makroskopische Befunde	45
3.2.3	Histopathologische Befunde	46
3.2.3.1	Morphologische Charakterisierung anhand von HE-gefärbten Schnitten	46
3.2.3.2	Darstellung von kollagenen und elastischen Fasern mittels der Elastica-van Gieson Färbung	54
3.2.3.3	Darstellung der Proliferationsrate und der Apoptoserate in den Fibrosarkomen (zellulärer Turnover)	55
3.2.3.3.1	PCNA (proliferating cell nuclear antigen-) Expression	56
3.2.3.3.2	Anzahl an apoptotischen Zellen	57
3.2.3.3.3	Nachweis des antiapoptotischen bcl-2-Proteins	59
3.2.3.4	FeLV-positive Fibrosarkome	61
3.2.3.4.1	Fallbeschreibungen und makroskopische Befunde	61
3.2.3.4.2	Histopathologische Befunde	62
3.2.3.4.3	FeLV-Strukturproteine gp70, p27 und p15E	63
3.2.3.5	Immunhistologische Charakterisierung von Tumorzellen und infiltrierenden Leukozyten (T-Zellen, Makrophagen und neutrophile Granulozyten) in den Fibrosarkomen	64
3.2.3.5.1	Nachweis der MHC II-Expression	64
3.2.3.5.2	Nachweis der CD18-Expression	66
3.2.3.5.3	Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens zur Darstellung von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten	67
3.2.3.5.4	Nachweis des CD3-Antigens und des CD45R-Antigens von B-Zellen zur Darstellung von T- und B-Lymphozyten	
3.2.3.6	Enzymhistochemischer Nachweis der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP)	70
3.2.3.7	Statistische Signifikanzen	70

4.	DISKUSSION	74
4.1	Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome	74
4.1.1	Histologie	77
4.2	Mehrkernige Riesenzellen	80
4.3	Nicht Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome	88
4.3.1	Histologie	88
4.4	Cellular Turnover der feline Fibrosarkome	89
4.5	Immunhistologische Charakterisierung der Entzündungszellen in feline Fibrosarkomen (T- und B-Zellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen)	91
4.6	Immunhistologische Charakterisierung der neoplastischen Zellen	93
4.7	FeLV-positive Fibrosarkome	94
4.7.1	Differentielle Expression der FeLV-Proteine (gp70, p27, p15E)	95
5.	ZUSAMMENFASSUNG	98
5.1	Summary	100
6.	LITERATURVERZEICHNIS	102
7.	ANHANG	
7.1	Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome	
7.2	Makrobefunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome	
7.3	Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den feline Fibrosarkomen	
7.4	Abbildungen	
8.	LÖSUNGEN, PUFFER, BEZUGSQUELLEN	
8.1	Lösungen und Puffer	
8.2	Bezugsquellen der in 8.1 genannten Substanzen	
9.	LISTE DER ABKÜRZUNGEN	

1. Einleitung

Das Fibrosarkom ist der häufigste maligne mesenchymale Hauttumor bei der Katze. Es geht von Fibroblasten aus und besitzt eine wechselnde Anzahl kollagener Fasern (Hendrick et al., 1998a). Man unterschied bisher zwei Formen des felines Fibrosarkoms: a) die solitäre Form, die hauptsächlich bei älteren Katzen vorkommt und b) die multizentrische Form, die eher bei Katzen unter 5 Jahren beobachtet wird (Hardy, 1981a). Letztere ist meist mit einer FeLV-Infektion sowie der Entstehung von FeSV verbunden und macht nur 2% der felines Fibrosarkome aus (Hardy, 1981a; Patnaik, 1975). In der neuen Klassifizierung der WHO ist zusätzlich ein postvazinales Fibrosarkom der Katze beschrieben (Hendrick et al., 1998a).

Seit 1991 wurde in den USA eine wachsende Zahl von Fibrosarkomen an Stellen beobachtet, die von Tierärzten routinemäßig für die Impfung genutzt werden (Hendrick und Goldschmidt, 1991a). Da diese Fibrosarkome morphologische Ähnlichkeiten mit den posttraumatischen intraokulären Sarkomen der Katze aufweisen, wurde ein Zusammenhang zwischen der Entzündungsreaktion an der Impflokalisation und der Entwicklung von Fibrosarkomen diskutiert (Macy und Hendrick, 1996).

Ziel dieser Arbeit war es, mittels Histologie, Immunhistologie und Enzymhistochemie Kriterien für eine nähere Klassifizierung des felines Fibrosarkoms, sowie Hinweise auf seine Pathogenese und den Ursprung der Tumorzellen, insbesondere der mehrkernigen Riesenzellen, zu finden.

2. Literaturübersicht

2.1 Das Fibrosarkom

Das Fibrosarkom ist ein mesenchymaler Tumor, der von Fibroblasten ausgeht und eine wechselnde Anzahl kollagener Fasern bildet (Hendrick et al., 1998a). Es kann entweder gut abgegrenzt sein oder infiltrativ wachsen und als entweder gut differenziert oder anaplastisch bezeichnet werden. Meist tritt es solitär auf (Ausnahme s. 2.2). Die spindelzellartigen Tumorzellen sind typischerweise in Bündeln angeordnet, die teils ein fischgrätenartiges Muster bilden. Sie haben wenig Zytoplasma, die Zellkerne sind länglich bis oval mit unauffälligen Nukleoli. Die Zahl der Mitosen schwankt in Abhängigkeit vom Differenzierungsgrad. Fibrosarkome rezidivieren häufig (70%; Stiglmaier-Herb und Ortman, 1987), Metastasen sind allerdings selten (Hendrick et al., 1998a).

2.2 Fibrosarkome der Katze

Das Fibrosarkom ist der häufigste maligne mesenchymale Hauttumor bei der Katze (12-15% aller feline Hauttumoren) (Gross et al., 1992). Man unterscheidet zwei Formen des feline Fibrosarkoms: a) die solitäre Form, die hauptsächlich bei älteren Katzen vorkommt und b) die multizentrische Form, die eher bei Katzen unter 5 Jahren beobachtet wird (Hardy, 1981a). Letztere ist meist mit einer FeLV-Infektion sowie der Entstehung von FeSV verbunden und macht allerdings nur 2% der feline Fibrosarkome aus (Hardy, 1981a; Patnaik, 1975). In der neuen Klassifizierung der WHO ist zusätzlich ein postvazinales Fibrosarkom der Katze beschrieben (Hendrick et al., 1998a).

2.2.1 FeLV-negative Fibrosarkome

2.2.1.1 Vakzine-assoziierte Fibrosarkome

Hierbei handelt es sich um Fibrosarkome, die eine hohe Rezidivierungsrate aufweisen und an Stellen auftreten, die bevorzugt zur Impfung genutzt werden. Hyperchrome Zellkerne, mehrkernige Riesenzellen und Anaplasie treten häufig bei dieser Form der Fibrosarkome auf. In der Tumorperipherie finden sich oft Lymphozytenansammlungen mit disseminierten Makrophagen, die bisweilen ein lichtmikroskopisch grau-braunes Material enthalten.

Hendrick et al. (1992) identifizierten dieses in 3 von 42 Fällen mittels Elektronenmikroskopie als Aluminiumoxid, welches oft als Adjuvans in Impfstoffen vorkommt.

Hendrick und Goldschmidt lenkten 1991 in Pennsylvania als erste die Aufmerksamkeit auf das Problem der Vakzine-assoziierten Fibrosarkome der Katze (Hendrick und Goldschmidt, 1991a). 76% der felines Fibrosarkome treten an Stellen auf, die von Tierärzten bevorzugt für Impfungen genutzt werden. Hierzu zählen die seitliche Brustwand, die Region zwischen den Schulterblättern, der Nacken, die Oberschenkel und die Lendengegend. Alle anderen Lokalisationen werden als nicht Vakzine-assoziiert angesehen (Hendrick und Brooks, 1994). Die Häufigkeit dieser Vakzine-assoziierten Fibrosarkome stieg von 1-2/10 000 geimpfte Katzen (Kass et al., 1993) auf 3,6 (Coyne, 1997). In einer anderen umfangreichen Studie in den USA und Canada wurde allerdings nur eine Häufigkeit von 1/30 000 und somit keine steigende Tendenz ermittelt (Gobar und Kass, 2002). Das durchschnittliche Alter der Tiere mit einem Vakzine-assoziiertem Fibrosarkom lag bei 8,1 Jahren, das der Tiere mit nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen bei 10,5 Jahren. Es fand sich weder eine Rasse- noch Geschlechtsdisposition für Vakzine-assoziierte Fibrosarkome. Es konnte kein Zusammenhang zu einer FCoV oder einer FeLV-Infektion nachgewiesen werden. Die Zeitspanne von der letzten Impfung bis zur Entstehung des Fibrosarkoms schwankt zwischen 3 Monaten und 3 Jahren (Doddy et al., 1996).

Äußerlich unterscheiden sich die beiden Tumorformen lediglich darin, dass Vakzine-assoziierte Fibrosarkome im allgemeinen größer (> 4 cm Durchmesser) sind und häufiger rezidivieren als die meisten nicht Vakzine-assoziierten (< 4 cm Durchmesser) (Hendrick et al., 1994; Doddy et al., 1996). Vakzine-assoziierte Fibrosarkome metastasieren selten. Bisher wurde lediglich 1 Fall einer Metastasierung in Lunge und Mediastinum beobachtet (Rudmann et al., 1994).

In Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen lässt sich weder mittels Immunhistologie FeLV-Antigen noch mittels PCR FeLV-Genom (Ausschluss einer latenten Infektion) nachweisen (Ellis et al., 1996).

Vakzine-assoziierte Fibrosarkome liegen häufiger in der Subkutis als in der Dermis und weisen oft gekammerte Nekroseherde auf, die von zahlreichen Makrophagen, einigen Neutrophilen und wenigen degenerierten Zellen durchsetzt sind. Selten werden Gefäßthromben beobachtet. Lymphozyten sind die vorherrschenden Entzündungszellen im Tumor; im umgebenden Gewebe finden sich allerdings auch Makrophagen. Die Mitoserate ist

bei Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen deutlich höher als bei nicht Vakzine-assoziierten. Beide Fibrosarkom-Formen sind mit einer kollagenen Matrix abgekapselt, wobei bei den Vakzine-assoziierten neben einer knöchernen auch eine knorpelige Matrix im Tumor beobachtet werden kann (Doddy et al., 1996).

Couto et al. (2002) teilten die Vakzine-assoziierten Fibrosarkome anhand ihrer Morphologie in die Grade I-III ein. Hierzu bedienten sie sich eines Punktesystems, welches die Zelldifferenzierung, das Vorkommen und die Ausdehnung von Nekrosen und die Mitoserate einbezieht. Mehrkernige Riesenzellen werden auf Grund ihrer Proliferationsfähigkeit und des Fehlens der Expression des Makrophagenmarkers CD18 als neoplastisch bewertet. Sie kommen ausschließlich in Tumoren der Grade II (75%) und III (61,9%) vor, das heißt, es fand sich eine Korrelation zwischen dem Auftreten von mehrkernigen Riesenzellen und dem Differenzierungsgrad der Fibrosarkome ($p < 0,001$). Weiterhin haben Couto et al. (2002) den Grad der entzündlichen Infiltration in ihr Punkteschema einbezogen. Allerdings wurde keine Korrelation zwischen dem Vorhandensein entzündlicher Infiltrate und dem Differenzierungsgrad beobachtet ($p = 0,305$).

Anfangs sah man die Ursache für Vakzine-assoziierte Fibrosarkome in der subkutanen Injektion von Tollwutimpfstoffen, da 42 von 198 Tumoren von Makrophagen umgeben waren, die Material enthielten, das zur Impfstoffherstellung verwendet wird. Bei 3 Tumoren ließ sich dieses Material elektronenmikroskopisch als Aluminium ansprechen (Aluminium in Form von Aluminiumhydroxid und Aluminiumphosphat sind ein gemeinsamer Bestandteil des Tollwutimpfstoffes) (Hendrick et al., 1992). Bei Katzen, die in einer randomisierten Studie mit FVRCP (Kombinationsimpfstoff gegen Tollwut, Katzenschnupfen und Katzenseuche), sowie in einer weiteren Studie jeweils auch gegen Tollwut und FeLV geimpft wurden, war eine Unterscheidung der auftretenden Fibrosarkome anhand von zytologischen Untersuchungen von Feinnadelaspiraten in Vakzine-assoziiert und nicht Vakzine-assoziiert nicht möglich (Schultze et al., 1997). Allerdings traten Vakzine-assoziierte Fibrosarkome häufiger nach einer FeLV-Impfung und seltener nach einer Tollwut-Impfung auf (Hendrick et al., 1994).

In einer retrospektiven Studie an 345 feline Fibrosarkomen wurde festgestellt, dass die Rate der Tumorentstehung bei wiederholter Gabe mehrerer Impfstoffe an die gleiche Stelle am höchsten war (Kass et al., 1993). Das Vorkommen von feline posttraumatischen okulären Sarkomen und das gehäufte Auftreten Vakzine-assoziiierter Tumoren bei dieser Spezies legte

den Verdacht nahe, dass Katzen prädisponiert sind für diese Läsionen (Eggers et al., 2002). In einer umfangreichen Studie mit je 20 Katzen, Nerzen und Frettchen reagierten Katzen auf unterschiedliche Impfstoffe jedes Mal anders als Frettchen und Nerze auf eine Applikation, unabhängig davon, ob die Impfstoffe ein Aluminiumadjuvans hatten und auch unabhängig davon, ob es sich um einen Tollwut, oder einen FeLV-Impfstoff oder um physiologische Kochsalzlösung handelte (Eggers et al., 2002). Macy und Hendrick (1996) diskutierten einen möglichen Zusammenhang zwischen den Entzündungsprozessen an den Impflokalisationen und der Entwicklung von Fibrosarkomen, da granulomatöse Pannikulitiden an den Injektionsstellen (Tollwutvakzine, Aluminiumgaben) beobachtet wurden (Fawcett und Smith, 1984; Hendrick und Dunagan, 1991). Außerdem lassen sich deutliche morphologische Ähnlichkeiten zum posttraumatischen okulären Sarkom der Katze feststellen (Dubielzig et al., 1990), so dass eine gemeinsame Pathogenese (Entzündung, Wundheilung) für die Entstehung der beiden Tumoren angenommen wurde (Macy und Hendrick, 1996). Weitere Studien hatten ergeben, dass kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Aluminium in den Impfstoffen und der Entstehung und Massivität von entzündlichen Reaktionen gegeben ist, so dass Macy und Hendrick (1996) davon ausgehen, dass bisher noch nicht näher klassifizierte Komponenten von Impfstoffen eine entzündliche Reaktion induzieren oder verstärken, die schließlich in einigen Katzen zur Tumorentstehung führen. Da eine ältere klinische Studie zeigte, dass Fibrosarkome in FeSV-infizierten Katzen in früheren Wunden entstanden (Hardy, 1981), sahen Macy und Hendrick (1996) bezüglich der Beteiligung entzündlicher Prozesse an der Tumorgenese Parallelen zu FeSV-induzierten Fibrosarkomen. Desweiteren wurden auch in *v-jun*-transgenen Mäusen, im Anschluss an sogar lediglich oberflächliche Epithelläsionen an Ohr und Schwanz, Fibrosarkome beschrieben (Schuh et al., 1990). In Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen wurde eine deutliche Expression des platelet-derived growth factor (PDGF) in infiltrierenden Lymphozyten sowie des PDGF-Rezeptors in Tumorzellen und Makrophagen beobachtet. In nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen wurde dagegen höchstens eine schwache PDGF-Reaktion nachgewiesen. Die tumorinfiltrierenden Lymphozyten in nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen waren PDGF-negativ, wie auch Lymphozyten in normalen Lymphknoten. Dementsprechend stellte Hendrick (1998b) die Hypothese auf, dass Lymphozyten in Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen PDGF sezernieren, dadurch Makrophagen rekrutieren und eine Proliferation von Fibroblasten auslösen.

C-jun ist ein Protoonkogen, das für das Protein AP-1 codiert, welches eine wichtige Rolle in der Zellproliferation und Onkogenese hat (Shalaby et al., 1994). Die Expression des Protoonkogens c-jun in Fibrosarkomen wurde als mögliche Folge der Wachstumsstimulation durch die von Lymphozyten sezernierten Wachstumsfaktoren gewertet (Hendrick, 1998b).

Fibrosarkome sind die häufigsten Vakzine-assoziierten Tumoren der Katze (Hendrick und Goldschmidt; 1991). Es wurden bei der Katze jedoch auch maligne Histiozytome, Osteosarkome, Chondrosarkome und Rhabdomyosarkome im Zusammenhang mit einer Impfung beobachtet (Esplin et al., 1993; Hendrick und Brooks, 1994).

2.2.1.1.1 Vakzine-assoziierte Tumoren bei anderen Tierarten

Murray (1998) berichtete von einem Vakzine-assoziierten Fibrosarkom bei einem Frettchen in Folge einer einmaligen Staupe- und Tollwutimpfung. Munday et al. (2003) beschrieben für Vakzine-assoziierte Fibrosarkome bei 7 Frettchen das gleiche histologische Bild wie es für Vakzine-assoziierte Fibrosarkome der Katze bekannt ist (Zellpleomorphismus, mehrkernige Riesenzellen, Makrophagen mit basophilem granuliertem Material im Zytoplasma).

Epidermale Tumoren (Basalzelltumor, Plattenepithelkarzinom) wurden bei Hunden im Zusammenhang mit der subkutanen Impfung gegen Papillomavirus, welches die orale Papillomatose des jungen Hundes verursacht, beobachtet (Bregman et al., 1987).

2.2.1.1.2 Fremdkörper- und Entzündungs-assoziierte Tumoren beim Menschen

Beim Menschen wurde wiederholt anhand von Fallberichten ein Zusammenhang zwischen einem Fremdkörper und einer Tumorentstehung diskutiert (Brand et al., 1976a und b; Ryan et al., 1981; Moore, 1991; Gorden und Weitzman, 1993). Silikonbrustimplantate wurden für die Entstehung von Brustkrebs verantwortlich gemacht (Hausner et al., 1978; Cook et al., 1995; Bleiweiss et al., 1996; Kasamaki et al., 2000), Gazebinden wurden aus Blasen Tumoren entfernt (Kyriakou et al., 2000), ebenso wie Kugelgeschosse aus dem 1. und 2. Weltkrieg aus diese umwachsenden Angiosarkomen (Hayman und Huygens 1983; Schneider et al., 1997). Brinkley und Zappia (1980) beschreiben ein Fibrom, das um eine verrutschte harte Kontaktlinse gewachsen war, Morrison und Homesley (1978) ein Zervixkarzinom, aus dem ein Suppenlöffel entfernt wurde. Zahlreiche Fallberichte beschreiben einen Zusammenhang zwischen einer Fibrosarkomentstehung und dem Vorhandensein einer Endoprothese (Eckstein et al., 1992). Zahlreiche Fallberichte deuten auf einen Zusammenhang zwischen einer

primären Entzündung und einer Tumorentstehung hin (Gardner, 1959; Criuckshank, 1965; Boerhave, 1977). So wurden zum Beispiel Darmtumoren nach chronischen Enteritiden (Morbus Crohn) (Korelitz, 1983; Collins, 1987), Blasentumoren nach Schistosomiasis und Langzeitverweilkathetern (Ferguson, 1911; Locke, 1985; Kantor, 1988), Ösophaguskarzinome nach chronischem Sodbrennen und Refluxösophagitis (Cameron et al., 1985; Correa, 1988) sowie Pankreastumoren nach chronischer Pankreatitis (Lowenfels et al., 1993) beschrieben.

2.2.1.2 Nicht Vakzine-assoziierte Fibrosarkome beziehungsweise Fibrosarkome ohne Hinweise auf ihre Pathogenese bei der Katze

Als Vakzine-assoziierte Fibrosarkome werden solche in Körperregionen angesehen, die von Tierärzten routinemäßig zur Injektion genutzt werden (siehe 2.2.1.1.). Fibrosarkome in allen anderen Lokalisationen der Haut einer Katze werden dementsprechend als nicht Vakzine-assoziiert bewertet (Hendrick und Brooks, 1994).

Fibrosarkome ohne Assoziation zu spezifischen Ursachen treten häufiger bei älteren Katzen auf (Hardy, 1981a). Nicht viral bedingte feline Fibrosarkome sind meistens solitär, variieren in der Größe, sind knotig oder uneinheitlich von der Form her, schlecht abgegrenzt, fest oder fleischig mit weichen krümeligen Arealen, an die Epidermis angrenzend und häufig ulzeriert (Moriello, 1994).

Der Differenzierungsgrad korreliert annähernd mit dem biologischen Verhalten der Tumoren. Gut differenzierte Fibrosarkome wachsen in der Regel infiltrativ, rezidivieren und metastasieren eher selten. Weniger differenzierte (viele Mitosen (> 6 Mitosen/10 HPF), wenig Fasern, pleomorphe Zellen) führen in 10% der Fälle zur Metastasierung. FeSV und FeLV sind an ihrer Entstehung nicht beteiligt (Goldschmidt und Shofer, 1992). In 71% der Fälle ist nach durchschnittlich 3,5 Monaten (2,5 Monate bis 1,5 Jahre) ein Rezidiv zu beobachten (Stiglmair-Herb und Ortmann, 1987).

2.2.2 Bisherige Untersuchungen an feline Fibrosarkomen

2.2.2.1 Immunhistologische Untersuchungen

Immunhistologische Untersuchungen zum Nachweis von exogenem Retrovirus (anti-FeLV Glykoprotein 70 (gp70)) in feline Fibrosarkomen verliefen in einer Studie an 130 Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen mit negativem Ergebnis. Lediglich in einem multizentrischen

Fibrosarkom konnte ein positives Ergebnis erzielt werden (Ellis et al., 1996). Bei einer Untersuchung von 2069 Katzen in den Jahren 1980-1988 aus der Routinesektionsdiagnostik des Institutes für Veterinär-Pathologie in Giessen konnte eine FeLV-Prävalenz von 16% ermittelt werden. 23% dieser FeLV-positiven Katzen starben infolge einer Neoplasie (Lymphosarkome oder Fibrosarkome) (Reinacher, 1989). Wittmer (1993) prüfte in einer umfangreichen Studie an 3054 Sektionskatzen unter anderem einen möglichen Unterschied zwischen FeLV-positiven und FeLV-negativen Katzen in Bezug auf mesenchymale Tumoren nicht leukotischer Herkunft. Von den diagnostizierten Fibrosarkomen (n=14) traten 21,4% bei FeLV-infizierten Tieren auf. Dieser Prozentsatz war signifikant höher als der in der Kontrollgruppe der Unfalltiere.

Eine Expression des Protoonkogens c-myc konnte in 100% der untersuchten Vakzine-assoziierten Sarkome nachgewiesen werden, aber in keinem einzigen nicht Vakzine-assoziierten (McCracken et al., 1999).

In einer Studie an 40 Vakzine-assoziierten Sarkomen wurde in 42,5 % (17/40) der Tumoren eine Expression des Tumor-Suppressor Gens p53 nachgewiesen (Nambiar et al., 2001), wohingegen Nasir et al. (2000) kein p53 in feline Fibrosarkomen (n=3) nachweisen konnten. Die Aussagen bezüglich der Expression des Protoonkogens c-jun sind in der Literatur nicht einheitlich. C-jun kodiert für das Protein AP-1, welches eine entscheidende Rolle bei der Zellproliferation spielt. Während Hendrick (1998b) einen signifikanten Unterschied in der Expression zwischen Vakzine-assoziierten und nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen beobachten konnte, stellte McCracken (1999) keinen Unterschied hinsichtlich der Expression von c-jun, aber auch p53, c-fos, c-ras, p16 und bcl-2 zwischen Vakzine-assoziierten und nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen fest.

Madewell untersuchte 1999 die bcl-2-Expression in unterschiedlichen Geweben der Katze, dabei unter anderem auch in Fibrosarkomen. Lediglich 15% (1/14) der untersuchten Tumoren zeigten eine positive Reaktion, allerdings waren 80-90% der Tumor-infiltrierenden Lymphozyten bcl-2-positiv. Das Protoonkogen bcl-2 kodiert für die Familie der bcl-2-Proteine, die die Apoptose regulieren (s. 1.3.2). De las Mulas et al. (1995) untersuchten 50 verschiedene feline Tumoren immunhistologisch auf die Verteilung von Intermediärfilamenten. Ihre Untersuchung umfasste sowohl epitheliale Tumoren (Plattenepithelkarzinome, Basalzelltumoren, Schweißdrüsenkarzinome und Schilddrüsenkarzinome) wie auch nicht epitheliale Tumoren, unter anderem 10 feline

Fibrosarkome. Letztere exprimierten entweder Vimentin oder Vimentin und Desmin. GFAP (saures Gliafaserprotein) und Neurofilament konnten in keinem feline Fibrosarkom nachgewiesen werden.

2.2.2.2 Elektronenmikroskopische Untersuchungen an feline Fibrosarkomen

Anhand von 20 feline Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen wurde gezeigt, dass die Tumoren aus irregulären, spindelzelligen bis kugeligen oder sternförmigen Zellen, die in Bündeln zusammenlagen, mit dünnen zytoplasmatischen Ausläufern, die in ein kollagenes Interstitium reichen, bestehen. Der Anteil an Kollagenfasern variierte.

Die Zellen enthielten entweder lange, spitz zulaufende oder große, irreguläre Kerne mit viel Euchromatin und prominenten Nukleoli. Es fanden sich deutliche Mitochondrien und Golgi-Apparate sowie rauhes endoplasmatisches Retikulum und Polyribosomen. Einige Zellen wiesen wenige Intermediärfilamente im Zytoplasma auf. Das endoplasmatische Retikulum war häufig dilatiert und enthielt fibrogranuläres Material. Darüber hinaus traten intratumorale Makrophagen auf, die phagozytierte Erythrozyten, Ferritin oder Zelltrümmer enthielten (Madewell et al., 2001). Diese Beobachtungen stimmen weitgehend mit denen von Snyder et al. (1970) überein.

Hendrick et al. (1992) fanden in 101 von 198 (51%) Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen Entzündungszellherde, die von Lymphozyten und Makrophagen dominiert wurden. In 42 dieser 101 Fibrosarkome konnte lichtmikroskopisch grau-braunes, kristallines Fremdmaterial in den Makrophagen nachgewiesen werden, das sich elektronenmikroskopisch als dicht, linear bis leicht gebogen und zum Teil in Lamellen angeordnet darstellt. In 3 dieser Fälle wurde mittels einer röntgenologischen Mikroanalyse Aluminium nachgewiesen, das eine hohe Sauerstoffkonzentration aufwies. In der Umgebung der Makrophagen konnte kein Aluminium nachgewiesen werden. Aluminiumhydroxid ist ein Adjuvans in einem gängigen Tollwutimpfstoff für Katzen und wurde auch zum Zeitpunkt dieser Studie (1989 und 1990) in 19,6% der feline Impfstoffe eingesetzt (Issacson und Johnson, 1975). Adjuvantien auf Aluminiumbasis werden beim Menschen als Grund für allergische Fremdkörpergranulome betrachtet (Slater et al., 1982; Lever und Lever, 1990).

Die elektronenmikroskopischen Befunde stimmen mit denen von Madewell et al. (2001) überein.

In FeLV-positiven feline Fibrosarkomen konnten elektronenmikroskopisch C-Typ Viruspartikel nachgewiesen werden (Snyder et al., 1970; Snyder, 1971; McDonough et al., 1971).

2.2.2.3 Molekularbiologische Untersuchungen an feline Fibrosarkomen

Ellis et al. (1996) untersuchten 100 feline Vakzine-assoziierte Fibrosarkome, sowie ein multizentrisches Fibrosarkom. Hierbei wurde das FeLV-Genom mit der Polymerase Kettenreaktion (PCR) mit einem Primer für die LTR-Region (long terminal repeat) gesucht. Lediglich in dem multizentrischen Fibrosarkom konnte ein positives Ergebnis erzielt werden. Mittels PCR konnte in Vakzine-assoziierten Sarkomen der Katze weder eine Infektion mit feline Immundefizienzvirus, Polyomavirus, Papillomvirus, feline Leukämievirus noch Synzytialvirus nachgewiesen werden (Kidney et al., 2000; 2001a,b und c; 2002).

2.2.3.4 Mehrkernige Riesenzellen in Tumoren der Katze

Die Definition "großer und/oder mehrkerniger" Zellen ist in der Literatur nicht einheitlich: Der Begriff "Riesenzelle" wird von einigen Autoren sowohl für große einkernige Zellen als auch für mehrkernige Zellen verwendet (Linzbach, 1955; Ford et al., 1975; LeCouteur et al., 1978; Katenkamp und Kosmehl, 1990; Lewandrowski et al., 1990), von anderen Autoren werden nur mehrkernige Zellen als Riesenzellen beziehungsweise als "multinucleated giant cells" bezeichnet (Danks, 1939; Nielsen, 1952; Alexander et al., 1975; Garman, 1977; Chambers, 1978; von Sandersleben, 1989; Berg et al., 1990; Magni et al., 1991). Für letztere Autoren ist nicht die absolute Zellgröße gemessen in Mikrometern entscheidend, sondern die Mehrkernigkeit gilt als das wesentliche Kriterium für Riesenzellen. Als Riesenzelle (RZ) gilt somit jede Zelle, die zwei oder mehr Zellkerne aufweist (Nielsen, 1952; Alexander et al., 1975; Oemus und Timmel, 1990). Mit der Anzahl der Zellkerne einer Riesenzelle ist die Zahl der Kerne in der jeweiligen Schnittebene gemeint (Schulz und Delling, 1980).

Man unterscheidet mehrere Formen von Riesenzellen. Eine detaillierte Übersicht gibt Jösten (1995). In Neoplasien können sowohl neoplastische Riesenzellen (Geschwulst-Riesenzellen) als auch reaktive/osteoklastenähnliche Riesenzellen ("osteoclast-like giant cells" = OCL-GC) auftreten (Hallowes und Chesterman, 1971; Salm und Sissons, 1972; Chambers, 1978; Vollmer et al., 1989). Osteoklastenähnliche Riesenzellen sind Zellen, die nachfolgend in eine Neoplasie eingewandert sind, als Reaktion auf die neoplastische Zellpopulation oder auf

atypische Grundsubstanzen. OCL-GC entstehen durch Fusion von Zellen des Mononukleären Phagozytensystems (MPS) (Chambers, 1978; Roessner et al., 1989; Rosai, 1990; Magni et al., 1991). Geschwulst-Riesenzellen hingegen sind neoplastische Zellen. Sie sind Zeichen einer Entdifferenzierung und fortschreitenden Entgleisung des Tumorwachstums. Geschwulst-Riesenzellen deuten auf einen aggressiveren klinischen Verlauf hin (Rosai, 1990) und sind mit einer ungünstigen Prognose verbunden (Vollmer et al., 1989; Zukerberg et al., 1990).

Der Nachweis von osteoklastenähnlichen Riesenzellen und ihre Abgrenzung gegenüber neoplastische Riesenzellen ist in der Humanmedizin wichtig für die Dignitätsbeurteilung einer Neoplasie, da die Art der Riesenzelle die Prognose der Tumorerkrankung beeinflusst (Vollmer et al., 1989; Rosai, 1990; Zukerberg et al., 1990). Hieran anlehnend versuchten Jösten und Rudolph (1997) die Riesenzellen in den Neoplasien von Hund und Katze näher zu differenzieren. Sie unterscheiden zwischen neoplastischen und reaktiven Riesenzellen, wobei erstere als ein Kriterium für ein deutlich aggressiveres Wachstum der Neoplasie angesehen wurden und somit als auf eine deutlich schlechtere Prognose hinweisend interpretiert wurden. Stiglmaier-Herb und Ortmann (1987) sahen generell eine schlechte Differenzierung der Fibrosarkome als Kriterium für eine schlechtere Prognose an. Ob Riesenzellen nun allerdings ein Hinweis für die schlechte Differenzierung sind, sprechen sie nicht an.

Mehrkernige Riesenzellen sind ein häufig beobachtetes Phänomen in felineen Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen, jedoch nicht ausschließlich auf diese Tumorform beschränkt. Sie werden ebenso in malignen fibrösen Histiozytomen (Hendrick and Brooks, 1994), aber auch in Mammakarzinomen der Katze beschrieben (Della Salda et al., 1993; De Vico und Maiolino, 1997). Bei der Katze wurde auch ein Riesenzelltumor beschrieben, der in Anlehnung an die Humanmedizin, als "giant cell tumor of soft tissue" bezeichnet wurde (Ford et al., 1975).

Colbatzky und Hermanns (1990) beschrieben das Auftreten von OCL-GC in so genannten Riesenzelltumoren ("Osteoklastomen") von 9 Katzen und 4 Hunden. Sie vermuteten, dass der sogenannte Riesenzelltumor mit dem Fibrosarkom verwandt sei. Jösten (1995) bekräftigte diese Vermutung. Stiglmaier-Herb und Ortmann (1987) sowie Goldschmidt und Shofer (1992) beobachteten pleomorphe einkernige und mehrkernige Zellen im so genannten polymorphzelligen beziehungsweise anaplastischen Fibrosarkom der Katze, ohne diese Zellen näher zu charakterisieren. Jösten (1995) vermutete, dass es sich hierbei um Geschwulst-Riesenzellen handelt, wobei eventuell auch OCL-GC beteiligt sein können.

OCL-GC zeigen keine Mitosen oder Kernteilungsfiguren (Chambers, 1978). Sie können Blutungen, Nekrosen und Osteoid abbauen (Chambers, 1978; Le Couteur et al., 1978; Kenney et al., 1984). Gaffey et al. (1991) dokumentierten, dass OCL-GC einkernige Tumorzellen phagozytieren können. Nach Untersuchungen von Sava et al. (1991) setzten OCL-GC das Metastasierungspotential von Neoplasien herab. Sie gelten daher als prognostisch günstig. Zum funktionellen Nachweis werden in der Literatur zahlreiche Methoden beschrieben. Jösten (1995) gibt eine detaillierte Übersicht. Über den zuverlässigen Nachweis von Geschwulst-Riesenzellen gibt es im Vergleich zum Nachweis von osteoklastenähnlichen Riesenzellen (OCL-GC) nur wenige Untersuchungen. Den neoplastischen Riesenzellen fehlen makrophagen- beziehungsweise osteoklastenspezifische Enzyme. Geschwulst-Riesenzellen besitzen im Gegensatz zu OCL-GC keine Tartrat-resistente saure Phosphatase-Aktivität (Zuckerberg, 1990; Toyosawa et al., 1991; Della Salda et al., 1993; Jösten, 1995). Das entscheidende Kriterium für Geschwulst-Riesenzellen ist das Auftreten von atypischen, multipolaren Mitosen (Linzbach, 1955). OCL-GC entstehen durch Proliferation der Zellkerne innerhalb einer Riesenzelle (Alexander, 1975; Chambers, 1978; Takahashi, 1987). Diese Kriterien nutzten Jösten et al. (1997), um eine Methode (Doppelmarkierung) zur Differenzierung von Riesenzellen in Neoplasien von Hund und Katze zu etablieren. Sie unterschieden hierbei zwischen neoplastischen, nicht-neoplastischen und Osteoklasten-ähnlichen Riesenzellen. Die Tartrat-resistente saure Phosphatase (tartrate-resistant acid phosphatase = TRAP) wird als ein Marker für Osteoklasten angesehen. Weiterhin wurde ein Proliferationsmarker (MIB1) zur Differenzierung herangezogen. Waren die Riesenzellen TRAP-positiv und MIB1-negativ, so sprechen die Autoren von reaktiven Osteoklasten-Riesenzellen. Waren sie TRAP-negativ und MIB1-positiv, so interpretierten sie die Zellen als neoplastisch, waren beide Reaktionen negativ, so zählen sie die mehrkernigen Riesenzellen zu den nicht neoplastischen. Untersucht wurden bei der Katze Fibrosarkome, Hämangiosarkome, Adenokarzinome der Mamma, Osteoidsarkome und komplexe Sarkome. Hinweise auf die Prognose des Tumors, wie es in der Humanmedizin möglich ist, konnten allerdings aus der näheren Klassifizierung nicht gezogen werden, da bisher keine follow-up Studie durchgeführt wurde.

Elektronenmikroskopisch (Madewell et al., 2001) stellen sich die Riesenzellen in feline Fibrosarkomen als große, zytoplasmareiche Zellen mit zahlreichen Vakuolen dar. Sie enthalten zahlreiche, häufig unterschiedlich große Kerne mit Kernmembranen und

prominenten Nukleoli sowie fein verteiltem oder als Klumpen an der Kernmembran hängendem Heterochromatin. Sie weisen zahlreiche Mitochondrien und freie Ribosomen, weit verteiltes endoplasmatisches Retikulum und einen undeutlichen Golgiapparat auf.

2.2.3 FeLV- und FeSV- assoziierte Fibrosarkome

Wie ältere Untersuchungen zeigten, korrelieren Fibrosarkome in bis zu 50 % der Fälle mit einer FeLV-Infektion (Snyder, 1971, Reinacher, 1987b) und können, insbesondere in der bei jungen Katzen auftretenden multiplen Form, durch das feline Sarkomvirus (FeSV) induziert werden (siehe 1.2.1.2).

In einem multizentrischen, FeLV-positiven Fibrosarkom konnte sowohl FeLV-Genom mittels PCR (LTR-Region des FeLV) als auch immunhistologisch FeLV-Protein (Haupthüllprotein gp70) in den neoplastischen Fibroblasten nachgewiesen werden (Ellis et al., 1996).

In einer älteren Studie wurde bei ca. 50% der Tiere mit Fibrosarkom p27 im Blut und in Knochenmarks-Ausstrichen nachweisen (Theilen et al., 1976).

2.2.3.1 FeSV

Das feline Sarkomvirus (FeSV) wurde erstmals aus einem multizentrischen subkutanen Fibrosarkom einer 2 Jahre alten weiblichen Europäisch-Kurzhaar-Katze isoliert (FeSV-ST, Snyder und Theilen, 1969).

FeSV gehört zu den schnell transformierenden Retroviren. Es hat zwar die Möglichkeit zur eigenständigen Replikation verloren, besitzt aber die Fähigkeit, Zellen zu transformieren. In vitro verlieren die infizierten Zellen die Kontakthemmung, wachsen übereinander und lösen sich vom Untergrund.

2.2.3.2 Replikation des FeSV

FeSV ist eine Defektmutante des FeLV, die nur bei Anwesenheit von replikationskompetentem FeLV zur Vermehrung fähig ist. FeSV entsteht aus einer Rekombination von FeLV Provirus-DNS mit einem zellulären Protoonkogen der Katzenszelle (zelluläres *onc*-Gen). Dieses *onc*-Gen wird in das FeLV-Genom eingefügt, wobei Teile der *gag*-Region, ein großer Teil der *env*-Region und das vollständige *pol*-Gen des FeLV-Genoms verloren gehen (Hardy, 1980). Normalerweise erfolgt die Rekombination in der *pol* (polymerase; reverse transcriptase) und *env* (envelope)-Region des FeLV oder in der Nähe

der gag (structural group-associated antigen)-pol-Verbindung (Coffin, 1979; Besmer, 1983a und 1983b). Aufgrund des Verlustes der Polymerase ist FeSV somit für seine Replikation auf FeLV als Helfervirus angewiesen. Das infektiöse Agens, das aus den mit FeLV/FeSV doppelt infizierten Zellen entsteht hat folglich ein FeSV Genom, die reverse Transkriptase und das Hüllprotein aber von FeLV (Hardy, 1980). FeSV-infizierte Katzen sind somit immer auch FeLV-positiv (Besmer, 1983; Pedersen et al., 1984).

2.2.3.2.1 FeSV-Isolate

Mittlerweile existieren etwa 25 FeSV-Isolate, von denen 10 näher charakterisiert sind (Barbacid, 1980a, 1980b, 1981; Besmer et al., 1983c und 1983d, 1986; Frankel et al., 1979; Gardner et al., 1970; Hampe et al., 1983; Hardy, 1981; Irgens et al., 1973; Khan et al., 1978; McDonough et al., 1971; Naharro et al., 1983; Porzig et al., 1979; Rasheed et al. 1982, Reynolds et al., 1981a und 1981b, 1982; Rosenberg et al., 1981; Sherr et al., 1979, 1980, Slauson et al., 1975a und 1975b; Snyder et al., 1969, 1973; Ziemiecki et al., 1984).

Die wichtigsten sind in Tabelle 1.3 aufgelistet.

Tabelle 1.1: FeSV-Isolate von Katzen mit spontanen Fibrosakomen (Quelle: Rojko und Hardy, 1994)

Onkogen-Typ	Onkogen-Name	Ort der Onkogenaktion	FeSV-Isolat	Proteinprodukt	Tumor
Tyrosinkinase	<i>fes</i>	Plasmamembran, Kern	Snyder-Theilen (ST)	p85 ^{gag-fes}	Zahlreiche Fibrosakome mit Metastasen
			Gardner-Arnstein (GA)	p95 ^{gag-fes}	Rezidivierende multiple Fibrosarkome
			Hardy-Zuckerman1 (HZ1)	p96 ^{gag-fes}	Multiple Fibrosarkome
	<i>abl</i>	Plasmamembran	Hardy-Zuckerman2 (HZ2)	p98 ^{gag-abl}	Multiple Fibrosakome mit Metastasen
	<i>fgr</i>	Zytoskelett	Gardner-Rasheed (GR)	p70 ^{gag-actin-fgr}	nicht beschrieben
Tyrosinkinase/Rezeptor für <i>kit</i> -Ligand	<i>kit</i>	Plasmamembran	Hardy-Zuckerman4 (HZ4)	p80 ^{gag-kit}	Multiple Fibrosakome mit Lungenmetastasen
Rezeptor für Colony-stimulating Faktor1	<i>fms</i>	Plasmamembran	Susan-McDonough (SM)	gp170 ^{gag-fms}	Rezidivierende multiple Fibrosakome
Plateled-derived growth factor (PDGF)	<i>sis</i>	extrazellulär, bindet an PDGF-Rezeptor	Parodi-Irgens (PI)	p76 ^{gag-sis}	Multiple Fibrosakome mit Lungen und Thoraxmetastasen
			Hardy-Zuckerman5 (HZ5)	nicht charakterisiert	Multiple Fibrosarkome
Adenylcyclase G Protein	<i>ras</i>	Plasmamembran	Noronha-Youngren (NY)	nicht charakterisiert	Multiple Fibrosakome

2.3 Möglichkeiten zur immunhistologischen Charakterisierung von Fibroblasten und anderen Zellarten zur Darstellung von Entzündungszellen und zur Darstellung der Rate von Tumorzellproliferation und Zelluntergang bei der Katze

2.3.1 Immunhistologische Charakterisierung von Entzündungszellen

An Formalin-fixiertem und Paraffin-eingebetteten Gewebe der Katze ist eine Darstellung von T- und B-Lymphozyten sowie von Makrophagen/Monozyten mittels Immunhistologie möglich (Beebe et al., 1994; Monteith et al., 1996; Kipar et al., 1998a, 1999b; Paltrinieri et al., 1998). T-Zellen lassen sich mittels eines kreuzreagierenden, gegen das humane CD3-Antigen des T-Zell-Rezeptors gerichteten und somit als pan-T-Zell-Marker fungierenden polyklonalen Antikörpers darstellen (Beebe et al., 1994; Kipar et al., 1998a, 1999a; Abbas, 2000). Zur Darstellung von B-Lymphozyten bei der Katze ist ein kreuzreagierender monoklonaler Antikörper aus der Ratte gegen das CD45R-Antigen auf B-Zellen, Plasmazellen und B-Zell-Vorstufen der Maus (B220, Ly5) geeignet, der bei der Katze als pan-B-Zell-Marker dient (Monteith et al., 1996; Kipar et al., 1998a, 1999a). Monozyten und vor kurzem aus dem Blut ausgewanderte Makrophagen, myelomonozytäre Zellen im Knochenmark sowie neutrophile Granulozyten lassen sich mittels eines gegen das humane myeloid/histiocyte Antigen (Calprotectin; Leukozytenprotein L1) gerichteten, kreuzreagierenden Antikörpers nachweisen (Dale et al., 1983; Flavell et al., 1987; Kipar et al., 1998a, 1999a; Paltrinieri et al., 1998). Das Adhäsionsmolekül CD18 wird ebenfalls von Makrophagen exprimiert. Hierauf wird in einem späteren Abschnitt noch ausführlicher eingegangen.

2.3.2 Tumorzellproliferation- und Zelluntergang

Die Proliferationsrate und die Zahl der Mitosen im Gewebe kann zum einen bestimmt werden anhand der Morphologie über die Zahl der Mitosen beziehungsweise Apoptosen und zum anderen mit Hilfe des Nachweises Zellzyklus-spezifischer Antigene (Linden et al., 1992; Sarli et al., 1995, 1999; Köhler et al., 2000; Kipar et al., 2001).

PCNA (proliferating cell nuclear antigen) ist ein endogener Marker für die Zellproliferation. PCNA hat ein Molekulargewicht von 36000 Dalton und ist ein Hilfsprotein der DNS-

Polymerase δ , die essentiell für die DNS-Replikation ist (Bravo et al., 1987; Kurki et al., 1988; Foley et al., 1991; Greenwell et al., 1991, 1993; Eldridge und Goldsworthy, 1996). Die G₀-Phase ist die Zyklusphase der geringsten PCNA-Konzentration. In der späten G₁-Phase steigt die Konzentration von PCNA an. Ihr Maximum erreicht sie während der S-Phase (Kurki et al., 1986, 1988; Morris und Mathews, 1989; Dietrich et al., 1994) mit dem etwa 7-fachen Wert gegenüber einer Zelle in der G₀-Phase (Bravo und McDonald-Bravo, 1985; Celis und Celis, 1985; Celis et al., 1987), um dann langsam wieder während der G₂- und der M-Phase abzunehmen (Foley et al., 1991; Eldridge et al., 1993; Dietrich et al., 1994).

Das Protoonkogen bcl-2 gehört zur Familie der bcl-2-Proteine, die die Apoptose regulieren. Bcl-2 ist in der äußeren Mitochondrienmembran, der Kernmembran sowie im endoplasmatischen Retikulum lokalisiert (Hockenberry et al., 1991; Monaghan et al., 1992). Bcl-2 wird permanent auf niedrigem Level sowohl in hämatopoetischen als auch nicht hämatopoetischen Geweben im ganzen Körper exprimiert und ist auf hohem Level in über der Hälfte der Tumoren beim Menschen nachweisbar, so dass man bcl-2 eine bedeutende Rolle in der Karzinogenese zuspricht (Reed, 1994). Es verhindert über die Reduzierung der Mitochondrienpermeabilität die Freisetzung von Cytochrom C aus den Mitochondrien. Weiterhin fungiert bcl-2 als "docking-protein" für den apoptotischen Protease-aktivierenden Faktor (Apaf-1). In dem bcl-2 an Apaf-1 bindet, verhindert es dessen Bindung an Cytochrom C und somit seine Aktivierung, in deren Folge es sonst zur Aktivierung der Initiator-kaspasen und dann zum Ablauf der Apoptose käme. Bcl-2 ist generell in Geweben nachweisbar, in denen Zelltod durch Apoptose erfolgt (Mitchel und Cotran, 1999). Im lymphatischen Gewebe exprimieren langlebige Vorläuferzellen und einzelne postmitotische Zellen, die eine erhöhte Lebensdauer benötigen, bcl-2, wie zum Beispiel rezirkulierende B-Zellen in der Mantelzone, aktivierte B-Zellen im Follikelzentrum, der überwiegende Teil der Plasmazellen in Milz und Lymphknoten, Thymozyten, die nicht negativ selektiert werden und Vorläuferzellen im Knochenmark (Hockenberry et al., 1991; Köhler et al., 2000). Die topographische Verteilung von bcl-2 im Gewebe adulter Katzen entspricht der beim Menschen (Madewell et al., 1999).

Unter Apoptose versteht man eine Form des Zelltodes, die dafür zuständig ist, unerwünschte Wirtszellen mittels eines zelleigenen Systems zu eliminieren (Cotran et al., 1999).

Im Verlauf der Apoptose erfolgt die Spaltung von Chromatin in DNS-Kernfragmente mit der Größe von Nukleosomen (Wyllie et al., 1984). Für die Erkennung apoptotischer Zellen in situ kann die Darstellung von DNS-Fragmenten mit Hilfe ihrer Markierung am 3'-OH-Ende über die terminale Deoxyribonukleotidyl-Transferase (TUNEL-Methode) genutzt werden (Gavrielli et al., 1992).

2.3.3 Möglichkeiten zum Nachweis phänotypischer Charakteristika von Makrophagen

2.3.3.1 Nachweis von MHC II-Expression

Die eigentliche physiologische Funktion der Histokompatibilitätszelloberflächenmoleküle (major histocompatibility complex = MHC) ist, Peptidfragmente verschiedener Proteine zu präsentieren, um antigenspezifische T-Zellen zu stimulieren. Es kodieren mehrere Gene für Histokompatibilitätsantigene, von denen die wichtigsten sich auf einem kleinen Segment von Chromosom 6 befinden. Man unterscheidet drei verschiedene Typen der MHC Moleküle: MHC I, II und III. Allerdings codieren nur die der Klasse I und II für die Peptide der verschiedenen Subtypen von T-Zellen, die der Klasse III hingegen für Komponenten des Komplementsystems. Antigene, die mit Moleküle der Klasse I verbunden werden, werden von CD8⁺ T-Zellen erkannt, wohingegen Klasse-II-assoziierte Antigene von CD4⁺ (Helfer-) T-Zellen erkannt werden. Die Moleküle der Klasse I werden von allen kernhaltigen Zellen exprimiert, die der Klasse II hauptsächlich von spezialisierten Antigen-präsentierenden Zellen, wie zum Beispiel dendritischen Zellen, Makrophagen, B-Lymphozyten und noch einigen wenigen anderen, einschließlich Endothelzellen (Abbas et al., 2000).

Bei der Katze exprimieren alle Lymphozyten und Monozyten MHC II (Rideout et al., 1990). Auch in der Milz, den Lymphknoten, dem Thymus, den Peyerschen Platten und der Haut kann eine MHC II-Expression nachgewiesen werden (Hunt et al., 1995), was allerdings den Ergebnissen von Pollack et al. (1988) widerspricht, der mittels Immunfluoreszenz kein MHC II Antigen auf Fibroblasten, Lymphozyten und anderen mononukleären Zelllinien nachweisen konnte.

Pérez et al. (1999) wies eine MHC II Expression in infiltrierenden Lymphozyten, Makrophagen und Fibroblasten in feline Plattenepithelkarzinomen nach.

2.3.3.2 Nachweis von CD18

CD18 (95kD) ist Bestandteil der drei Mitglieder enthaltenden Familie der β_2 -Integrine. Diese oberflächlichen, zellulären Adhäsionsmoleküle stellen Heterodimere aus zwei nicht-kovalent gebundenen Untereinheiten (α -Untereinheit: CD11, β -Untereinheit: CD18) dar. Die Unterscheidung der verschiedenen β_2 -Integrine erfolgt nach den α -Untereinheiten: "lymphocyte function-associated antigen (LFA-1) mit einer 180kD α -Untereinheit (CD11a), Mac-1 mit einer 165kD α -Untereinheit (CD11b) und p150/95 mit einer 150kD α -Untereinheit (CD11c) (Abbas et al., 2000). Während CD11b und c intrazellulär gespeichert und somit schnell freigesetzt werden können, wird CD11a nicht in der Zelle gespeichert, sondern auf mRNA-Ebene aufreguliert (Springer, 1990).

Beim Hund wurde eine intensive zytoplasmatische CD18-Expression in Granulozyten und Makrophagen beobachtet. Zusätzlich reagierten – wenn auch wesentlich schwächer – die Mehrzahl der kortikalen und medullären Thymozyten und nahezu alle Leukozyten (Moore et al., 1990). FACS-Analysen am peripheren Blut zeigten bei Lymphozyten, Granulozyten und Monozyten auch eine Oberflächenexpression (Moore et al., 1990). Für den immunhistologischen Nachweis von CD18 bei der Katze steht ein Formalin- und Paraffin-gängiger monoklonaler Antikörper gegen das feline CD18-Molekül zur Verfügung. Bei der Katze exprimieren Makrophagen, das hämolymphatische (mononukleären Zellen, selten auch neutrophile Granulozyten) Gewebe, sowie Myelinophagen (Gehirn) CD18 (Kipar, 2002).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Untersuchungsmaterial

Untersucht wurden 364 Tumoren von Katzen, die aufgrund ihrer Histologie als Fibrosarkome angesprochen worden waren. Die Tumoren waren in den Jahren 1998 bis 2000 zur Routinediagnostik an das Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen gesandt worden. Die Fibrosarkome wurden immunhistologisch durch indirekte Immunperoxidase-Technik (IPO) mittels monoklonaler Antikörper gegen gp70 und p27 (Reinacher, 1987; Kovacevic et al., 1997) auf FeLV-Antigen untersucht.

Entsprechend der vorhererwähnten Lokalisation wurden die Tumoren in 2 Gruppen eingeteilt. Zu den Vakzine-assoziierten Lokalisationen zählten die seitliche Brustwand, die Region zwischen den Schulterblättern, der Nacken, die Kreuzbeingegend und der Oberschenkel. Alle anderen Lokalisationen wurden als nicht Vakzine-assoziiert bewertet (Hendrick et al., 1994). Fibrosarkome ohne Angabe der Lokalisation wurden nicht in die Untersuchung einbezogen. Histologisch wurden die Fibrosarkome weiterhin als gut beziehungsweise schlecht strukturiert eingestuft (siehe 3.2.3.1).

Zur näheren Charakterisierung der Tumoren und der die meisten Fibrosarkome umgebenden Entzündungen wurden neben der HE-Färbung verschiedene Methoden angewandt, die in Tabelle 3.1.1 dargestellt sind.

Tabelle 3.1.1: Übersicht über die verschiedenen Methoden zur näheren Untersuchung der Fibrosarkome

Methode	Nachweis von	Bemerkung
Immunhistologie	FeLV	Virusnachweis
	CD3	Pan-T-Zell-Marker
	CD45R	Pan-B-Zell-Marker
	myeloid/histiocyte Antigen (Calprotectin)	Monozyten/Makrophagen, neutrophile Granulozyten
	MHCII	Oberflächenmolekül
	CD18	β_2 Integrin
	PCNA	Proliferationsmarker
	Bcl-2	Protoonkogen
Enzymhistochemie	Tartrat-resistente saure Phosphatase	osteoklastenartige mehrkernige Riesenzellen
Spezialfärbungen	Elastica van Gieson	elastische Fasern
TUNEL-Methode	apoptotischen Zellen	Nachweis von DNS-Fragmenten

3.1.2 Vorberichte

Die Angaben zu Lokalisation, Größe und makroskopischen Eigenschaften der Tumoren sowie zum Signalement der Tiere wurden den Tagebüchern des Institutes für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen entnommen. Diese Daten sind im Anhang aufgelistet (Tabelle 7.1).

3.1.3 Fixierung und histopathologische Präparation

Die eingesandten Proben wurden routinemäßig in 10% Formalin fixiert. Die Gewebeproben wurden im Einbettungsautomaten Vogel-Histo-Comp (VO-5-1002; Vogel, Giessen) bei 60° in Paraffin eingebettet.

Die histopathologische Beurteilung wurde an Hämatoxylin-Eosin (HE)-gefärbten Schnitten durchgeführt. Von den in Paraffin eingebetteten Geweben wurden ca. 5µm dicke Schnitte hergestellt. Diese wurden auf Eiweiß-Glyzerin beschichtete Objektträger aufgezogen und mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

3.1.4 Immunhistologie

Für die immunhistologischen Untersuchungen wurden 5 µm dicke Schnitte auf SuperFrost®/Plus-Objektträger (041300, Menzel Gläser Braunschweig) aufgezogen und anschließend mindestens 1 h vor dem Ventilator oder über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet.

3.1.4.1 Seren und Antiseren

3.1.4.1.1 Schweine-, Kaninchen-, Pferde -und Rattenserum

Das Blut von gesunden Schlachtschweinen, Kaninchen, Pferden und Ratten wurde nach 2-4 Stunden Stehen bei Raumtemperatur für 10 Minuten bei 1500 x g zentrifugiert und das Serum gewonnen. Das Serum wurde steril filtriert und zum Konservieren mit 0,05% Merthiolat versetzt. Bis zur Verwendung wurde das Serum bei -20°C gelagert.

3.1.4.1.2. Antiseren

3.1.4.1.2.1 Primärantikörper

Die verwendeten Antiseren und ihre Bezugsquellen sind in Tabelle 3.1.2 aufgelistet.

Tabelle 3.1.2: Primärantikörper, immunhistologische Nachweismethode, Vorbehandlungsmethode und zum Blocken unspezifischer Antikörperbindungen verwandte Seren

Antikörper/Klon	Bezugsquelle (Bestell-Nr.)	Verdünnung Methode	Vorbehandlung, Blocken
Maus α-gp70 (KlonC11D82i)	Custom Monoclonals Int.; Sacramento, USA	1:200 in TBS mit 20% SS IPO	TUF® 20% SS
Maus α-p27 (KlonPF12J-10A)	Custom Monoclonals Int.; Sacramento, USA	1:100 in TBS mit 20% SS IPO	TUF® 20% SS
Maus α-p15E (KlonPF6J-2A)	Custom Monoclonals Int.; Sacramento, USA	1:100 in TBS mit 20% SS IPO	TUF® 20% SS
Kaninchen α-human CD3 (Pan T-Zell-Marker)	Dako Diagnostika GmbH; Hamburg, Germany (A0452)	1:500 in TBS mit 20% SS PAP	Protease 20% SS
Ratte α-mouse CD45R (Pan-B-Zell-Marker) (Klon B220(Ly5))	Cedar Lane Lab. Ltd.; Hornby, Canada (CL8990AP)	1:1000 in TBS ABC	ZP (pH 6,0) unverdünntes PS

Tabelle 3.1.2 (Fortsetzung): Primärantikörper, immunhistologische Nachweismethode, Vorbehandlungsmethode und zum Blocken unspezifischer Antikörperbindungen verwandte Seren

Antikörper/Klon	Bezugsquelle (Bestell-Nr.)	Verdünnung Methode	Vorbehandlung, Blocken
Maus α -PCNA (Klon PC10)	Dako Diagnostika GmbH; Hamburg, Germany (M0879)	1:100 in TBS PAP	ZP (pH 4,0) 10% RS
Maus α -felines MHC II (β -Kette von MHC II) (Klon F71D4F6H4)	I. von Bothmer, Inst. für Vet.-Pathol., Univ. Giessen	1:100 in TBS	ZP (pH 6,0) 10% RS
Maus α -felines CD18 (KlonFE3.9F2)	Leukocyte Antigen Biology Lab., P.F. Moore, University of California, Davis, USA	1:50 in TBS ABC	ZP (pH 6,0) 10% RS
Maus α -human bcl-2 (Klon 100/D5, NCL-bcl-2)	Novocastra; Newcastle, United Kingdom (600269)	1:80 in TBS ABC	ZP (pH 6,0) unverdünntes PS

Erläuterung der Abkürzungen: VB: Vorbehandlung; RS: Rattenserum (Verdünnung in TBS); SS: Schweineserum (Verdünnung in TBS); PS: Pferdeserum (Verdünnung in TBS); ZP: Zitratpuffer; IPO: indirekte Immunperoxidase; ABC: Avidin-Biotin-Complex; PAP: Peroxidase anti-Peroxidase

3.1.4.1.2.2 Sekundärantikörper

Die verwandten Sekundärantikörper und ihre Bezugsquellen sind in Tabelle 3.1.3 aufgelistet

Tabelle 3.1.3: Sekundärantikörper, Bezugsquellen und Verdünnungen

Antikörper	Bezugsquelle (Bestell-Nr.)	Verdünnung
Schwein α -Kaninchen IgG	Dako Diagnostika GmbH; Hamburg, Germany (ZO196)	1:100 in TBS mit 20% SS
Ratte α -Maus IgG (H&L)	Dianova GmbH, Hamburg, Germany (415005100)	1:100 in TBS
Pferd α -Maus IgG, biotinyliert	Vector Lab., Burlingame, USA(BA-2000)	1:100 in TBS (0,9 μ l/100 μ l)
Kaninchen α -Ratte IgG, biotinyliert	Vector Lab., Burlingame, USA(BA-4000)	1:100 in TBS (0,9 μ l/100 μ l)
Ziege α -Kaninchen IgG, biotinyliert	Vector Lab., Burlingame, USA(BA-1000)	1:100 in TBS (0,9 μ l/100 μ l)
Kaninchen α - Maus IgG-PO	Dako Diagnostika GmbH; Hamburg, Germany (P0161)	1:100 in TBS mit 20% SS

Erläuterung der Abkürzungen: SS - Schweineserum

3.1.4.1.2.3 Tertiärantikörper und Detektionssysteme

Die verwendeten Tertiärantikörper und Detektionssysteme sind in Tabelle 3.1.4 aufgelistet.

Tabelle 3.1.4: Tertiärantikörper/Detektionssysteme, Bezugsquellen und Verdünnungen

Antikörper	Bezugsquelle (Bestell-Nr.)	Verdünnung
PAP vom Kaninchen	Dako Diagnostika GmbH, Hamburg, Germany (Z0113)	1:100 in TBS mit 20% SS
PAP von der Maus	Dianova GmbH, Hamburg, Germany (223005025)	1:500 in TBS
Avidin-Biotin-Komplex (ABC)	Vector Lab., Burlingame, USA (Vectastatin ABC Kit PK-4000M)	1:100 in TBS (je 0,9 µl A beziehungsweise B/100µl)
Avidin-Biotin-Komplex- Elite-Kit	Vector Lab., Burlingame, USA (PK-6100)	1:100 in TBS (je 0,9 µl A beziehungsweise B/100µl)

Erläuterung der Abkürzungen: PAP: Peroxidase anti-Peroxidase; SS: Schweineserum

3.1.4.2 Antigen-Demaskierung

Die verwandten Demaskierungsmethoden sind in Tabelle 3.1.5 aufgelistet.

Tabelle 3.1.5: Methoden zur Antigen-Demaskierung

Vorbehandlung	Konzentration	Methode	Dauer (Minuten)	Detektiertes Antigen
Protease (bakt. Protease Typ XXIV; Sigma Deisenhofen)	0,05% Protease in NaCl-PBS (pH 7,2; s. Anhang)	37°C (Wärmeschrank)	5	CD3 Myeloid/histiocyte Antigen
Zitratpuffer (ZP) pH 6,0 (s. Anhang)	10mM	ZP vorwärmen a) 97°C (Wasserbad) b) Raumtemperatur	a) 15-20 b) 15-20	CD45R MHC II CD18 bcl-2 PCNA
TUF [®] (Target Unmasking Fluid; Kreatech Diagnostics)	1:3 in Aqua dest.	TUF [®] vorwärmen a) 97°C (Wasserbad) b) Raumtemperatur	a) 10 b) 15	FeLV

Erläuterung der Abkürzungen: ZP: Zitratpuffer

3.1.4.3 Nachweis von FeLV-Antigenen in Formalin-fixiertem Gewebe

Der Nachweis der FeLV-Antigene erfolgte mittels der indirekten Immunperoxidase-Technik (IPO) (Nakane und Pierce, 1967; Bourne, 1983; Reinacher und Theilen, 1987).

Für die Routinediagnostik wurde ein 1+1 Gemisch aus gp70 (1:200 in TBS) und p27 (1:100 in TBS) verwendet. Die getrennten Inkubationen zum Nachweis der einzelnen Strukturproteine erfolgten wie in Tabelle 3.1.2 angegeben. Alle Inkubationsschritte wurden, soweit nichts anderes vermerkt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe); anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanol, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:
30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)
- 3) Waschen der Schnitte mit TBS (s. Anhang)
- 4) TUF[®]-Behandlung
 - 5 Minuten Aqua dest.
 - 10 Minuten Inkubation bei 97°C in vorgewärmtem TUF[®] im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel)
 - 15 Minuten Abkühlen in TUF[®] bei Raumtemperatur
 - 5 Minuten Aqua dest.
- 5) Aufbringen der Objektträger auf Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Einführen der Coverplates[™] in die Halterung
- 6) 10 Minuten blocken mit 20% Schweineserum
- 7) Inkubation über Nacht mit Maus anti-FeLV gp70 (1:200 in TBS) und p27 (1:100 in TBS) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primäantikörper (Negativkontrolle)
- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation mit Kaninchen anti-Maus IgG-PO (1:100 in TBS mit 20% Schweineserum; s. Tabelle 3.1)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates[™]

11) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang) bei Raumtemperatur

12) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.

13) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser

14) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.4 Nachweis des CD3-Antigens

Zur Darstellung von T-Lymphozyten wurde der Pan-T-Zellmarker CD3 mittels der PAP-Methode detektiert (Sternberger et al., 1970; Beebe et al., 1994; Kipar et al., 1998a). Alle Inkubationsschritte wurden, soweit nichts anderes vermerkt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol

2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:

30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)

3) Waschen der Schnitte mit TBS (s. Anhang)

4) Protease-Behandlung

- 5 Minuten PBS (pH 7,2; s. Anhang) bei 37°C
- 5 Minuten Protease-Behandlung bei 37°C 0,05% bakterielle Protease in 37°C warmen PBS (pH 7,2; s. Anhang), frisch hergestellt
- 3 x 5 Minuten eiskaltes TBS

5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Einführen der Coverplates[™] in die Halterung

6) 10 Minuten blocken mit 20% Schweineserum in TBS

- 7) Inkubation über Nacht mit Kaninchen anti-CD3 (1:500 in 20% Schweineserum in TBS) oder mit dem Kaninchenkontrollserum in der gleichen Verdünnung (Negativkontrolle)
- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation mit Schwein anti-Kaninchen IgG (1:100 in 20 % Schweineserum in TBS; s. Tabelle 3.2)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS
- 11) 30 Minuten Inkubation in PAP vom Kaninchen (1:100 in 20% Schweineserum in TBS; s. Tabelle 3.3)
- 12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates™
- 13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang) bei Raumtemperatur
- 14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.
- 15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser
- 16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol® für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec®, Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.5 Nachweis des CD45R-Antigens (B220 (Ly 5))

Mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen das CD45R-Antigen auf B-Zellen und B-Zell-Vorstufen (B220 (Ly 5), Klon RA3-6B2), wurden B-Zellen und Plasmazellen nachgewiesen (Coffmann und Weissmann, 1981). Dieser monoklonale Antikörper kann bei der Katze als Pan-B-Zellmarker verwendet werden (Montheit et al., 1996; Kipar et al., 1998a). Hierzu wurde die Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC)-Methode angewendet (Hsu et al., 1981). Sämtliche Inkubationen wurden, soweit nichts anderes vermerkt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol® (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol

2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:

30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂

(Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)

3) Waschen der Schnitte mit TBS (s. Anhang)

4) Zitratpuffer-Behandlung

- 25-30 Minuten bei 97°C im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel) in vorgewärmtem Zitratpuffer inkubieren
- 15 – 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen
- Waschen der Schnitte in TBS

5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Sequenza-Einsätze (Shandon), TBS

6) 10 Minuten blocken mit unverdünntem Pferdeserum

7) Inkubation über Nacht mit Ratte anti-Maus CD45R (1:1000 in TBS; s. Tabelle 3.1.) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primärantikörper (Negativkontrolle)

8) Waschen der Schnitte mit TBS

9) 30 Minuten Inkubation in Kaninchen anti-Ratte IgG, biotinyliert (0,9 µl/100µl TBS; s. Tabelle 3.2)

10) Waschen der Schnitte mit TBS

11) 30 Minuten Inkubation mit Avidin-Biotin-Komplex

(0,9 µl A + 0,9 µl B/100 µl TBS; s. Tabelle 3.3)

12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates[™]

13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang)

14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten Waschen in Aqua dest.

15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser

16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.6 Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens

Mittels des Nachweises des myeloid/histiocyte-Antigens (Calprotectin, leucocyte protein L1) wurden neutrophile Granulozyten und kürzlich aus dem Blut ausgewanderte Makrophagen sowie Monozyten dargestellt. Hierzu wurde die PAP-Methode verwandt (Sternberger et al., 1970; Dale et al., 1983; Brandtzaeg et al., 1992; Kipar et al. 1998). Sämtliche Inkubationen wurden, soweit nichts anderes angegeben ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:
30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)
- 3) Waschen der Schnitte mit TBS
- 4) Protease-Behandlung
 - 5 Minuten PBS (pH 7,2; s. Anhang) bei 37°C
 - 5 Minuten Protease-Behandlung bei 37°C
 - 0,05% Protease (bakt. Protease Typ XXIV, P8038, Sigma) in 37°C warmen PBS (pH 7,2; s. Anhang), frisch verdünnen
 - 3 x 5 Minuten eiskaltes TBS
- 5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Sequenza-Einsätze (Shandon), TBS
- 6) 10 Minuten Blocken mit 10 % Rattenserum in TBS
- 7) Inkubation über Nacht mit MAC 387 (1:1600 in TBS; s. Tabelle 3.1) oder mit dem Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primärantikörper (Negativkontrolle)
- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation mit Ratte anti-Maus IgG (1:100 in TBS; s. Tabelle 3.2)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS
- 11) 30 Minuten Inkubation mit PAP von der Maus (1:500 in TBS; s. Tabelle 3.3)
- 12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates[™]

13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang)

14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.

15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxin Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser

16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.7 Nachweis des proliferating cell nuclear-antigens (PCNA)

Die Zellproliferation wurde mittels der Darstellung des proliferating cell nuclear antigens (PCNA) bestimmt (Foley et al., 1991; Dietrich 1993; Dietrich et al.; Köhler, 2001). PCNA wird während des gesamten Zellzyklus exprimiert, die höchste Konzentration liegt allerdings in der S-Phase vor (Kurki et al., 1986; Foley et al., 1991; Dietrich, 1993; Eldridge et al., 1993; Dietrich et al., 1994; Köhler et al., 2000). Alle Inkubationsschritte wurden, soweit nichts anderes erwähnt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol

2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:

30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)

3) Waschen der Schnitte mit TBS (s. Anhang)

4) Zitratpuffer-Behandlung

- 25-30 Minuten bei 97°C im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel)
- in vorgewärmtem Zitratpuffer inkubieren
- 15 –20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen
- TBS

5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Sequenza-Einsätze (Shandon), TBS

- 6) 10 Minuten blocken mit 10% Rattenserum in TBS
- 7) Inkubation über Nacht mit Maus anti-PCNA (1:100 in TBS; s. Tabelle 3.1) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primärantikörper (Negativkontrolle)
- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation mit Ratte anti-Maus IgG (1:100 in TBS; s. Tabelle 3.2)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS
- 11) 30 Minuten Inkubation mit PAP von der Maus (1:500 in TBS; s. Tabelle 3.3)
- 12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den CoverplatesTM
- 13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang)
- 14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.
- 15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser
- 16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.8 Nachweis des antiapoptotischen Proteins bcl-2

Bcl-2 gehört zur Familie der bcl-2 Proteine, die die Apoptose regulieren. Es ist in der äußeren Mitochondrienmembran, der Kernmembran sowie dem endoplasmatischen Retikulum lokalisiert und hemmt die Apoptose. Die Darstellung erfolgt mit der ABC Elite-Methode (Hsu et al., 1981; Köhler et al., 2000). Sämtliche Inkubationen wurden, soweit nichts anderes vermerkt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:
30 Minuten Inkubation in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5% H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; 7210, E. Merck, Darmstadt)

3) Waschen der Schnitte mit TBS

4) Zitratpuffer-Behandlung

- 25-30 Minuten bei 97°C im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel)
- in vorgewärmtem Zitratpuffer inkubieren
- 15 – 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen
- TBS

5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates™ (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Sequenza-Einsätze (Shandon), TBS

6) 20 Minuten Blocken mit unverdünntem Pferdeserum

7) Inkubation über Nacht mit Maus anti-humanem Bcl-2 (1:80 in TBS; s. Tabelle 3.1) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primärantikörper (Negativkontrolle)

8) Waschen der Schnitte mit TBS

9) 30 Minuten Inkubation in Pferd anti-Maus IgG, biotinyliert (0,9µl /100µl TBS; s. Tabelle 3.2)

10) Waschen der Schnitte mit TBS

11) 30 Minuten Inkubation in Avidin-Biotin-Elite-Komplex

(0,9 A µl + 0,9µl B/100µl TBS; s. Tabelle 3.3)

12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates™

13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1)

14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.

15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser

16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol® für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec®, Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen)

3.1.4.9 Nachweis des MHC II-Antigens

Der immunhistologische Nachweis des MHC II Antigens erfolgte mit einem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II Moleküls (Klon F7, IgG1, κ -Leichtkette) (Kipar, 2002). Dieser Antikörper wurde im Rahmen eines DFG-Projektes "Expression von Proteinen des Felinen Leukämievirus (FeLV) in verschiedenen Zellen und Geweben bei unterschiedlichen Krankheitsbildern nach spontaner Infektion" (Re 532/5-1) von Frau Isabel Gräfin von Bothmer hergestellt. Die Spezifität des Antikörpers wurde im Immunoblot an Formalin-fixierten, permanent FeLV-infizierten, immunhistologisch MHC II-positiven felines Lymphoblasten (FL74, Theilen et al., 1969) bestimmt. Zum Vergleich im Immunoblot diente ein nicht paraffingängiger monoklonaler Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II-Moleküls (Klon PF12J; Custom Monoclonals International, West Sacramento, USA).

Es wurde die PAP-Methode angewandt (Sternberger et al. 1970; Kipar et al., 1999). Sämtliche Inkubationen wurden, soweit nichts anderes vermerkt ist, bei Raumtemperatur durchgeführt.

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x je 3 Minuten 96% Alkohol
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:
30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂
(Perhydrol 30% H₂O₂ p.a., E. Merck, Darmstadt)
- 3) Waschen der Schnitte mit TBS
- 4) Zitratpuffer-Behandlung
 - 25-30 Minuten bei 97°C im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel)
 - in vorgewärmtem Zitratpuffer inkubieren
 - 15 –20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen
 - TBS
- 5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates[™] (721100013; Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Einführen der Coverplates[™] in die Halterung
- 6) 10 Minuten blocken mit 10% Rattenserum
- 7) Inkubation über Nacht mit Maus anti-felines MHC II β -Kette(1:100 in TBS; s. Tabelle 3.1) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-

Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primärantikörper (Negativkontrolle)

- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation mit Rate anti- Maus IgG (1:100 in TBS; s. Tabelle 3.2)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS
- 11) 30 Minuten Inkubation mit PAP von der Maus (1:500 in TBS; s. Tabelle 3.3)
- 12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den CoverplatesTM
- 13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang)
- 14) 3 x je 5 Minuten waschen in TBS, 1 x 5 Minuten waschen in Aqua dest.
- 15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser
- 16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen).

3.1.4.10 Nachweis von CD18

Das Adhäsionmolekül CD18 wurde mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen felines CD18 mit der ABC-Methode nachgewiesen (Hsu et al., 1981). Es handelt sich um einen IgG1-Antikörper, der im Immunoblot mit peripherem Blut der Katze eine Hauptbande bei 95 kDa (CD18) und drei schwächere Banden zwischen 150 und 180 kDa (CD11a, CD11b, CD11c) zeigt (Kipar, 2002).

- 1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol
- 2) Inaktivierung der endogenen Peroxidase:
30 Minuten Inkubation in Methanol mit 0,5% frisch zugesetztem H₂O₂
(Perhydrol 30% H₂O₂ p.a., E. Merck)

- 3) Waschen der Schnitte mit TBS
- 4) Zitratpuffer-Behandlung
 - 25-30 Minuten bei 97°C im Wasserbad (Typ 1013; Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel)
 - in vorgewärmtem Zitratpuffer inkubieren
 - 15 –20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen
 - TBS
- 5) Einsetzen der Objektträger in Coverplates™ (Life Science Int. GmbH, Frankfurt/Main) und Einführen der Coverplates™ in die Halterung
- 6) Blocken mit 10% inaktiviertem Pferdeserum (30 Minuten bei 56°C) in TBS für 20 Minuten
- 7) 70 Minuten Inkubation mit Maus anti-felinem CD18 (1:50 in TBS; s. Tabelle 3.1) oder mit dem Kontrollantikörper T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Bursa-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in gleicher Verdünnung wie der Primäantikörper (Negativkontrolle)
- 8) Waschen der Schnitte mit TBS
- 9) 30 Minuten Inkubation in Kaninchen anti-Kaninchen IgG, biotinyliert (0,9µl/100µl TBS; Tabelle 3.2)
- 10) Waschen der Schnitte mit TBS
- 11) 30 Minuten Inkubation in Avidin-Biotin-Elite-Komplex (0,9µl A + 0,9µl B/100µl TBS; Tabelle 3.3)
- 12) Waschen der Schnitte mit TBS, Entnahme aus den Coverplates™
- 13) 10 Minuten Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette in 3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm) mit 0,01% H₂O₂ (30%, s.o.) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1)
- 14) 3 x je 5 Minuten Waschen in TBS, 1 x 5 Minuten Waschen in Aqua dest.
- 15) 10 Sekunden gegenfärben in Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.), 5 Minuten bläuen in Leitungswasser
- 16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol® für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec®, Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen).

3.1.5 Immunhistologische Kontrollen

Als Positivkontrollen für die FeLV-Antigene dienten Gewebeschnitte (Milz, Knochenmark, Mesenteriallymphknoten, Dünndarm) von Routinefällen des Instituts für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen, die in der immunhistologischen Routinediagnostik eine positive Reaktion für die FeLV-Antigene gezeigt hatten. Für den Nachweis der Lymphozytenmarker (CD3 und CD45R), sowie den Proliferationsmarker PCNA, das antiapoptotische Protein bcl-2, das myeloid/histiocyte Antigen, das Adhäsionsmolekül CD18 und das MHCII-Antigen dienten Gewebeschnitte von Milz, Knochenmark, Lymphknoten oder Dünndarm.

Als Negativkontrollen dienten die jeweils parallel mit dem Kontrollserum inkubierten Gewebeschnitte.

3.1.6 Auswertung der Immunhistologie

3.1.6.1 Auswertung des FeLV-Antigen-Nachweises

Die Auswertung der immunhistologischen Reaktion für FeLV-Antigen-positive Zellen erfolgte nach folgendem Schema:

- keine Immunreaktion
- + schwache Immunreaktion (>25% FeLV-positive Tumorzellen)
- ++ mittelstarke Immunreaktion (>50% FeLV-positive Tumorzellen)
- +++ starke Immunreaktion (>75% FeLV-positive Tumorzellen)

3.1.6.2 Auswertung des myeloid/histiocyte-Antigen-Nachweises

- /+ > 5 < 25% MAC387-positive Zellen
- + ≥ 25 < 50% MAC387-positive Zellen
- ++ ≥ 50 < 75% MAC387-positive Zellen
- +++ ≥ 75 MAC387-positive Zellen

3.1.6.3 Auswertung der PCNA-, Bcl-2-, CD18- und MHC II-Antigen-Nachweise

Hierbei wird der Prozentsatz der Antigen-positiven Zellen angegeben.

Beim Nachweis dieser Antigene wurden in der Schnittebene liegende, mittel- bis dunkelbraune, granuläre, zytoplasmatische Reaktionsprodukte als positiv gewertet, die im jeweiligen Negativ-Kontrollschnitt nicht nachweisbar waren.

Bei Anwendung der Avidin-Biotin-Peroxidase-Methode (Nachweis des CD45R-Antigens und des Bcl-2-Antigens) traten in Einzelfällen homogen beige Reaktionsprodukte auf, die in ähnlicher Intensität auch in den Kontrollschnitten zu finden waren. Diese wurden ebenso als negativ gewertet wie eine gelegentlich zu beobachtende ausschließlich feingranuläre Anfärbung des Zellkerns.

3.1.6.4 Auswertung der CD3-, CD45R-Antigen-Nachweise

Beim CD3- und CD45R-Antigen-Nachweis wurde ein mittel- bis dunkelbrauner Saum in der Zellperipherie als positiv gewertet.

Bei Anwendung der Avidin-Biotin-Peroxidase-Methode (Nachweis des CD45R-Antigens und des Bcl-2-Antigens) traten in Einzelfällen homogen beige Reaktionsprodukte auf, die in ähnlicher Intensität auch in den Kontrollschnitten zu finden waren. Diese wurden ebenso als negativ gewertet wie eine gelegentlich zu beobachtende ausschließlich feingranuläre Anfärbung des Zellkerns.

3.1.6.5 Auswertung der Elastica-van-Gieson Färbung

- +/- ganz vereinzelt kollagene Fasern ($>0 < 10\%$ des Gewebeanschnittes)
- + wenige kollagene Fasern ($\geq 10 < 25\%$ des Gewebeanschnittes)
- ++ mittel viele kollagene Fasern ($\geq 25 < 50\%$ des Gewebeanschnittes)
- +++ viele kollagene Fasern ($\geq 50 < 75\%$ des Gewebeanschnittes)

3.1.6.6 Auswertung der Histopathologie

Für die Angabe der Mitosen und histologisch ermittelten Apoptosen wurden pro Schnitt 5 Gesichtsfelder in der 40er-Vergrößerung ausgezählt und daraus der Mittelwert berechnet. Als große Nekroseherde zählten Areale, die etwa 25% des Tumors ausmachten.

3.1.7 Enzymhistochemie

3.1.7.1 Nachweis der Tartrat-resistenten saure Phosphatase (TRAP)

Die Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP) katalysiert die Hydrolyse verschiedener Phosphorsäure-Ester unter sauren Bedingungen und kann auch noch in basischen Lösungen (bis zu einem pH-Wert um 8) aktiv sein (Rosenbaum, 1960; Lojda et al., 1976). TRAP ist enzymhistochemisch am Paraffinschnitt nachweisbar (Barka und Anderson, 1963). Im Gegensatz zur Tartrat-hemmbar sauren Phosphatase weist TRAP eine besondere Stabilität auf und wird selbst durch mehrtägige Formalinfixierung, durch konventionelle Paraffineinbettung und auch durch mehrtägige Entkalkung kaum inaktiviert (Schäfer und Fischer, 1977; Vincent und Averill, 1990). Die enzymhistochemische Färbung zum Nachweis der TRAP-Aktivität erfolgt mit Hilfe der Azofarbstoff-Kupplungsmethode nach Barka und Anderson (1963). Die entparaffinierten und rehydrierten Schnitte werden eine Stunde im Brutschrank (37°C) in einer Lösung inkubiert, die das Substrat und Hilfsreagenzien enthält. Als Substrat für den Nachweis wird Naphthol-AS-BI-Phosphat benutzt; dieses wird durch TRAP enzymatisch hydrolysiert. Das freigesetzte Naphthol-AS-BI reagiert in einer Kupplungsreaktion mit einem Diazoniumsalz (Fast-Garnet BDC). Es entsteht ein wasserunlöslicher Azofarbstoff, der Zellen, die das Enzym besitzen, weinrot färbt. Dieser Nachweis ist sehr spezifisch und liefert zuverlässige Ergebnisse am Paraffinschnitt (Lojda et al., 1976).

TRAP wird auch bei der Katze als ein Marker für Osteoklasten angesehen (Jösten, 1993).

Zum Nachweis der TRAP wurde das Kit der Firma Sigma Diagnostics[®] verwendet und die Färbeschritte für das Paraffinmaterial folgendermaßen abgewandelt:

- 1) 15 Minuten entparaffinieren der Schnitte in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe)
- 2) 10 Minuten Aceton; 10 Minuten in 50% Aceton (mit TBS)
- 3) 10 Minuten waschen in TBS (s. Anhang)
- 4) 3 Minuten waschen in Aqua dest.
- 5) In zwei Eppendorfgefäßen je 0,5ml Fast Garnet Solution (Fast Garnet GBC Base, 7,0 mg/ml, in 0,4 mol/l Salzsäure mit Stabilisator) und 0,5 ml Natriumnitritlösung (Sodium Nitrite, 0,1 mol/l) geben, 30 Sekunden vorsichtig Schütteln und anschließend 2 Minuten stehen lassen.

6) In zwei 100 ml-Becher folgendes ansetzen

	Becher A	Becher B
37°C warmes Aqua bidest.	45 ml	45 ml
Gemisch aus Schritt 5)	1,0 ml	1,0 ml
Naphtol AS-BI-Phosphate Solution*	0,5 ml	0,5 ml
Acetate Solution**	2,0 ml	2,0 ml
Tartrate Solution***	-----	1,0 ml

*(Naphtol AS-BI Phosphorsäure, 12,5 mg/ml)

** (Acetatpuffer, 2,5 mol/l, pH 5,2)

*** (L (+) Tartratpuffer, 0,335 mol/l, pH 4,9)

7) Schnitte für 1 h bei 37°C lichtgeschützt inkubieren. Becher A dient für die Kontrollschnitte

8) Waschen mit Aqua dest.

9) 2 Minuten gegenfärben mit Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.)

10) 5 Minuten bläuen in Leitungswasser

11) Lufttrocknen

3.1.7.2 Kontrollen für die Enzymhistochemie

Als Positivkontrolle dienten osteoklastenhaltige feline Paraffinschnitte (Femurkopf) sowie Schnitte mit osteoklastenähnlichen Riesenzellen (OCL-GC) in einem Osteosarkom. Bei jedem Färbedurchgang wurde zur methodischen Kontrolle ein solcher Schnitt mitgeführt. Dieser muss spezifisch positive Reaktionen (weinrotes Zytoplasma) aufweisen

Um die Reaktionsspezifität zu prüfen, wurden in Vorversuchen folgende Negativkontrollen durchgeführt:

a) Inkubation der Schnitte mit Osteoklasten und OCL-GC in der SLP (saure Leukozyten-Phosphatase)-Lösung ohne das Substrat (Naphtol-AS-BI-Phosphat); diese Lösung muß extra angesetzt werden;

b) "Auslass"-Kontrollen: je eine einzelne Färbesubstanz (siehe 3.1.7.1) aus dem SLP-Testkit wird auf jeweils einen osteoklastenhaltigen Schnitt aufgetragen und 1 Stunde inkubiert;

c) Inkubation von Schnitten in der SLP-Lösung mit Substrat, wobei die Schnitte vor der Entparaffinierung 3 Stunden bei 100°C getrocknet werden, um das Enzym TRAP zu inaktivieren;

d) einige Schnitte enthielten als interne Negativkontrolle Epidermis, Nerven und Hautmuskulatur.

In den Negativkontrollen darf keine positive Reaktion in Form von weinrotem Farbniederschlägen auftreten. In den Hauptuntersuchungen werden für die TRAP-Färbung keine gesonderten Negativkontrollen durchgeführt; es genügen die internen Negativkontrollen.

3.1.8 Spezialfärbungen

3.1.8.1 Elastica-van-Gieson

1) 10 Minuten entparaffinieren in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) anschließend 2 x je 3 Minuten Isopropanyl, 1 x 3 Minuten 96% Alkohol, 1 x 3 Minuten 80% Alkohol

2) 10 Minuten Kardasewitsch (s. Anhang), gründlich in Aqua dest. wässern

3) 3 Minuten Cölestinblaulösung (siehe unten)

4) Wässern, Aqua dest.

5) 3 Minuten färben in Mayers Hämalan

6) Ist die Färbung zu dunkel ausgefallen, in 1%igem Salzsäurealkohol differenzieren

7) 10 Minuten bläuen in Leitungswasser

8) Wässern, Aqua dest.

9) 5 Minuten färben in van Gieson-Gemisch modifiziert nach Unna (siehe unten)

10) Wässern, Aqua dest.

16) Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe, zweimaliges Klären in Roti-Histol[®] für je 3 Minuten, eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®], Mod.4765, Vogel Wilhelm GmbH, Giessen).

Ergebnis: Elastische Fasern violett, kollagene Fasern pink

Cölestinblaulösung:

Zu 100 ml einer 5%igen Eisenalaunlösung werden 0,5g Cölestinblau zugegeben. Anschließend 3 Minuten kochen, nach dem Abkühlen filtrieren und 14 ml Glycerin zugeben.

van Gieson-Gemisch modifiziert nach Unna:

90 ml konzentrierte wäßrige Pikrinsäurelösung werden mit 0,25g Säurefuchsin, 10 ml Glycerin und 0,5 ml konzentrierte Salpetersäure versetzt.

Salzsäurealkohol:

100 ml 70%iger Isopropylalkohol und 1ml 25%ige Salzsäure

3.1.9 Terminale Desoxynukleotidyl-Transferase(TUNEL)-Methode zur Darstellung apoptotischer Zellen

Die Darstellung apoptotischer Zellen in den Fibrosarkomen erfolgte mit der TUNEL-Methode zur Markierung von DNA-Fragmenten (Gavrieli et al., 1992) mittels eines kommerziellen Kits (ApopTag InSitu Apoptosis Detection Kit; S7100-KIT, Oncor, Heidelberg, Germany), das bereits erfolgreich an felineen Zellen angewandt wurde (Sarli et al., 1998; Kipar et al., 1999, 2001; Köhler et al., 2001).

- 1) Entparaffinieren der Schnitte in Roti-Histol[®] (Karl Roth GmbH & Co KG, Karlsruhe) für 2 x 5 Minuten; Entfernen des Xylol-Ersatzes in der aufsteigenden Alkoholreihe (2 x Ethanol je 5 Minuten, 1 x 96% Alkohol für 3 Minuten, 1 x 70% Alkohol für 3 Minuten); waschen in PBS (s. Anhang) für 5 Minuten
- 2) Vorbehandlung der Schnitte mit 20 µg/ml Proteinase K (Gibco BRL Life Technologies GmbH, Eggenstein) in PBS für 15 Minuten; 4 x waschen der Schnitte in Aqua dest. für je 2 Minuten
- 3) Inaktivierung der endogenen Peroxidase in 2% H₂O₂ (Perhydrol[®] 30% H₂O₂ p.a.; E. Merck, Darmstadt) in PBS für 5 Minuten; waschen der Schnitte 2 x 5 Minuten in PBS
- 4) Entfernen überschüssigen Puffers um den Schnitt; Auftragen von "Equilibration buffer" (13 µl/cm²) und Inkubation unter Coverslip-Folie arbeitstechnisch bedingt mindestens für 10 Sekunden bis maximal 30 Minuten in feuchter Kammer; entfernen von Coverslip-Folie und überschüssigem "Equilibration buffer"

- 5) Auftragen von "Working Strenght" TdT-Enzym-Lösung ($10 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) und Inkubation unter Coverslip-Folie für 1h bei 37°C in feuchter Kammer; entfernen der Coverslip-Folie und waschen in Working Strenght Stop Wash Buffer in einer Küvette für 10 Minuten bei Raumtemperatur; 3 x waschen in PBS für 5 Minuten
- 6) Auftragen von anti-Digoxigenin-Peroxidase-Lösung ($13 \mu\text{l}/\text{cm}^2$) und Inkubation unter Coverslip-Folie für 30 Minuten bei Raumtemperatur in feuchter Kammer; 3 x 5 Minuten waschen in PBS
- 7) Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in 0,05% Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB; Fluka Feinchemikalien GmbH; Neu Ulm) mit 0,01% H_2O_2 in 0,1 M Imidazolpuffer (pH 7,1; s. Anhang) für 10 Minuten
- 8) Waschen der Schnitte 3 x für je 5 Minuten in TBS und 1 x 5 Minuten in Aqua dest.
- 9) Gegenfärben mit Papanicolaous Hämatoxilin (Papanicolaou 1b; E. Merck, Darmstadt; 1:10 in Aqua dest.) für etwa 20 Sekunden und bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 Minuten
- 10) Waschen für 1 Minuten in Aqua dest.
- 11) Entwässern der Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe und zweimaliges Klären in Roti-Histol® für je 3 Minuten, eindecken mit Eukitt® (Hecht) und Deckgläsern

3.1.10 Statistische Analyse

Die Datenhaltung und –auswertung sowie die Erstellung der graphischen Abbildungen im Rahmen der Ergebnispräsentation erfolgte auf den Rechnern im lokalen Rechnernetzwerk (LAN) der Arbeitsgruppe Biomathematik und Datenverarbeitung des Fachbereiches Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Giessen. Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Statistikprogrammpakets BMDP/Dynamic, Release 7.0 (Dixon, 1993) durchgeführt. Die graphischen Abbildungen wurden auf einem Personalcomputer mit dem Programm PlotIT (Version 2.0) (Eisenschmith, 1993) beziehungsweise PlotIT für Windows, Version 3.20h (Eisenschmith, 1994) erzeugt.

Zur Beschreibung der Daten wurden arithmetische Mittelwerte (\bar{x}), Standardabweichungen (s), Minima (x_{\min}), Maxima (x_{\max}) und der Stichprobenumfang (n) berechnet.

Bei den semiquantitativen Variablen PCNA, CD3, CD45R, Mitose und Apoptose erfolgte die Datenbeschreibung durch die Angabe der Mediane (x), der Quartilen (Q1 und Q3) sowie der

kleinsten und der größten Beobachtungen mit Darstellung im Box-and-Wisker-Plot (Lorenz, 1996).

Zur statistischen Prüfung des Gruppeneinflusses auf Signifikanz wurde bei den angenähert normalverteilten Merkmalen eine einfaktorische Varianzanalyse mit dem Programm BMDP7D durchgeführt. Falls sich hierbei signifikante Unterschiede ermitteln ließen, wurden die Gruppen anschließend paarweise mit dem Student-Newman-Keuls-Verfahren verglichen (Sachs, 1992). Bei den semiquantitativen Merkmalen, wie zum Beispiel MAC387, MHCII, CD18 und Elastica-van-Gieson kam bei Gruppenvergleichen der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test unter Verwendung des Programms BMDP3S zum Einsatz.

Die Untersuchung der Zusammenhänge erfolgte bei quantitativen Merkmalen mit Hilfe von Korrelations- und Regressionsanalysen mit dem Programm BMDP6D unter Angabe der Korrelationskoeffizienten (r) und der Regressionsgeraden ($y = m \cdot x + b$) beziehungsweise mit dem Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (r_s).

Für die Gegenüberstellung qualitativer Merkmale wie zum Beispiel das Vorliegen einer FeLV-Infektion oder das Vorhandensein von mehrkernigen Riesenzellen, Nekrosen, Blutungen und Verknöcherungen wurden Häufigkeitstabellen mit dem Programm BMDP4F erzeugt und mit dem (verallgemeinerten) Fisher-Test/Chi-Quadrat-Test auf signifikante Zusammenhänge geprüft. Hier kam ein Eigenprogramm der AG Biomathematik und DV zum Einsatz.

Bei der Bewertung statistischer Signifikanzen wurde das Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt, das heißt, Ergebnisse mit $p \leq 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen. Zusätzlich wird – wenn möglich - der exakte p-Wert angegeben.

3.2 Ergebnisse

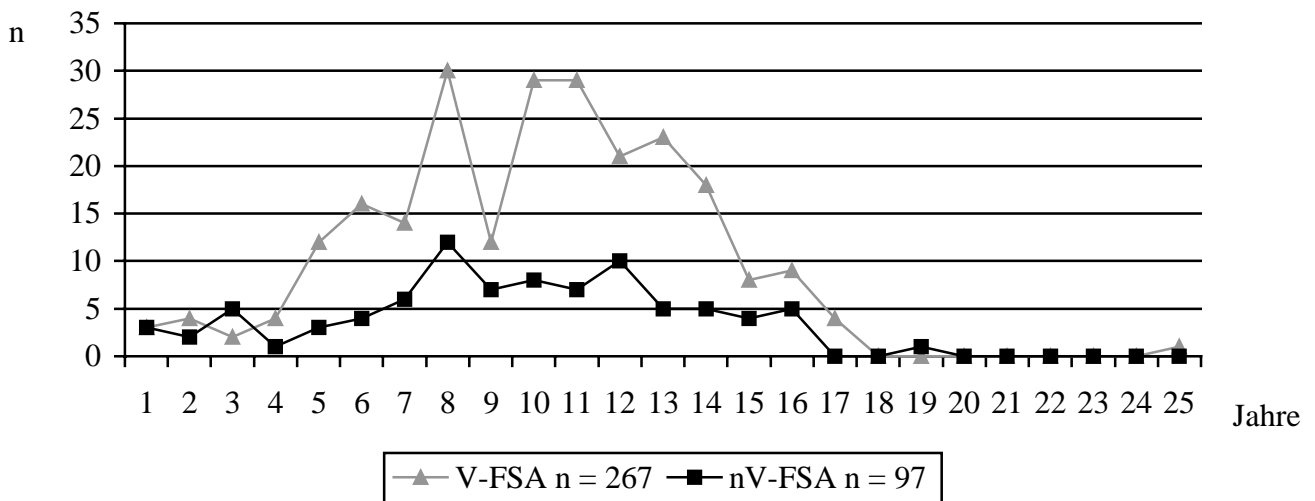
In die Untersuchung wurden 364 Fibrosarkome (FSA) einbezogen.

3.2.1 Alter, Rasse, Geschlecht und FeLV-Status

Anhand der vorherberichtlich erwähnten Lokalisation der Tumoren konnte man Vakzine-assoziierte (V-FSA; n=267) und nicht Vakzine-assoziierte Fibrosarkome (nV-FSA; n=97) unterscheiden. Um eine Vorstellung über die Verteilung dieser Lokalisationen im Bezug auf die Hautoberfläche zu bekommen, wurde das komplette Fell einer durchschnittlichen Europäischen Kurzhaarkatze prozentual vermessen. Die in der Literatur als "Vakzine-assoziiert" definierten Lokalisationen machen 40% der Körperoberfläche, die als "nicht Vakzine-assoziiert" definierten Lokalisationen 60% der Hautoberfläche aus.

Das Alter war in 327 Fällen bekannt. Bei 28 Tieren mit V-FSA lag keine Altersangabe vor, in der Gruppe der nV-FSA war dies bei 9 Tieren der Fall. Ansonsten lag das Alter zwischen 1 und 25 Jahren (s. Grafik 3.2.1).

Grafik 3.2.1 Altersverteilung der Katzen mit FSA (n = 327)



In 342 (94%) Fällen war vorberichtlich anstelle einer genauen Angabe der Rasse lediglich "Katze" angegeben. Es ist davon auszugehen, dass hiermit Europäisch-Kurzhaar gemeint ist, letztendlich kann aber keine vollständig abgesicherte Aussage über die Rasseverteilung des Untersuchungsmaterials getroffen werden. Die restlichen 22 Fälle (6%) teilten sich folgendermaßen auf: 14 Perser, 4 Siam, 2 Karthäuser und je 1 Main Coon und 1 Norwegische Waldkatze.

Das Geschlecht war bei 343 Tieren bekannt (260 Katzen mit V-FSA und 83 Katzen mit nV-FSA). Die Geschlechtsverteilung ist in Tabelle 3.2.1 genauer dargestellt.

Tabelle 3.2.1: Geschlechtsverteilung der Katzen mit FSA (n = 343)

Geschlecht	V-FSA; n = 260 (%)	nV-FSA; n = 83 (%)	Gesamtzahl; n (%)
w	98 (38%)	27 (33%)	125 (36%)
wk	50 (19%)	14 (17%)	64 (19%)
m	62 (24%)	21 (25%)	83 (24%)
mk	50 (19%)	21 (25%)	71 (21%)

Erläuterung der Abkürzungen: w: weiblich; wk: weiblich-kastriert; m: männlich; mk: männlich-kastriert; n: Anzahl der Tiere

Basierend auf dem immunhistologischen Nachweis einer FeLV-Expression in den neoplastischen Zellen fanden sich FeLV-positive FSA (n=9; 2,5%) und FeLV-negative FSA (n=355; 97,5%).

3.2.2 Makroskopische Befunde

Die FSA wurden teils als Biopate mit etwa 0,5 cm Durchmesser eingesandt, erreichten aber eine natürliche Größe von bis zu 12 cm im Durchmesser (Abb. 1). Die Tumoren hatten eine feste, derbe Konsistenz. Die Schnittfläche war weiß und häufig blumenkohlartig gefeldert. Die makroskopischen Befunde der Tumoren sind in den Tabellen 7.1 und 7.2 im Anhang detailliert aufgelistet.

Bei den meisten Fällen (n=345; 95%) handelte es sich um kutane FSA. Eine Ausnahme stellte der Fall T4895/98 dar, der in der Harnblase lokalisiert war. Die übrigen nicht kutanen Fibrosarkome lagen in der Mundhöhle oder im Mammagewebe. In drei Fällen (T9596/98, T798/00 und T1901/00) konnte keine genaue Angabe über die Lage in der Haut gemacht werden, da es sich lediglich um Biopsieproben aus den Tumoren handelte. Die kutanen Tumoren waren ansonsten im subkutanen Fettgewebe lokalisiert und reichten häufig bis an

die Epidermis heran. Sofern die Epidermis mit in die histologischen Untersuchung einbezogen wurde, ließ sich beurteilen, ob eine oberflächliche Ulzeration vorlag. Dies war der Fall bei 8 FSA (3 V-FSA und 5 nV-FSA). Die Ulzerationen schwankten in ihrem Durchmesser zwischen 0,5 und 2 cm und reichten bis zu 1 cm in die Tiefe.

3.2.3 Histopathologische Befunde

3.2.3.1 Morphologische Charakterisierung anhand von HE-gefärbten Schnitten

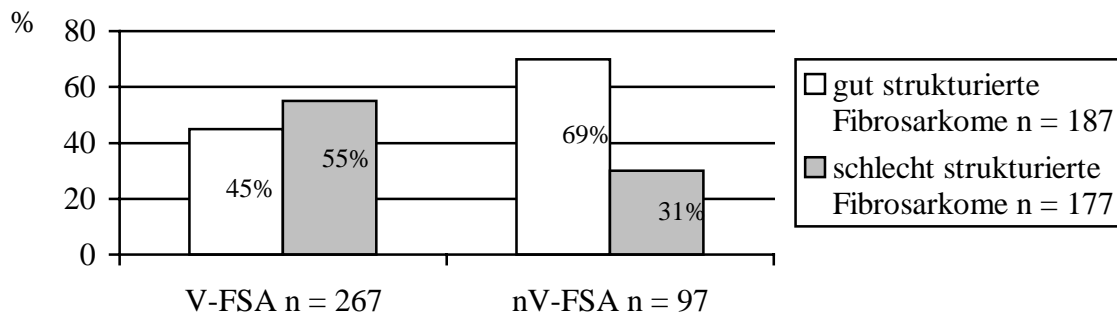
Es konnten lichtmikroskopisch zwei verschiedenen Zelltypen definiert werden: Der erste Zelltyp, der in **gut strukturierten FSA** dominiert, war im Durchschnitt 12-15 µm lang, zytoplasmaarm und relativ monomorph. Er wies einen langgezogen bis ovalen Kern mit einem Durchmesser von 4-6 µm sowie unauffällige Nukleoli auf. Die Zellen lagen meist geordnet in mehreren Bündeln, die zueinander im spitzen Winkel gekreuzt lagen, so dass ein strukturiertes, monomorphes Gesamtbild vorlag (Abb. 2). FSA, in denen dieser Zelltyp überwog, wurden als strukturiert angesprochen (n=187; 120 (64%) V-FSA und 67 (36%) nV-FSA).

Dem gegenüber standen die sogenannten **schlecht strukturierten FSA** (n=177; 147 (83%) V-FSA 30 (17%) nV-FSA). Hier dominierten durchschnittlich 25-30 µm große, zytoplasmareiche, teils vakuolige, großkernige, pleomorphe Zellen. Der meist runde Kern erreichte bis zu 20 µm im Durchmesser, das feingranuläre Chromatin war häufig diffus verteilt, meist waren mehrere deutliche Nukleoli zu erkennen (Abb. 3). In diesem Zelltyp war häufig eine Anisokariose zu erkennen.

Anhand der Tumorzellmorphologie ließen sich die felines FSA in die zwei Gruppen "gut strukturierte" und "schlecht strukturierte" FSA einteilen, da zwei Arten von neoplastischen Zellen das Bild dominierten. In zahlreichen Tumoren lag ein Nebeneinander von beiden Zelltypen vor. Die Einteilung wurde anhand des dominierenden Zelltyps vorgenommen.

Grafik 3.2.2 gibt die Anteile der gut strukturierten beziehungsweise schlecht strukturierten FSA in Abhängigkeit von der Lokalisation (Vakzine-assoziiert und nicht Vakzine-assoziiert) der Tumoren wieder. Absolut gesehen waren gut strukturiert FSA geringgradig häufiger vertreten (n=187; 51%) als schlecht strukturiert FSA (n=177; 49%). Mit Hilfe des Chiquadrat-Tests konnte eine statistische Signifikanz für das Vorkommen schlecht strukturierter Zellen bei den V-FSA beziehungsweise gut strukturierter FSA unter den nV-FSA berechnet werden ($p=0,00005$).

Grafik 3.2.2: Prozentuale Anteile der strukturiert beziehungsweise unstrukturiert FSA an den Vakzine-assoziierten FSA und nicht Vakzine-assoziierten FSA



Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA

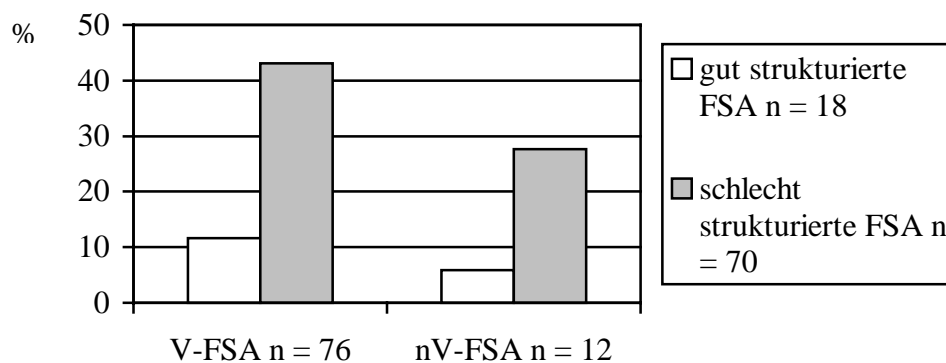
In 88 von 364 Fällen enthielt der Tumor eine wechselnde Anzahl von **mehrkernigen Riesenzellen** (Abb. 4). Als mehrkernige Riesenzellen wurden Zellen mit zwei oder mehr Zellkernen angesprochen. Die Zellgröße schwankte zwischen 10 und 50 μm im Durchmesser und war stark abhängig von der Anzahl der Zellkerne, die maximal die Zahl 25 im Schnitt erreichte. Die einzelnen Kerne hatten einen Durchmesser von etwa 8-10 μm . Die runden bis bizarr geformten Zellen waren sehr zytoplasmareich und wiesen deutliche Zellgrenzen auf. Häufig fanden sich variabel große Akkumulate aus mehrkernigen Riesenzellen. Diese lagen insbesondere am Rand von Nekrosearealen (siehe unten). Teils waren auch einzelne mehrkernige Riesenzellen disseminiert zwischen den einkernigen Tumorzellen zu finden. Mehrkernige Riesenzellen fanden sich in 76 V-FSA (13 gut strukturierte, 63 schlecht strukturierte FSA) und in 12 nV-FSA (5 gut strukturierte, 7 schlecht strukturierte FSA). Insgesamt enthielten also 18 gut strukturierte FSA und 70 schlecht strukturierte FSA mehrkernige Riesenzellen. Eine Übersicht ist in Tabelle 3.2.2 und Grafik 3.2.3 gegeben.

Tabelle 3.2.2: Übersicht über das Vorkommen von Riesenzellen in den FSA (n = 364)

	gut strukturierte FSA			schlecht strukturierte FSA		
	gesamt	V-FSA	nV-FSA	gesamt	V-FSA	nV-FSA
n/N	18/187	13/120	5/67	70/177	63/147	7/30
%	10	11	7	37	43	23

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit Riesenzellen; N: Gesamtzahl der Tumoren

Grafik 3.2.3: Häufigkeit der Riesenzellen in den FSA



In den gut strukturierten FSA lagen die Riesenzellen einzeln disseminiert zwischen den Tumorzellen.

Mittels des Chi-Quadrat-Tests mit anschließendem zweiseitigen exakten Wilcoxon-Mann-Whitney Test wurde das statistisch signifikant häufigere Vorkommen mehrkerniger Riesenzellen in V-FSA ($p=0,0029$) und in unstrukturierten FSA ($p=0,001$) nachgewiesen.

In nahezu allen Tumoren fanden sich disseminiert wechselnd viele einzelne nekrotische Tumorzellen und kleine Gruppen von nekrotischen Tumorzellen. Zusätzlich fanden sich in insgesamt 109 Tumoren (31%) größere **Nekroseareale** (Abb. 5). Diese machten oft über 25% der Tumorfläche im Schnitt aus und bildeten zum Teil zentrale zystische Hohlräume. Nekroseareale fanden sich in 49/187 (26%) gut strukturierten FSA (40 V-FSA, 9 nV-FSA) und häufiger (62/177; 35%) in schlecht strukturierten FSA (53 V-FSA, 9 nV-FSA). Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3.2.3 und 3.2.4 zusammenfassend dargestellt.

Einige Tumoren wiesen auch herdförmige **Blutungen** teilweise mit Ansammlungen von Siderophagen zwischen den Erythrozyten auf (Abb. 6). Diese wurden in 6% der gut strukturierten FSA (2 V-FSA, 10 nV-FSA) und in 13% der schlecht strukturierten FSA (16 V-

FSA, 7 nV-FSA) gefunden. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3.2.3 und 3.2.4 zusammenfassend dargestellt.

In einzelnen Fällen fanden sich auch herdförmige **Verknöcherungen**. Diese lagen in Form metaplastischer Verknöcherungen größerer Areale vor oder ungeordnet als einzelne kleinere Osteoidareale zwischen den Tumorzellen (Abb. 8 und Abb. 9). Dieses Phänomen wurde in 7 gut strukturierten FSA (2 V-FSA, 5 nV-FSA) sowie in 8 schlecht strukturierten FSA (7 V-FSA und 1 nV-FSA) beobachtet. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3.2.3 und 3.2.4 zusammenfassend dargestellt

Tabelle 3.2.3: Vorkommen von Nekrosearealen sowie Blutungen und Verknöcherungen in gut strukturierten FSA (n = 187)

	gesamt; n/N (%)	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
Nekroseareale	49/187 (26%)	40/120 (33%)	9/67 (13%)
herdförmige Blutungen	12/187 (6%)	2/120 (2%)	10/67 (15%)
herdförmige Verknöcherungen	7/187 (4%)	2/120 (2%)	5/67 (7%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren

Tabelle 3.2.4: Nekrosen, Blutungen und Verknöcherungen in schlecht strukturierten FSA (n = 177)

	Gesamt n/N (%)	V-FSA n/N (%)	nV-FSA n/N (%)
Nekroseareale	62/177 (35%)	53/147 (36%)	9/30 (30%)
herdförmige Blutungen	23/177 (13%)	16/147 (11%)	7/30 (23%)
herdförmige Verknöcherungen	9/177 (5%)	7/147 (5%)	2/30 (7%)

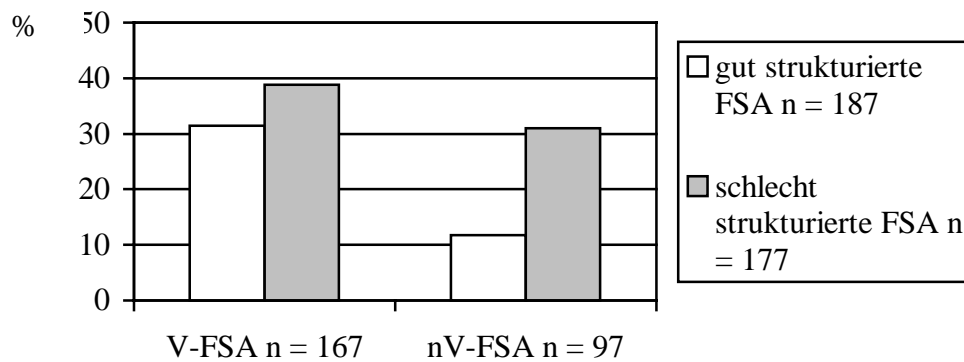
Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren

Bezogen auf das Vorkommen von Nekrosearealen, herdförmigen Blutungen und Verknöcherungen fanden sich zum Teil deutliche Unterschiede zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten Tumoren. So fanden sich für das Vorkommen von **Nekrosearealen** und herdförmigen **Blutungen** in Gegensatz zu **Verknöcherungen** statistische Signifikanzen. Eine Übersicht gibt die Tabelle 3.2.5.

Tabelle 3.2.5: Signifikante Unterschiede hinsichtlich des Vorkommens von Nekrosenherden sowie Blutungen und herdförmigen Verknöcherungen in felines FSA in Abhängigkeit von der Strukturierung

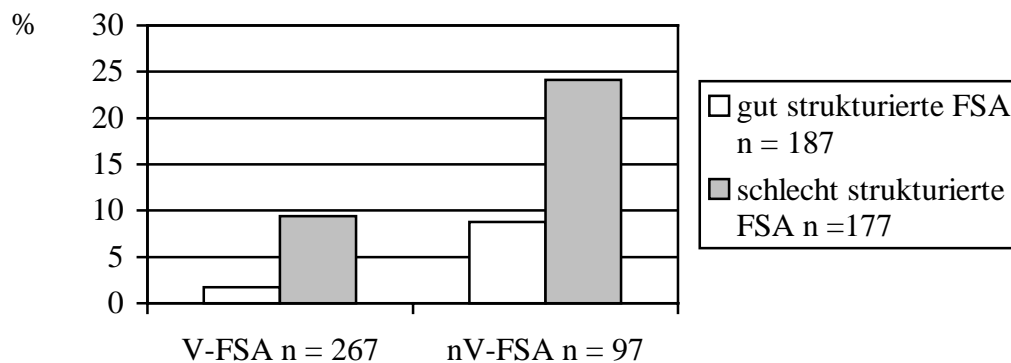
	gut strukturierte FSA.; n/N (%)	schlecht strukturierte FSA.; n/N (%)	p-Wert
Nekroseareale	49/187 (26%)	62/177 (35%)	0,0396
herdförmige Blutungen	12/187 (6%)	23/177 (13%)	0,0014
Verknöcherungen	7/187 (4%)	8/177 (5%)	0,8296

Grafik 3.2.4: Häufigkeit von Nekrosearealen in FSA



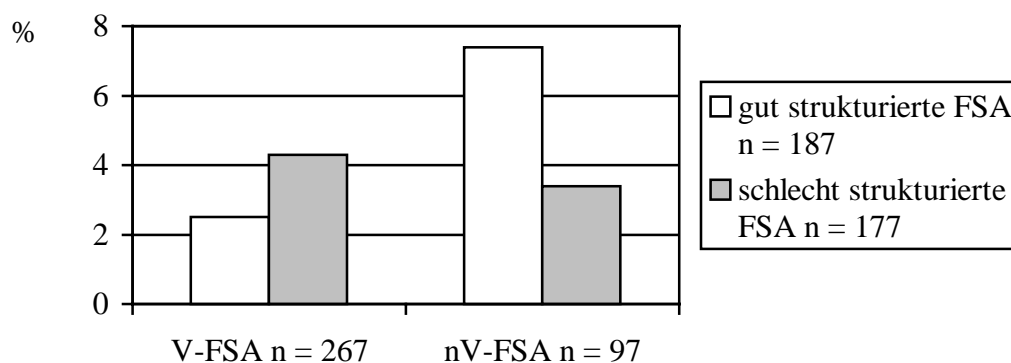
Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA

Grafik 3.2.5: Häufigkeit von Blutungen in FSA



Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA

Grafik 3.2.6: Häufigkeit von Verknöcherungen in FSA



Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA

Auch bezogen auf die Lokalisation der Tumoren fanden sich teils deutliche Unterschiede. So wiesen V-FSA signifikant häufiger große **Nekroseareale** auf. Während herdförmige Blutungen signifikant häufiger in nV-FSA waren, ergab sich für den Parameter „herdförmige Verknöcherungen“ kein statistisch signifikanter Unterschied (siehe Tabelle 3.2.6).

Tabelle 3.2.6: Vorkommen von Nekrosenherden sowie Blutungen und herdförmigen Verknöcherungen in felinen FSA in Abhängigkeit von der Lokalisation

	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)	p-Wert
Nekroseareale	92/267(34%)	17/97 (18%)	0,0059
Blutungsherde	15/267 (6%)	13/97 (13%)	0,019
Verknöcherungen	9/267 (3%)	6/97 (6%)	0,2543

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA

Die Tumoren waren, sofern die natürlichen Grenzen im Schnitt enthalten und somit beurteilbar waren, nicht deutlich vom umgebenden Gewebe **abgegrenzt**. Es fanden sich meistens einzelne Tumorzellen zwischen Fasern des umgebenden kollagenen Bindegewebes, im subkutanen Fettgewebe und/oder zwischen Muskelfasern. In allen Tumoren fanden sich zwischen den Tumorzellen Kollagenfaserbündel in wechselnder Menge. Der Gehalt an **elastischen** und **kollagenen Fasern** wurde mittels der Elastica-van Gieson-Färbung untersucht. Hierauf wird im Kapitel 3.2.1.3.2 näher eingegangen. Zwischen den Tumorzellen lagen in wechselnder Menge Gefäße.

Neben den teils beobachteten oberflächlichen Ulzerationen (siehe oben) fanden sich in den meisten Tumoren (232 V-FSA (88%), (105 gut strukturierte und 127 schlecht strukturierte FSA) und 53 nicht V-FSA (58%), (32 gut strukturierte und 21 schlecht strukturierte FSA)) **entzündliche Infiltrate** von variabler Intensität. Diese bestanden überwiegend aus mononukleären Entzündungszellen (Lymphozyten, geringer Anteil an Makrophagen), die sich meist als variabel große Herde vor allem in der Tumorperipherie fanden, in geringer Anzahl allerdings auch disseminiert zwischen den Tumorzellen lagen. Zusätzlich waren in einem Teil der Fälle gemischtzellige Infiltrate zwischen den Tumorzellen zu beobachten. Diese säumten vor allem die oben beschriebenen Nekroseareale. Die entzündliche Infiltration wurde entsprechend ihrer Intensität als gering,- mittel- oder hochgradig angesprochen. Als gering wurde eine Infiltration von etwa 10 bis zu maximal 50 Entzündungszellen pro Tumorschnitt angesehen, unabhängig davon welche Art der Entzündungszellcharakter war. Als mittelgradig wurde eine Infiltration mit bis zu 200 Entzündungszellen bewertet. Alles was darüber lag, wurde als hochgradig entzündlich infiltriert eingestuft. Fand sich lediglich ganz vereinzelt eine Entzündungszelle (also unter 10 Zellen pro Tumor), wurde dieser Tumor als nicht entzündlich infiltriert gezählt. Eine Übersicht über die entzündlichen Infiltrate in den gut strukturierten beziehungsweise schlecht strukturierten FSA geben die Tabellen 3.2.7 und

3.2.8. Statistisch signifikante Unterschiede bezogen auf die Strukturierung der FSA fanden sich keine ($p=0,1888$).

Tabelle 3.2.7: Entzündliche Infiltrate in den gut strukturierten FSA

Grad	gesamt: n/N	V-FSA: n/N (%)	nV-FSA: n/N (%)
-	47/187 (25%)	15/120 (13%)	32/67 (48%)
+	73/187 (39%)	47/120 (39%)	26/67 (39%)
++	50/187 (27%)	42/120 (35%)	8/67 (12%)
+++	17/187 (9%)	16/120 (13%)	1/67 (1%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; -: nicht entzündlich infiltriert; +: geringgradig entzündlich infiltriert; ++: mittelgradig entzündlich infiltriert; +++: hochgradig entzündlich infiltriert

Tabelle 3.2.8: Entzündliche Infiltrate in den schlechtstrukturierten FSA

Grad	gesamt: n/N	V-FSA: n/N (%)	nV-FSA: n/N (%)
-	25/177 (14%)	18/147 (12%)	7/30 (23%)
+	75/177 (42%)	64/147 (44%)	11/30 (37%)
++	49/177 (28%)	41/147 (28%)	8/30 (27%)
+++	28/177 (16%)	24/147 (16%)	4/30 (13%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierten FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; -: nicht entzündlich infiltriert; +: geringgradig entzündlich infiltriert; ++: mittelgradig entzündlich infiltriert; +++: hochgradig entzündlich infiltriert

Eine detaillierte Übersicht über die entzündlichen Infiltrate in den FSA im Hinblick auf ihre Lokalisation (V-FSA und nV-FSA) ist in Tabelle 3.2.9 dargestellt. Betrachtet man die Gesamtheit der FSA, so sind die meisten Tumoren geringgradig infiltriert. Bezogen auf die Lokalisation kristallisiert sich heraus, dass V-FSA stärker entzündlich infiltriert sind als nV-FSA ($p<0,0001$). Der Großteil der V-FSA ist gering- oder mittelgradig entzündlich infiltriert. Bei den nV-FSA weist der größte Teil der Fälle keine oder eine geringgrade entzündliche Infiltration auf.

Tabelle 3.2.9: Entzündliche Infiltrate in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation (V-FSA und nV-FSA)

	Gesamt: n/N (%)	V-FSA: n/N (%)	nV-FSA: n/N (%)
-	72/364 (20%)	33/267 (12%)	39/97 (40%)
+	148/364 (41%)	111/267 (42%)	37/97 (38%)
++	99/364 (27%)	83/267 (31%)	16/97 (16%)
+++	45/364 (12%)	40/267 (15%)	5/97 (5%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren;

-: nicht entzündlich infiltriert; +: geringgradig entzündlich infiltriert; ++: mittelgradig entzündlich infiltriert; +++: hochgradig entzündlich infiltriert

Die chronologisch ersten 289 Tumoren wurden näher auf die Art und Verteilung der Tumorinfiltrierenden Lymphozyten hin untersucht. Auf die detaillierte Verteilung der Lymphozyten sowie eine nähere Charakterisierung der B- und T-Zellen wird in Kapitel 3.2.3.5.4 eingegangen.

Eine Übersicht über die am HE-Schnitt ausgewerteten Lymphozyteninfiltrationen gibt die Tabelle 3.2.10. Bezogen auf die Lokalisation der FSA (V-FSA beziehungsweise nV-FSA) fanden sich statistisch signifikante Unterschiede. So kamen Lymphozyteninfiltrate häufiger in Vakzine-assoziierten FSA vor ($p < 0,0001$). Im Hinblick auf die Strukturierung konnte keine Signifikanz ermittelt werden ($p = 0,5770$).

Tabelle 3.2.10: Lymphozyteninfiltration in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation (V-FSA und nV-FSA)

Grad	Gesamt: n/N (%)	V-FSA: n/N (%)		nV-FSA: n/N (%)	
		g. strukt. FSA n/N (%)	s. strukt. FSA n/N (%)	g. strukt. FSA n/N (%)	s. strukt. FSA n/N (%)
-	96/364 (20%)	23/120 (19%)	22/147 (15%)	42/67 (63%)	9/30 (30%)
+	170/364 (41%)	51/120 (43%)	85/147 (58%)	21/67 (31%)	13/30 (43%)
++	85/364 (27%)	39/120 (32%)	34/147 (23%)	4/67 (6%)	8/30 (27%)
+++	13/364 (12%)	7/120 (6%)	6/147 (4%)	0/67	0/30

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; g. strukt. FSA: gut strukturierte FSA; s. strukt. FSA: schlecht strukturierte FSA; n: Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; -: nicht entzündlich infiltriert; +: geringgradig entzündlich infiltriert; ++: mittelgradig entzündlich infiltriert; +++: hochgradig entzündlich infiltriert

3.2.3.2 Darstellung von kollagenen und elastischen Fasern mittels Elastica-van Gieson-Färbung

Bei insgesamt 109 FSA (50 gut strukturierte und 59 schlecht strukturierte FSA) erfolgte der Nachweis von Kollagenfasern und elastischen Fasern mittels der Elastica-van Gieson-Färbung. Von den 50 gut strukturierten FSA waren je 25 Vakzine-assoziiert beziehungsweise nicht Vakzine-assoziiert, von den 59 schlecht strukturierten waren 44 Vakzine-assoziiert und 15 nicht Vakzine-assoziiert. Elastische Fasern fanden sich lediglich in der Tunica elastica von Gefäßen.

Alle FSA enthielten kollagene Fasern in wechselnder Menge.

Eine Übersicht über den Gehalt an kollagenen Fasern in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Strukturierung wird in den Tabellen 3.2.10 und 3.2.11 gegeben. Die Einteilung erfolgte nach dem Vorhandensein lediglich ganz vereinzelter, gering-, mittel- und hochgradiger Fasermengen. Als lediglich minimal (\pm) wurde ein Faseranteil von weniger als 10% der Tumorschnittsfläche bewertet. Bis 25% gilt als geringe (+), bis zu 50% als mittlere (++) Fasermengen und ein Anteil kollagener Fasern von bis zu 75% wurde als große (+++) Menge eingestuft. Ein Unterschied zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA konnte statistisch nicht belegt werden ($p=0,2065$).

Tabelle 3.2.11: Kollagenfasergehalt in den gut strukturierten FSA

Grad	gut strukturierte FSA		
	gesamt n/N (%)	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
\pm	2/50 (4%)	0/25	2/25 (8%)
+	27/50 (54)	11/25 (44%)	17/25 (68%)
++	9/50 (18%)	4/25 (16%)	5/25 (20%)
+++	11/50 (22%)	10/25 (40%)	1/25 (4%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; \pm : minimale Menge kollagenen Fasern; +: geringe Menge an kollagenen Fasern; ++: mittlere Menge an kollagenen Fasern; +++: große Menge an kollagenen Fasern

Tabelle 3.2.12: Kollagenfasergehalt in den schlecht strukturierten FSA

Grad	schlecht strukturierte FSA		
	gesamt n/N (%)	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
±	1/59 (2%)	1/44 (2%)	0/15
+	28/59 (47%)	21/44 (48%)	7/15 (47%)
++	21/59 (36%)	18/44 (41%)	3/15 (20%)
+++	9/59 (15%)	4/44 (9%)	5/15 (33%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; ±: minimale Menge an kollagenen Fasern; +: geringe Mengen an kollagenen Fasern; ++: mittlere Menge an kollagenen Fasern; +++: große Menge an kollagenen Fasern

Ein Vergleich der Kollagenfasermenge unabhängig von der Strukturierung, jedoch in Abhängigkeit von der Lokalisation der Tumoren, zeigte ebenfalls eine große Variabilität. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3.2.12 dargestellt und im Anhang detailliert aufgelistet (Tabelle 7.2).

Tabelle 3.2.13: Kollagenfasermenge in Abhängigkeit von der Lokalisation der FSA

Fasergehalt	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
±	1/69 (1%)	2/40 (5%)
+	32/69 (47%)	24/40 (60%)
++	22/69 (32%)	8/40 (20%)
+++	14/69 (20%)	6/40 (15%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; ±: minimale Menge an kollagenen Fasern; +: geringe Mengen an kollagenen Fasern; ++: mittlere Menge an kollagenen Fasern; +++: große Menge an kollagenen Fasern

Im Hinblick auf die Lokalisation der Tumoren fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen V-FSA und nV-FSA ($p=0,0375$), wobei nV-FSA mehr kollagene Fasern enthielten als V-FSA.

3.2.3.3 Darstellung der Proliferationsrate und der Apoptoserate in den FSA (zellulärer Turnover)

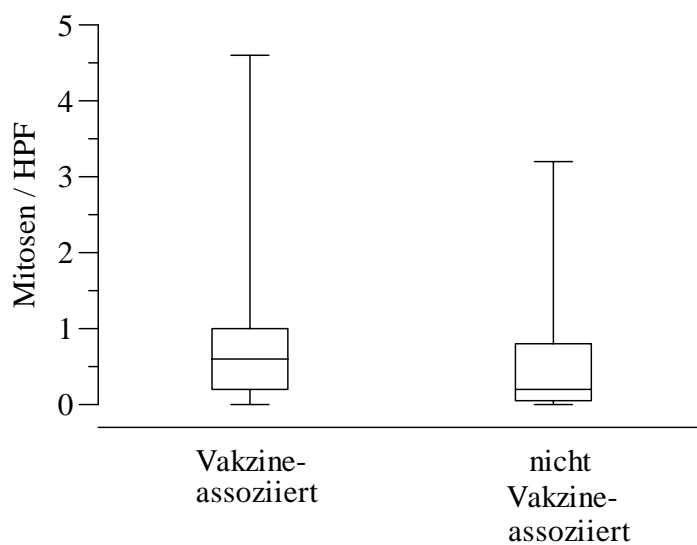
Bei sämtlichen untersuchten Tumoren wurde die Anzahl an Mitosen/HPF in den Tumorzellen bestimmt. Bei den gut strukturierten FSA ($n=187$) schwankte die Anzahl der Mitosen pro Gesichtsfeld zwischen 0 und 3,2 (Median 0,2), bei den schlecht strukturierten FSA ($n=177$)

schwankte sie zwischen 0 und 4,6 (Median bei 0,6). Es wurde ein signifikant häufigeres Vorkommen von Mitosen ($p=0,002$) in den schlecht strukturiert FSA nachgewiesen.

Im Hinblick auf die Lokalisation der Tumoren schwankte die Mitosezahl zwischen 0 und 4,6 (V-FSA) beziehungsweise 0 und 3,2 (nV-FSA) pro Gesichtsfeld. Der Median lag bei 0,6 (V-FSA) beziehungsweise 0,2 (nV-FSA) (s. Grafik 3.2.4).

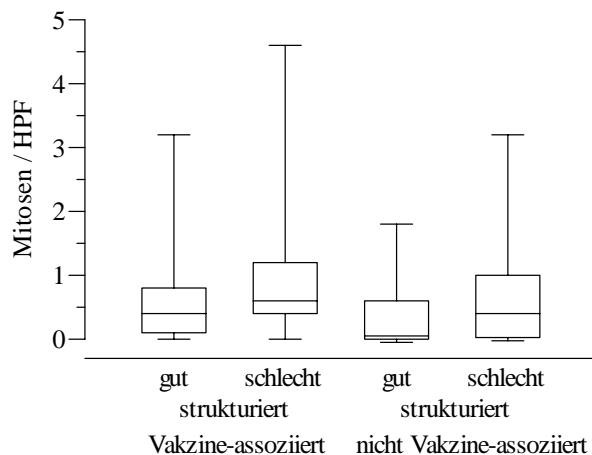
Es wurde ein signifikant häufigeres Vorkommen von Mitosen ($p=0,0002$) in den V-FSA nachgewiesen. Grafik 3.2.7 stellt die Mitoserate in den V-FSA dar.

Grafik 3.2.7: Box- and- Whisker Plot zur Darstellung der Mitosen/HPF in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation



Es ließ sich allerdings keine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und dem Strukturierung der FSA ($p=0,7769$) nachweisen. Grafik 3.2.8 stellt die Mitoserate in den FSA dar.

Grafik 3.2.8: Box- and- Whisker Plot zur Darstellung der Mitosen/HPF in den FSA



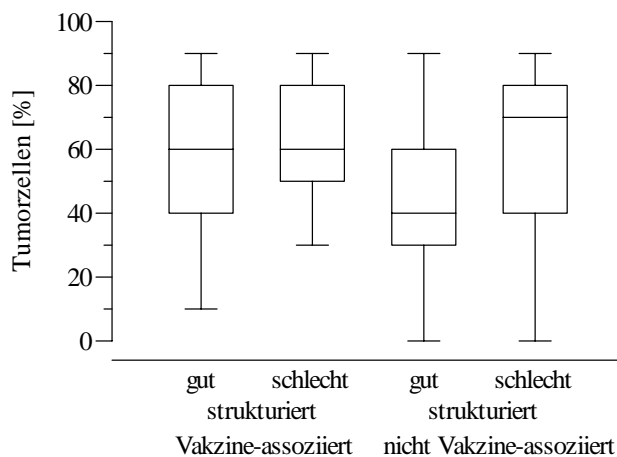
3.2.3.3.1 PCNA (*Proliferating cell nuclear antigen*)-Expression

Bei insgesamt 142 FSA (103 V-FSA, 39 nV-FSA) wurde die Zellproliferationsrate mittels des Nachweises von PCNA bestimmt. Von den 103 untersuchten V-FSA waren 39 gut strukturiert und 64 schlecht strukturiert, von den 39 untersuchten nV-FSA wurden 24 als gut strukturiert und 15 als schlecht strukturiert bewertet.

Generell war die Zahl an PCNA-positiven Zellen sehr variabel und schwankte zwischen etwa 0% und bis zu 90% (Abb. 10). Ein Vergleich der Proliferationsrate in V-FSA (Anteil an PCNA-positiven Tumorzellen zwischen 0% und 90%) und nV-FSA (Anteil an PCNA-positiven Tumorzellen zwischen 20% und 90%) gibt die Grafik 3.2.9 wieder.

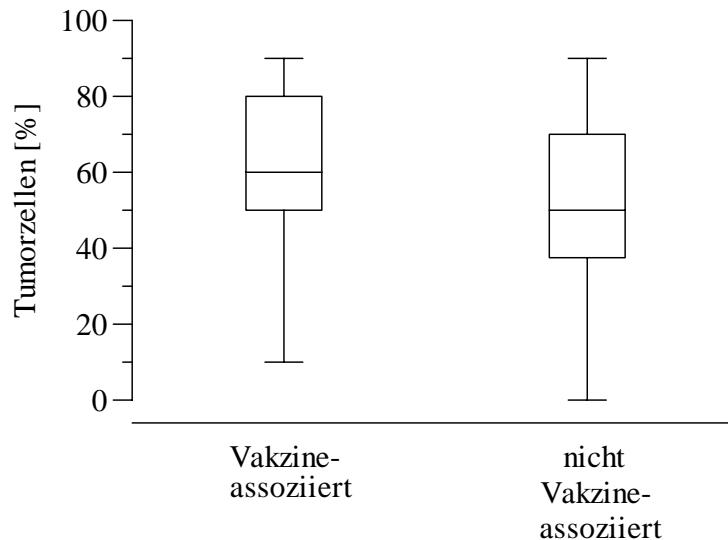
Es wurde ein signifikant häufigeres Vorkommen von PCNA-positiven Tumorzellen ($p=0,0088$; Median bei größer 40% und kleiner 50% PCNA-positiver Tumorzellen) in den schlecht strukturierten FSA nachgewiesen.

Grafik 3.2.9: Box- and - Whisker Plot zur Darstellung PCNA-positiver Tumorzellen in den FSA



Es fand sich in Bezug auf die PCNA-positiven Tumorzellen ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen V-FSA und nV-FSA ($p=0,0489$; Median bei 60% PCNA-positiven Tumorzellen; s. Grafik 3.2.10).

Grafik 3.2.10: Box- and – Whisker Plot zur Darsteckung der PCNA-Expression in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation



Es konnte allerdings keine signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der Tumoren gefunden werden ($p=0,2762$).

In 49 der 142 auf eine PCNA-Expression untersuchten Fällen waren mehrkernige Riesenzellen vorhanden (42 V-FSA und 7 nV-FSA). Von den 42 V-FSA waren 10 gut strukturiert und 32 schlecht strukturiert, von den 7 nV-FSA war eines gut strukturiert und 6 schlecht strukturiert.

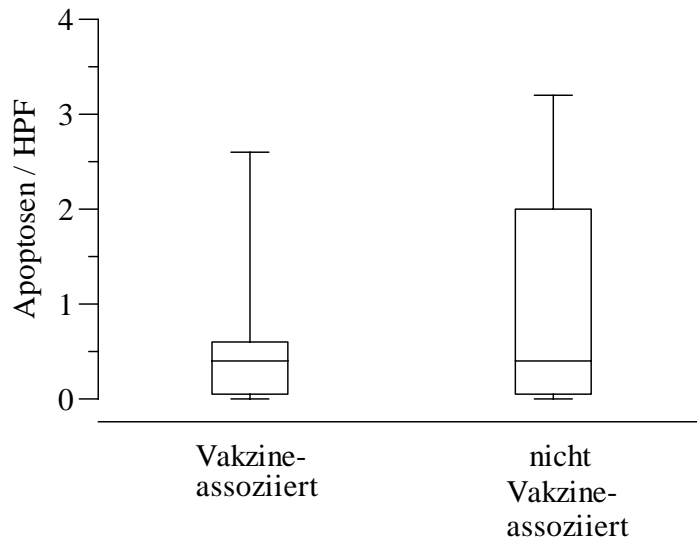
In etwa einem Drittel der mehrkernigen Riesenzellen konnte eine PCNA-Expression nachgewiesen werden (Abb. 11). Die Reaktion in den Kernen der mehrkernigen Riesenzellen war allerdings schwächer als in anderen neoplastischen Zellen des Tumors.

3.2.3.3.2 Anzahl an apoptotischen Zellen

In allen untersuchten FSA wurde im HE-gefärbten Schnitt die Anzahl der aufgrund ihrer Morphologie als apoptotisch anzusprechenden Tumorzellen pro HPF bestimmt. Bei den gut strukturierten FSA ($n=187$) schwankte die Anzahl der Apoptosen zwischen 0 und 3,2 pro Gesichtsfeld (Median bei 0,2/HPF), bei den schlecht strukturierten ($n=177$) zwischen 0 und 2,2 pro Gesichtsfeld (Median 0,4/HPF). Es wurde ein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Apoptoserate in gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA festgestellt ($p=0,0034$).

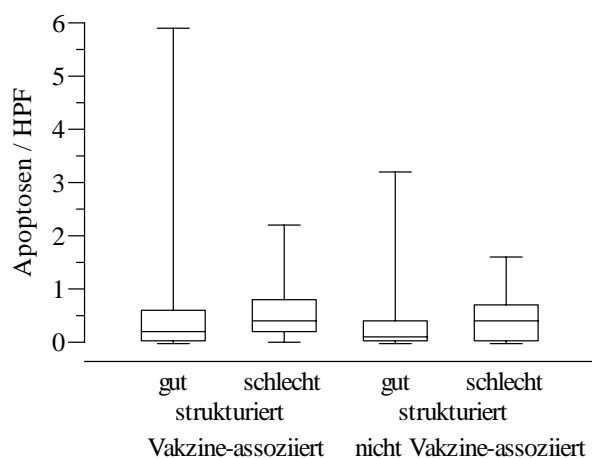
In Hinblick auf die Lokalisation der Tumoren schwankte die Zahl der Apoptosen zwischen 0 und 2,6 (V-FSA) beziehungsweise 0 und 3,2 (nV-FSA) pro Gesichtsfeld. Der Median lag bei 0,4 (V-FSA) beziehungsweise 0,2 (nV-FSA). Es fand sich keine statistische Signifikanz im Hinblick auf die Apoptoserate in V-FSA und nV-FSA ($p=0,2145$). Dies ist in der Grafik 3.2.11 dargestellt.

Grafik 3.2.11: Box-and-Whisker Plot zur Darstellung der Apoptosen in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation



Eine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der FSA im Hinblick auf die Apoptoserate fand sich nicht ($p=0,7415$). Eine Übersicht über die Verteilung der Apoptosen in den FSA gibt die Grafik 3.2.12 wieder.

Grafik 3.2.12: Box-and-Whisker Plot zur Darstellung der Apoptosen in den FSA



Zur Bestätigung der morphologischen Befunde erfolgte bei 15 V-FSA und 4 nV-FSA zusätzlich die Darstellung von Apoptosen mittels der TUNEL-Methode (Abb. 12). Die Zahl

der mittels der TUNEL-Methode als apoptotisch anzusprechenden Tumorzellen lag etwas höher als bei der Beurteilung des HE-Schnittes und reichte von 1 bis 5/HPF. Eine Übersicht über die Anzahl der Apoptosen pro HPF im Vergleich der beiden Methoden gibt Tabelle 3.214.

Tabelle 3.214: Anzahl der Apoptosen/HPF

nV-FSA	Apoptosen/HPF		Strukturierung
	TUNEL-Methode	HE	
T5413/98	4	0,2	gut strukturiert
T8442/98	2	0	gut strukturiert
T4244/99	4	1	gut strukturiert
T1010/00	1	1,4	gut strukturiert
V-FSA			
T3250/98	1	0,2	schlecht strukturiert
T5468/98	3	0,2	gut strukturiert
T8594/98	5	0,4	gut strukturiert
T517/99	4	0,2	schlecht strukturiert
T3742/99	1	0,2	schlecht strukturiert
T4462/99	1	0,6	schlecht strukturiert
T4754/99	2	2,2	gut strukturiert
T5363/99	4	0,6	schlecht strukturiert
T5544/99	1	0,2	schlecht strukturiert
T5620/99	3	0	gut strukturiert
T6755/99	2	0,2	gut strukturiert
T9716/99	5	0,6	gut strukturiert
T401/00	1	0,4	schlecht strukturiert
T529/00	1	0,8	gut strukturiert
T872/00	2	0	gut strukturiert

3.2.3.3.3 Nachweis des antiapoptotischen bcl-2-Proteins

Insgesamt wurden 61 FSA auf eine bcl-2-Expression hin untersucht (31 V-FSA und 30 nV-FSA). Von den insgesamt 61 untersuchten FSA waren 32 gut strukturiert (11 V-FSA und 21 nV-FSA) und 29 schlecht strukturiert (20 V-FSA und 9 nV-FSA). Es war generell eine variable Anzahl (0%-90%) neoplastischer Zellen bcl-2-positiv. In einigen Tumorf infiltrierenden Lymphozyten war ebenfalls eine deutliche bcl-2-Expression nachweisbar. Bei den positiven Zellen handelte es sich überwiegend um Zellen mit dem großen, blasigen Kern aktiver Fibroblasten (Abb. 13). Alle mehrkernigen Riesenzellen zeigten eine bcl-2-

Expression. Allerdings war die Intensität der Reaktion etwas schwächer als in den mononukleären Tumorzellen. Am stärksten positiv stellten sich die Tumor-infiltrierenden Lymphozyten dar.

Tabelle 3.2.15 gibt eine Übersicht über die Häufigkeit der bcl-2-Expression in Abhängigkeit von der Strukturierung der FSA.

Tabelle 3.2.15: Verteilungsmuster der bcl-2-Expression in FSA in Hinblick auf ihre Strukturierung

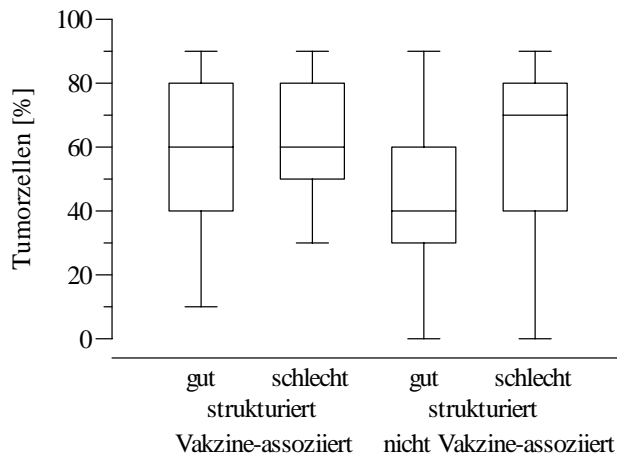
bcl-positive TZ (%)	gut strukturierte FSA		schlecht strukturierte FSA	
	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
0≤5	1/11 (9%)	4/21 (19%)	1/20 (5%)	2/9 (22%)
>5≤10	2/11 (18%)	5/21 (24%)	3/20 (15%)	2/9 (22%)
>10≤20	2/11 (18%)	-	4/20 (20%)	2/9 (22%)
>20≤30	1/11 (9%)	-	1/20 (5%)	-
>30≤40	-	2/21 (10%)	4/20 (20%)	-
>40≤50	-	1/21 (5%)	1/20 (5%)	-
>50≤60	1/11 (9%)	2/21 (10%)	3/20 (15%)	1/9 (11%)
>60≤70	2/11 (18%)	1/21 (5%)	1/20 (5%)	-
>70≤80	1/11 (9%)	5/21 (24%)	1/20 (5%)	-
>80≤90	1/11 (9%)	1/21 (5%)	1/20 (5%)	2/9 (22%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; TZ: Tumorzellen; n: Zahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen gut strukturierten (Median: >30≤40) und schlecht strukturierten (Median: >20≤30) FSA festgestellt werden (p=0,6013)

Die Menge der bcl-2-positiven Zellen zeigte auch keine Abhängigkeit von der Lokalisation der Tumoren (V-FSA und nV-FSA). So fanden sich auch hier keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen V-FSA und nV-FSA (p=0,8836). Somit bestand auch keine signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der FSA (p=0,9184). Eine Übersicht gibt die Grafik 3.2.13.

Grafik 3.2.13: Box-and-Whisker Plot zur Darstellung bcl-2-positiver Tumorzellen in FSA



3.2.3.4 FeLV-positive FSA

In 2,5% (n=9) der 364 untersuchten feline FSA konnte mittels Immunhistologie FeLV-Antigen nachgewiesen werden (Abb. 10). Die Tumoren wurden anhand Ihrer Lokalisation in die Gruppen "Vakzine-assoziiert" und "nicht Vakzine-assoziiert" eingeteilt. In den Fällen 2, 5 und 6 handelt es sich um multiple FSA und diese waren daher nicht ohne weiteres zuzuordnen. Es wurde in diesen Fällen die Lokalisation des jeweils größten Tumors als Basis für die Einteilung in eine der beiden Gruppen herangezogen. Somit wurden dann insgesamt 3 Fälle der Gruppe der V-FSA (1 gut strukturiertes und 2 schlecht strukturierte FSA) und 6 der Gruppe der nV-FSA (2 gut strukturierte und 4 schlecht strukturierte FSA) zugeordnet.

3.2.3.4.1 Fallbeschreibungen und makroskopische Befunde

Tabelle 3.2.16: Fallbeschreibungen und makroskopische Befunde der FeLV-positiven FSA

Fall	Alter	G	Lokalisation	Makro	Strukt.	Gruppe
1 (T9070/98)	3 J.	m k	linkes Vorderbein	3 Hautstanzen aus Tumor	s	nV-FSA
2 (T8373/98)	9 J.	w k	multipel: Rücken, Bauch	2 bohngroße Knoten	g	nV-FSA
3 (T6268/98)	12 J.	m	zwischen den Schulterblättern	1 haselnussgroßer, weicher Knoten	g	V-FSA
4 (T3566/98)	16 J.	m	Schenkel, innen	Kirschgroßer Knoten in der Unterhaut: SF: weiß	g	nV-FSA
5 (T91/99)	12 J.	m k	multipel: Rumpf, Ohrgrund	1 kirsch kern- und 1 bohngroße GP, herdförmig ulzeriert; SF: weich, speckig	g	nV-FSA
6 (7251/99) (Rez. T7697/99)	6 J.	w	multipel: Oberlid, Pfote	1 linsen- und 1 erbsengroße GP, grau- weiß, ulzeriert, scharf begrenzt	s	nV-FSA
7 (T9484/99)	5 J.	w k	rechte Schulter	Kirschgroßer Knoten; SF: strahlig, weiß	s	V-FSA
8 (T996/00)	11 J.	m k	seitliche Bauchwand	Pflaumengroßer Knoten in der Unterhaut	g	V-FSA
9 (T1861/00)	3 J.	m	Zahnfleisch	Weizenkorngroßes grau- weißes, weicher Knoten	s	nV-FSA

Erläuterung der Abkürzungen: m: männlich; w: weiblich; mk: männlich kastriert; wk: weiblich kastriert; SF: Schnittfläche; GP: Gewebeprobe; HGP: Hautgewebeprobe; V-FSA: Vakzine-assoziiertes FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziiertes FSA; g: gut strukturiert; s: schlecht strukturiert; Strukt.: Strukturierung

Das Alter der Tiere lag zwischen 3 und 16 Jahren (Mittelwert 8,5 Jahre; Median 9 Jahre) (siehe Tabelle 3.2.16). Alle Tier gehörten der Rasse Europäisch Kurzhaar an. Männlich Katzen waren etwas häufiger betroffen (6/9) als weibliche (3/9). Im Fall 6 trat nach 3 Monaten ein Rezidiv auf, das sich histologisch genauso verhielt wie das vorausgegangene FSA. Keines der Tiere stand zur Sektion zur Verfügung. Informationen zu Alter und Geschlecht der Tiere sowie die makroskopischen Befunde der Tumoren sind in Tabelle 3.2.16 aufgelistet.

3.2.3.4.2 Histopathologische Befunde

Die Tumoren waren vorwiegend im subkutanen Fettgewebe lokalisiert. In den Fällen 1, 2, 5-7 und 9 waren die Epidermis beziehungsweise die kutane Schleimhaut (Fall 9) mit im Schnitt enthalten. Die Tumorzellen reichten nur in den Fällen 6 und 7 nicht an die Epidermis heran. Eine deutlich Abgrenzung vom gesunden Gewebe konnte nur in den Fällen 4 und 6 erkannt werden. Außer im 1. Fall, bei dem lediglich eine Biopsie vorlag und dieses Kriterium somit nicht beurteilt werden konnte, wuchsen die FSA invasiv in das umgebende Gewebe. In zwei Fällen (6 und 7) infiltrierten die Zellen stark die umgebende Muskulatur.

Die Mitosezahl schwankte zwischen 0 und 1,2. Meist lag sie bei 0,2 Mitosen pro HPF. Die Zahl der Apoptosen schwankte zwischen 0 und 1,6. In 2 Fällen (5 und 6) war der Tumor ulzeriert. Bis auf Fall 6 und 8 waren die Neoplasien mit Lymphozyteninfiltraten durchsetzt. Diese konnten disseminiert oder in Form von Clustern in der Tumorperipherie vorkommen (näheres siehe 3.2.2.2.2).

Nekrosen in wechselnder Größe fanden sich in den Tumoren 1, 2 und 7. In den Fällen 1, 2, 5 und 6 fanden sich Blutungsherde zwischen den Tumorzellen. Eine Übersicht ist in Tabelle 3.2.2.1 dargestellt.

Tabelle 3.2.17: Nekrosen, Blutungen und Verknöcherungen in FeLV-positiven FSA

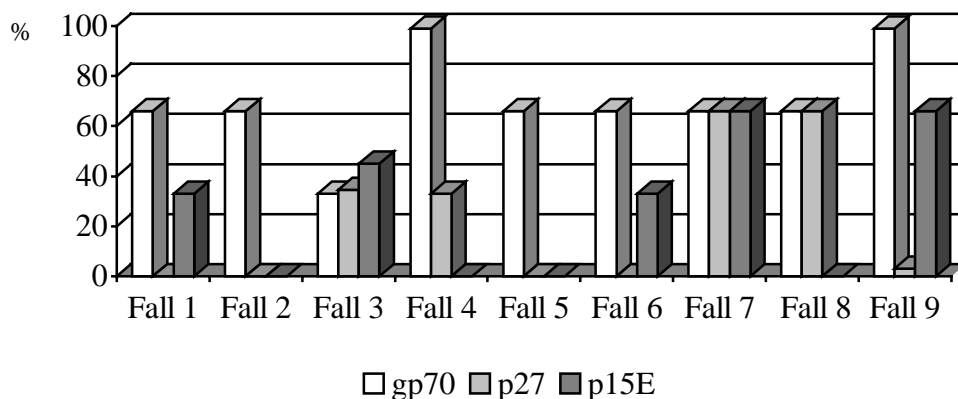
Fall	Strukturierung	Nekrosen	Blutungen	Verkn.	Ulzeration	lymph. Inf.	RZ
1	s. strukturiert	nein	nein	nein	nein	+++	nein
2	s. strukturiert	nein	ja	ja	nein	+	ja
3	gut strukturiert	nein	ja	nein	nein	+	ja
4	s. strukturiert	ja	ja	nein	nein	+	ja
5	gut strukturiert	nein	ja	nein	ja	+	nein
6	s. strukturiert	nein	ja	nein	ja	-	nein
7	s. strukturiert	ja	nein	nein	nein	+	nein
8	gut strukturiert	nein	nein	nein	nein	-	nein
9	s. strukturiert	nein	nein	nein	nein	+++	nein

Erläuterung der Abkürzungen: s. strukturiert: schlecht strukturiert; RZ: Riesenzellen; Verkn.: Verknöcherungen; lymph. Inf.: lymphozytäre Infiltration; -: nicht lymphozytär infiltriert; +: geringgradig lymphozytär infiltriert; +++: hochgradig lymphozytär infiltriert

3.2.3.4.3 FeLV-Strukturproteine gp70, p27 und p15E

Eine Expression der FeLV-Strukturproteine war sowohl in den Tumorzellen als auch in den infiltrierenden Lymphozyten nachzuweisen (Abb. 14-17). In den Tumorzellen und Lymphozyten stellte sich die Reaktion als braune zytoplasmatische Färbung dar. Abhängig vom Zytoplasmagehalt der Zelle stellt sie sich somit als schmaler brauner Ring um den Kern (zum Beispiel in Lymphozyten) oder als entsprechend größere, dafür aber schwächer braune Fläche dar (zum Beispiel bei neoplastischen Zellen mit viel Zytoplasma und langen Zellausläufern). In keiner mehrkernigen Riesenzelle konnte eine Expression von einem FeLV-Strukturprotein nachgewiesen werden.

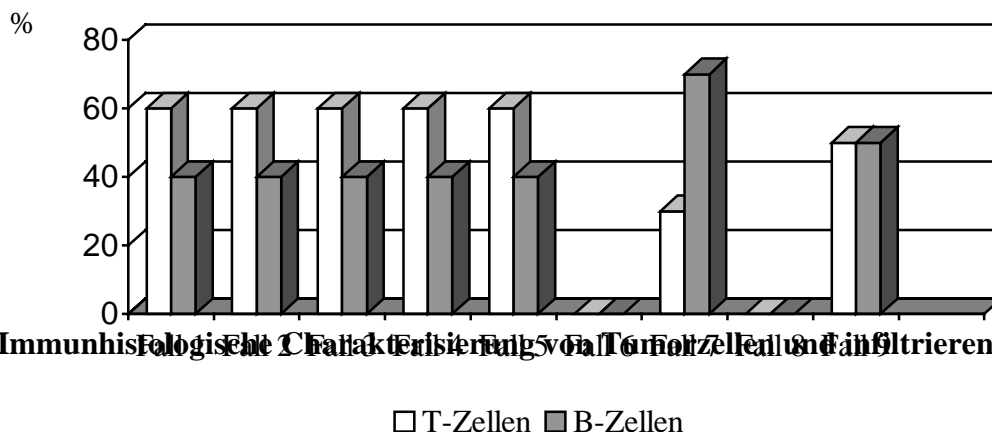
Grafik 3.2.14: Häufigkeit des Auftretens der FeLV-Strukturproteine gp70, p15E und p27 in den FeLV-positiven FSA (Tumorzellen und Lymphozyten)



Die Verteilung der T- und B-Lymphozyten kann Grafik 3.2.15 entnommen werden

Die Fälle 6 und 8 (s. Grafik 3.2.14) enthielten keine Tumor-infiltrierenden Lymphozyten.

Grafik 3.2.15: Prozentuale Verteilung der T- und B-Lymphozyten in den FeLV-positiven FSA



3.2.3.5 Immunhistochemische Charakterisierung von Tumorzellen und infiltrierenden

Leukozyten (T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten) in den FSA

3.2.3.5.1 Nachweis der MHC II-Expression

Es wurden 102 FSA (76 V-FSA; 26 nV-FSA) auf eine MHC II-Expression hin untersucht. Von den 76 V-FSA waren 26 gut strukturiert und 50 schlecht strukturiert, von den 26 nV-FSA waren 20 gut strukturiert und 6 schlecht strukturiert. In sämtlichen Tumoren war eine wechselnde Anzahl MHC II-positiver neoplastischer Zellen (0-80%) zu beobachten (Abb. 18). Mehrkernige Riesenzellen waren generell MHC II-negativ (Abb. 19). Die Tumorinfiltrierenden Lymphozyten zeigten dagegen ein positive MHC II-Reaktion. Fibroblasten in unveränderter Haut waren in eigenen Untersuchungen MHC II-negativ.

Eine Übersicht über die MHC II-Expression der Tumorzellen (Anteil der positiven Zellen) ist in Tabelle 3.2.18 gegeben.

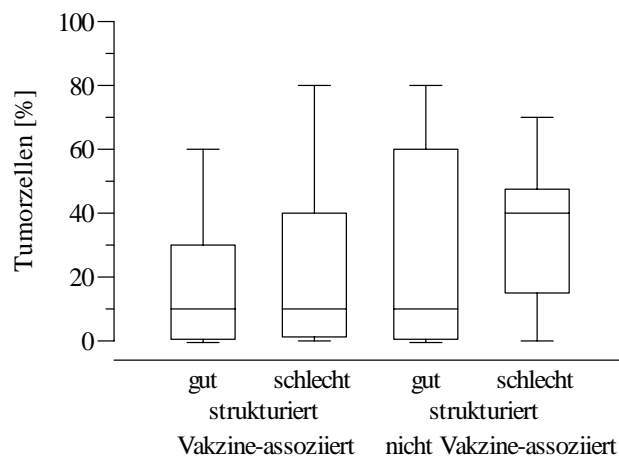
Tabelle 3.2.18: MHC II-Expression von Tumorzellen in FSA

MHC II-positive TZ (%)	gut strukturierte FSA		schlecht strukturierte FSA	
	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)	V-FSA; n/N (%)	nV-FSA; n/N (%)
0 \geq 5	12/26 (46%)	9/20 (45%)	22/50 (44%)	1/6 (17%)
5 \geq 10	2/26 (8%)	2/20 (10%)	4/50 (8%)	0/6
10 \geq 20	2/26 (8%)	1/20 (5%)	4/50 (8%)	1/6 (17%)
20 \geq 30	4/26 (15%)	2/20 (10%)	5/50 (10%)	0/6
30 \geq 40	1/26 (4%)	1/20 (5%)	7/50 (14%)	3/6 (50%)
40 \geq 50	4/26 (15%)	0/20	5/50 (10%)	0/6
50 \geq 60	1/26 (4%)	2/20 (10%)	2/50 (4%)	0/6
60 \geq 70	0/26	0/20	0/50	1/6 (17%)
70 \geq 80	0/26	3/20 (15%)	1/50 (2%)	0/6

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren

Es konnte bezüglich der MHC II-Expression der neoplastischen Zellen weder zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA ($p=0,3214$) noch zwischen V-FSA und nV-FSA ($p=0,0765$) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Somit fand sich auch keine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der Tumore ($p=0,6111$). Eine Übersicht gibt die Grafik 3.2.16.

Grafik 3.2.16: Box-and-Whisker Plot zur Darstellung MHC II-positiver Tumorzellen in den FSA



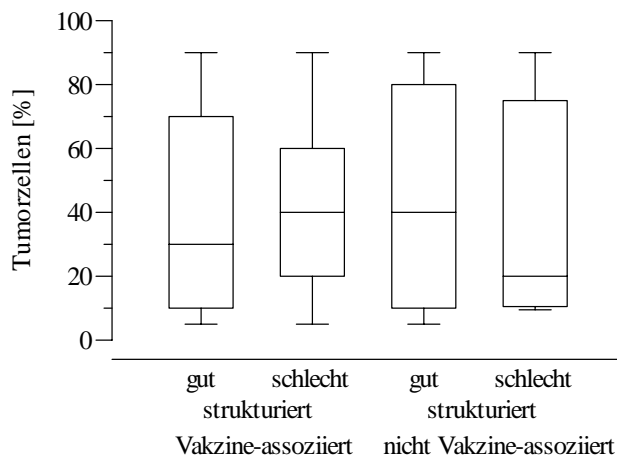
3.2.3.5.2 Nachweis von CD18-Expression

Es wurden 86 FSA (64 V-FSA; 22 nV-FSA) untersucht. Von den 64 V-FSA (74%) waren 23 gut strukturiert (36%) und 41 schlecht strukturiert (64%), von den 22 nicht V-FSA (26%) waren 17 gut strukturiert (77%) und 5 schlecht strukturiert (23%). Sowohl mononukleäre neoplastische Fibroblasten als auch alle mehrkernige Riesenzellen zeigten eine positive CD18-Reaktion (Abb. 20). Im Zytoplasma von Lymphozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten konnte ebenfalls eine CD18-Expression nachgewiesen werden. Die Stärke der Reaktion schwankte auch innerhalb einer Zellart von schwach bis kräftig. Die CD18-Expression in den Tumorzellen hingegen war stets gleich intensiv. Fibroblasten in unveränderter Katzenhaut waren in eigenen Untersuchungen CD18-negativ. Generell schwankte die Zahl der CD18-positiven Tumorzellen zwischen 0 und 90%.

Es konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA im Hinblick auf die CD18-Expression festgestellt werden ($p=0,4551$).

Es fand sich auch im Hinblick auf die Lokalisation der FSA (V-FSA und nV-FSA) kein Unterschied ($p=0,1442$). Somit fand sich auch keine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der FSA ($p=0,3594$). Eine Übersicht gibt die Grafik 3.2.17.

Grafik 3.2.17: Box - and - Wisker Plot zur Darstellung CD18-positiver Tumorzellen in FSA



3.2.3.5.3 Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens zur Darstellung von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten

Insgesamt wurden - unabhängig vom lichtmikroskopisch bewerteten Grad der Entzündung - 151 FSA (113 V-FSA und 38 nV-FSA) auf eine myeloid/histiocyte-Antigenexpression hin untersucht. Die myeloid/histiocyte Antigenexpression stellte sich als dunkelbraune Färbung dar (Abb. 21). Die lichtmikroskopischen Befunde der herdförmigen Ansammlung neutrophiler Granulozyten im Bereich von Ulzerationen und im Randbereich großer Nekroseareale wurden mittels der myeloid/histiocyte Antigenexpression auch immunhistologisch bestätigt.

Von den 113 V-FSA waren 55 gut strukturiert (49%) und 58 schlecht strukturiert (51%), von den 38 nV-FSA waren 29 gut strukturiert (76%) und 9 schlecht strukturiert (24%). In den Lymphozyten-Clustern fanden sich durchweg vereinzelt myeloid/histiocyte Antigen-positive Makrophagen. Die Tumorzellen waren durchweg myeloid/histiocyte Antigen-negativ. In keiner mehrkernigen Riesenzellen konnte eine myeloid/histiocyte Antigenexpression nachgewiesen werden. Eine Übersicht über den Anteil der myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen gibt die Tabelle 3.2.19. Eine statistische Signifikanz bezüglich der Menge an infiltrierenden neutrophilen Granulozyten und Makrophagen zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA konnte nicht beobachtet werden ($p=0,2206$).

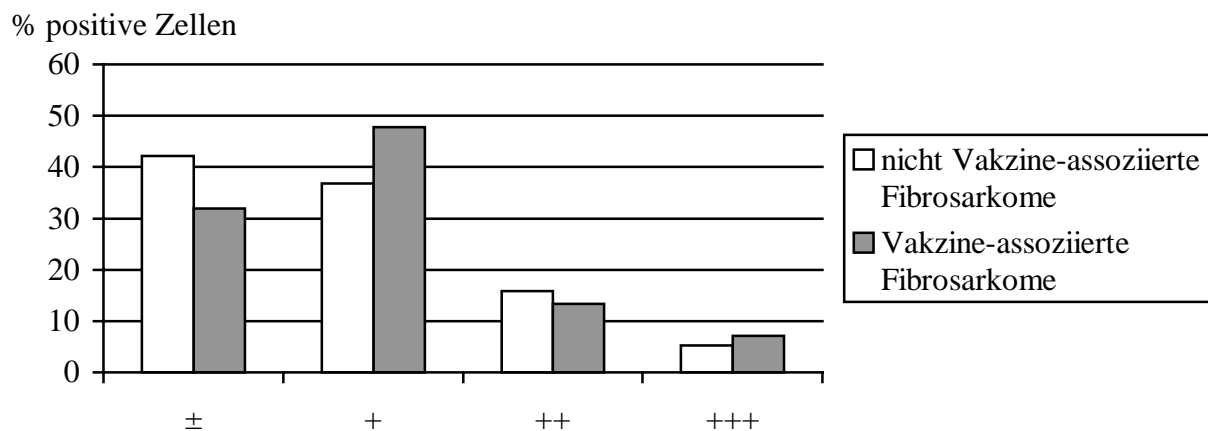
Tabelle 3.2.19: Anteil der infiltrierenden myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen in FSA

Grad	gut strukt. FSA.: n/N (%)		schlecht strukt. FSA.:n/N (%)	
	V-FSA.	nV-FSA	V-FSA	nV-FSA
±	21/84 (25%)	15/84 (18%)	18/67 (27%)	2/67 (3%)
+	19/84 (23%)	11/84 (13%)	32/67 (48%)	3/67 (4%)
++	11/84 (13%)	3/84 (3%)	4/67 (6%)	2/67 (3%)
+++	4/84 (5%)	0/84	4/67 (6%)	2/67 (3%)

Erläuterung der Abkürzungen: gut strukt. FSA: strukturierte FSA; schlecht strukt. FSA: unstrukturierte FSA; V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; ±: minimale myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>0 \leq 10\%$ der Entzündungszellen); +: geringgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>10 \leq 25\%$ der Entzündungszellen); ++: mittelgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>25 \leq 50\%$ der Entzündungszellen); +++: hochgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>50 \leq 75\%$ der Entzündungszellen)

Die prozentualen Anteile an myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ist übersichtsweiße in Grafik 3.2.18 dargestellt.

Grafik 3.2.18: Myeloid/histiocyte Antigenexpression in Infiltratzellen in V-FSA und nV-FSA



Erläuterung der Abkürzungen: ±: minimale Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>0 \leq 10\%$ der Entzündungszellen); +: geringgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>10 \leq 25\%$ der Entzündungszellen); ++: mittelgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>25 \leq 50\%$ der Entzündungszellen); +++: hochgradige Infiltration mit myeloid/histiocyte Antigen-positiven Zellen ($>50 \leq 75\%$ der Entzündungszellen)

Es konnten für die myeloid/histiocyte Antigenexpression, das heißt für den Anteil an Makrophagen und neutrophilen Granulozyten an den infiltrierenden Entzündungszellen, keine signifikanten Unterschiede zwischen den V-FSA und nV-FSA festgestellt werden ($p=0,7816$).

3.2.3.5.4 Nachweis des CD3-Antigens von T-Zellen und des CD45R-Antigens von B-Zellen

Unabhängig von der Intensität der entzündlichen Infiltrate wurden 289 FSA (209 V-FSA und 80 nV-FSA) auf den Gehalt an infiltrierenden T-Zellen (Nachweis von CD3-Antigen) und B-Zellen (Nachweis von CD45R-Antigen) hin untersucht. Weder Tumorzellen noch mehrkernige Riesenzellen exprimierten das CD3- oder das CD45R-Antigen. In 91 Fällen (38 V-FSA (48%) und 53 nV-FSA (25%)) wurden keine Lymphozyteninfiltrate nachgewiesen. Von den 209 V-FSA waren 97 gut strukturiert (21 (22%) davon wiesen keine Lymphozyteninfiltrate auf) und 112 schlecht strukturiert (17 (15%) davon wiesen keine Lymphozyteninfiltrate auf). Von den 80 nV-FSA waren 57 gut strukturiert (36 (63%) davon wiesen keine Lymphozyteninfiltrate auf) und 33 schlecht strukturiert (17 (53%) davon wiesen keine Lymphozyteninfiltrate auf). Die Lymphozytencluster in der Tumorperipherie waren bereits im HE-Schnitt deutlich zu erkennen (Abb. 22). Die Darstellung der T- und B-Zellen erfolgte an Folgeschnitten (Abb. 23, Abb. 24). Eine Übersicht über den Grad der lymphozytären Infiltration in den untersuchten Fällen gibt die Tabelle 3.2.20.

Tabelle 3.2.20: Grad der lymphozytären Infiltrate in den FSA

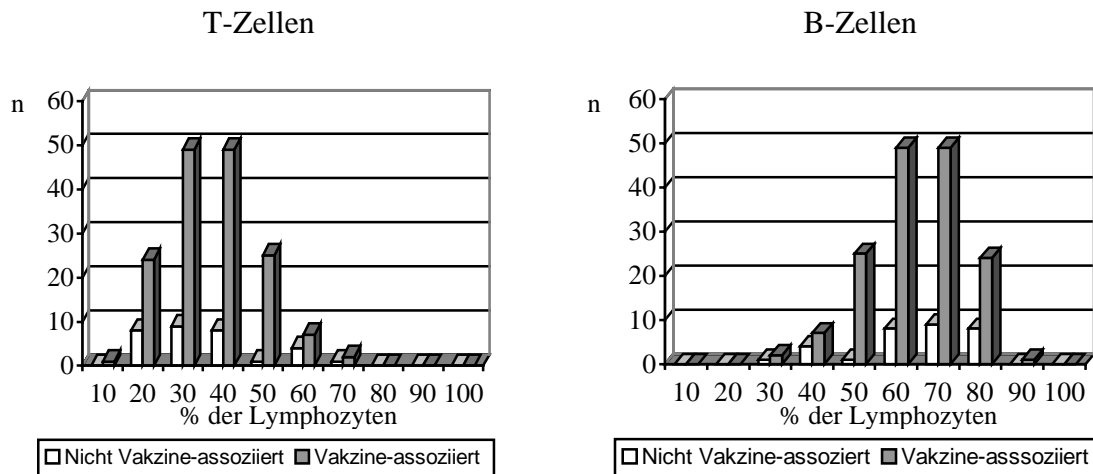
Grad	V- FSA n/N (%)		nV-FSA n/N (%)	
	gut strukt. FSA	s. strukt. FSA	gut strukt. FSA	s. strukt. FSA
±	21/97 (22%)	17/112 (15%)	36/57 (63%)	17/33 (52%)
+	33/97 (34%)	47/112 (42%)	15/57 (28%)	8/33 (24%)
++	33/97 (34%)	31/112 (28%)	5/57 (9%)	6/33 (18%)
+++	10/97 (10%)	17/112 (15%)	0/57	2/33 (6%)

Erläuterung der Abkürzungen: V-FSA: Vakzine-assoziierte FSA; nV-FSA: nicht Vakzine-assoziierte FSA; gut strukt. FSA: gut strukturierte FSA; s. strukt. FSA: schlecht strukturierte FSA; n: Anzahl Tumoren mit dem entsprechenden Kriterium; N: Gesamtzahl der Tumoren; ±: lediglich vereinzelte Lymphozyten; +: geringgradige Infiltration mit Lymphozyten; ++: mittelgradige Infiltration mit Lymphozyten; +++: hochgradige Infiltration mit Lymphozyten

Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen gut strukturierten und schlecht strukturierten FSA im Bezug auf den Gehalt an T- und B- Zellen in den Tumoren nachweisen (CD3: $p=0,4111$; CD45R: $p=0,3541$).

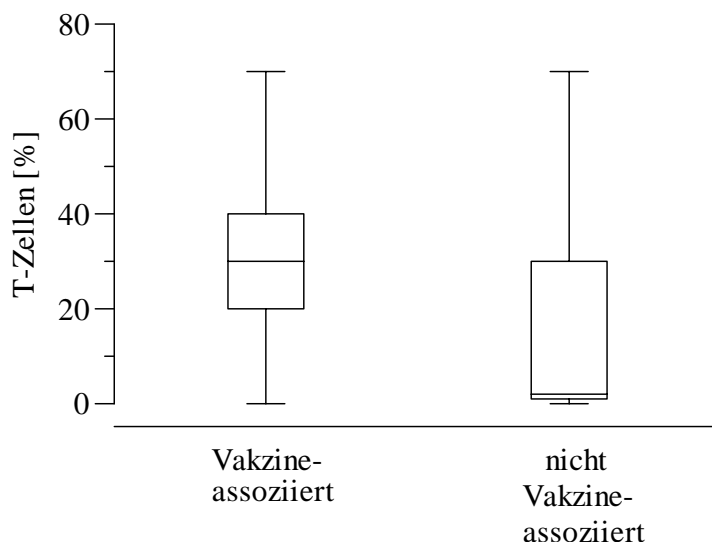
Der prozentuale Anteil an T- und B-Lymphozyten der 202 FSA ist in den Grafiken 3.2.19 a und b dargestellt. Sie zeigen die überwiegende Dominanz an B-Zellen; meist lag das Verhältnis von T-Zellen zu B-Zellen bei 40:60%.

Grafik 3.2.19a und b: Gehalt an T- und B-Zellen in den FSA (n=202)

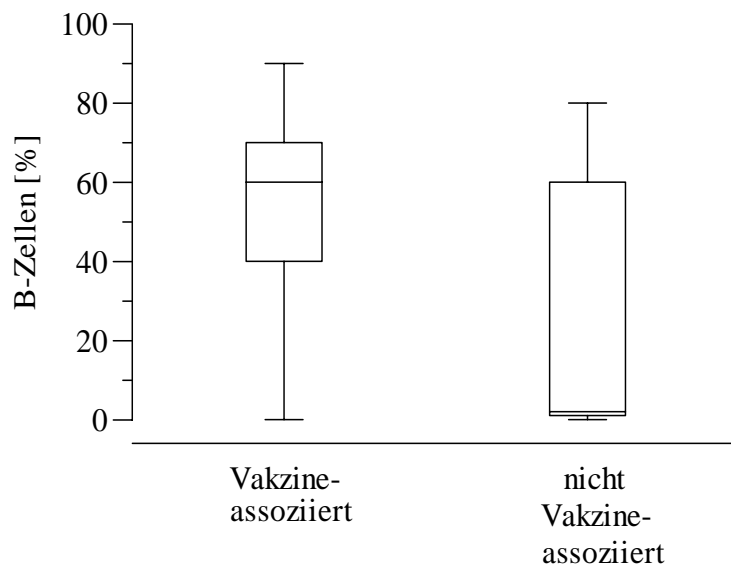


Es ließen sich signifikante Unterschiede zwischen V-FSA und nV-FSA in Bezug auf den Gehalt an T- und B-Zellen in den Tumoren nachweisen: Sowohl der B-Zell ($p = 0,0001$) als auch der T-Zell-Gehalt ($p = 0,0001$) war in den V-FSA signifikant höher als in den nV-FSA wie die Grafiken 3.2.20 und 3.2.21 darstellen.

Grafik 3.2.20: Box – and – Whisker Plot zur Darstellung der T-Zellen in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation



Grafik 3.2.21: Box – and – Whisker Plot zur Darstellung der B-Zellen in den FSA in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation



Eine statistisch signifikante Wechselwirkung zwischen der Lokalisation und der Strukturierung der Tumoren fand sich weder für T- noch für B-Zellen (CD3: $p=0,1919$; CD45R: $p=0,8807$).

3.2.3.6 Enzymhistochemischer Nachweis der Taträt-resistenten sauren Phosphatase (TRAP)

Bei sämtlichen FSA mit mehrkernigen Riesenzellen ($n=88$) erfolgte der enzymhistochemische Nachweis der Taträt-resistenten sauren Phosphatase (TRAP). Die mehrkernigen Riesenzellen zeigten durchweg eine variabel starke positive zytoplasmatische Reaktion (Abb. 7). Vereinzelt wiesen auch mononukleäre Tumorzellen eine positive Reaktion auf. In den Entzündungszellen (Lymphozyten, Makrophagen, neutrophile Granulozyten) konnte keine TRAP-positive Reaktion beobachtet werden.

3.2.3.7 Statistische Signifikanzen

Sowohl für die qualitativen (zweiverteilte/dichotome Zielgrößen), als auch die semiquantitativen und quantitativen Variablen wurden die statistischen Signifikanzen mittels einer multiplen (polychotomen) logistischen Regression berechnet. Hierbei wurde separat die Lokalisation und die Strukturierung der Fibrosarkome angesprochen. Mit Hilfe des Chiquadrat-Tests wurde eine statistische Signifikanz für die Wechselwirkung zwischen

Lokalisation und Strukturierung der Fibrosarkome berechnet ($p = 0,00005$). Deswegen wurde zusätzlich für die quantitativen Merkmale noch ein zweifaktorieller Gruppenvergleich gerechnet, um mögliche Wechselwirkungen der einzelnen Variablen im Hinblick auf die Gruppen Lokalisation und Strukturierung zu ermitteln.

Statistische Signifikanzen fanden sich bei den qualitativen Variablen für das Vorhandensein von mehrkernigen Riesenzellen und Nekrosearealen in V-FSA und in schlecht strukturierten FSA. Blutungsherde waren statistisch signifikant für nV-FSA und schlecht strukturierte FSA. Für die Variable "Verknöcherung" konnte keine Signifikanz ermittelt werden. Eine Übersicht gibt die Tabelle 3.2.21

Tabelle 3.2.21: p-Werte der qualitativen Variablen in FSA

Qualitative Variablen		
Variable	Lokalisation	Strukturierung
Riesenzellen	0,0493	< 0,0001
Nekroseareale	0,0059	0,0396
Blutungsherde	0,019	0,0014
Verknöcherungen	0,2543	0,8296

Bei den semiquantitativen Variablen konnten statistische Signifikanzen für das Vorhandensein kollagener Fasern in nV-FSA sowie für das Vorkommen von Lymphozytenclustern und den Entzündungsgrad in V-FSA ermittelt werden. Für die Variable "MAC387" fand sich keine statistische Signifikanz. Eine Übersicht über die Signifikanzen der semiquantitativen Merkmale der FSA gibt die Tabelle 3.2.22

Tabelle 3.2.22: p-Werte der semiquantitativen Variablen in FSA

Semiquantitative Variablen		
Variable	Lokalisation	Strukturierung
MAC387	0,7816	0,2206
Elastica-van Gieson	0,0375	0,2065
Entzündungsgrad	<0,0001	0,1888
Lymphozyteninfiltration	<0,0001	0,5770

Bei den quantitativen Variablen konnten keine Wechselwirkungen zwischen den Gruppen Lokalisation und Strukturierung ermittelt werden.

Mitosen und die PCNA-Expression waren statistisch signifikant erhöht in V-FSA und in schlecht strukturierten FSA, Apoptosen und die CD18-Expression hingegen nur in schlecht strukturierten FSA. CD3 und CD45R waren beide signifikant erhöht in V-FSA. Für die bcl-2-Expression, die MHC II-Expression und die Darstellung apoptotischer Zellen mittels der TUNEL-Methode konnten keine Signifikanzen ermittelt werden. Eine Übersicht über die

Signifikanzen und Wechselwirkungen der qualitativen Variablen in den FSA gibt die Tabelle 3.2.23.

Tabelle 3.2.23: p-Werte der qualitativen Variablen in FSA

Qualitative Variablen			
Variable	Lokalisation	Strukturierung	Wechselwirkung
Mitosen	0,0002	0,0001	0,7769
Apoptosen	0,2145	0,0034	0,7415
CD3	<0,0001	0,4111	0,1919
CD45R	<0,0001	0,3541	0,8807
PCNA	0,0489	0,0088	0,9957
Apoptag	0,8759	0,3683	0,9957
Bcl-2	0,8836	0,6013	0,9184
MHC II	0,0765	0,3214	0,6111
CD18	0,1442	0,4551	0,3594

4. Diskussion

Goldschmidt und Hendrick (1991) lenkten als erste die Aufmerksamkeit auf das Problem der sogenannten "Vakzine-assoziierten" Fibrosarkome. Da feline Fibrosarkome nicht nur nach der Applikation von Impfstoff auftreten, sondern auch nach Antibiotikagabe beobachtet wurden (Gagon, 2000), kann der Begriff der Vakzine-assoziierten Fibrosarkome, nicht mehr uneingeschränkt benutzt werden. Aus diesem Grund entstand der Begriff der Vakzinationstellen-assoziierten Fibrosarkome. Letztendlich kann jede Substanz, die injiziert wird eine "postvakzinale" Entzündung verursachen und eine Reaktion hervorrufen. Impfungen sind eventuell lediglich die Injektionsart, die dem Großteil der Katzenpopulation mit so hoher Frequenz verabreicht wird, dass man einen Zusammenhang zwischen Injektion und Tumorentstehung nachweisen konnte. Der Begriff "Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome" bezeichnet allerdings die Pathogenese dieser Entität treffender. Hieran anlehnend wurden in den eigenen Untersuchungen die 364 routinemäßig eingesandten feline Fibrosarkome lediglich anhand Ihrer Lokalisation den Gruppen Injektionsstellen-assoziiert und nicht Injektionsstellen-assoziiert zugeordnet. Die Einteilung erfolgte ausschließlich anhand der vorherichtlich erwähnten Lokalisation. Es ist also unklar, ob wirklich eine Injektion der Tumorentstehung vorausgegangen ist oder nicht.

Es kristallisierten sich im Laufe der Untersuchungen zwei Zelltypen und somit zwei Tumorformen heraus, die als gut strukturierte beziehungsweise schlecht strukturierte Fibrosarkome angesprochen wurden.

Im folgenden werden deswegen bei jedem statistisch relevanten Kriterium sowohl die Einteilung anhand der Lokalisation als auch die anhand der Strukturierung diskutiert. Alle 364 Fibrosarkome wurden immunhistologisch auf FeLV-Antigene hin getestet. Da lediglich 9 Fälle FeLV-positiv waren (2,5%) wurde von einer Einteilung anhand des FeLV-Status abgesehen.

4.1 Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome

In den eigenen Untersuchungen wurde die Zuteilung zu der Gruppe der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ausschließlich anhand der Lokalisation getroffen. Aussagen über eine vorausgegangene Injektion lagen in keinem Fall vor.

Knapp 3/4 der eingesendeten feline Fibrosarkome (73,3%) traten an Stellen auf, die von Tierärzten routinemäßig für die Impfung genutzt werden. Hendrick und Goldschmidt (1992)

haben eine Häufigkeit von 76% beobachtet. Zu den **Injektionsstellen-assoziierten Lokalisationen** zählen die seitliche Brustwand, die Region zwischen den Schulterblättern, die Lendengegend, der Nacken und die Oberschenkelregion (Hendrick et al., 1994), wobei die seitlichen Brustwand die am häufigst betroffene Stelle ist und die wenigsten Fibrosarkome aus der Oberschenkelregion stammen. Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome treten bei Katzen im **Altersdurchschnitt** von 8,1 bis 8,6 Jahren (Hendrick et al., 1994; Doddy et al., 1996) auf. Damit liegen diese Angaben etwas unterhalb des Altersdurchschnittes aus dem eigenen Untersuchungsgut der Routinediagnostik (10 Jahre). Eine Geschlechts- oder Rassedisposition konnte nicht ausgemacht werden, was mit den Literaturangaben übereinstimmt (Hendrick et al., 1994; Doddy et al., 1996). Mit steigendem Alter steigt die Wahrscheinlichkeit, eher ein Injektionsstellen-assoziiertes als ein nicht Injektionsstellen-assoziiertes Fibrosarkom zu bekommen (Doddy et al., 1996). Das entspricht nicht den eigenen Untersuchungen, denn hier lag der Altersdurchschnitt der Katzen aus beiden Gruppen bei 10 Jahren. Die von beiden Autoren festgestellte Unterscheidungsmöglichkeit anhand der Größe des Tumors konnte beim vorliegenden Material nicht bestätigt werden. Da die Größe des Tumors allerdings auch stark vom Zeitpunkt des operativen Eingriffes abhängt, ist die Größenangabe somit ein sehr variables und vom Besitzer beziehungsweise vom behandelnden Tierarzt abhängiges Kriterium.

Da keine follow-up Studie durchgeführt wurde, ist über die Rezidivierungsrate der eingesendeten Fibrosarkome nichts Detailliertes bekannt. Doddy et al. (1996) berichten von einer höheren **Rezidivrate** bei den Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen. Stiglmair-Herb und Ortmann (1987) Gross (1992) geben die Rezidivierungsrate mit über 70% an.

Rudman et al. (1994) berichteten von Lungen- sowie Mediastinalmetastasen einer Katze mit einem Fibrosarkom, ebenso Briscoe et al. (1998). Bei 4 von seinen 69 Fibrosarkomen wurde röntgenologisch eine Metastase festgestellt (3 in der Lunge und 1 in der Skelettmuskulatur). Allerdings wurden die **Metastasen** nicht histopathologisch bestätigt. Da keines der Tiere in den eigenen Untersuchungen für eine Sektion zur Verfügung stand, kann anhand des vorliegenden Materials hierüber keine Aussage getroffen werden.

Beim Menschen wurde wiederholt anhand von Fallberichten ein Zusammenhang zwischen einem Fremdkörper und einer Tumorentstehung diskutiert (Brand et al., 1976a und b; Ryan et al., 1981; Moore, 1991; Gorden und Weitzman, 1993), ebenso wie es zahlreiche Fallbeispiele für einen kausalen Zusammenhang zwischen einer primären Entzündung und einer daraus

resultierenden **Tumorentstehung** gibt (Ferguson, 1911; Gardner, 1959; Criuckshank, 1965; Boerhave, 1977; Korelitz, 1983; Cameron et al., 1985; Locke, 1985; Collins, 1987; Corra, 1985; Kantor, 1988; Lowenfels, 1993). In der Veterinärmedizin wird dieser Zusammenhang auch beim feline intraokulären Sarkom diskutiert (Pfeiffer et al., 1988; Dubielzig et al., 1990). Dubielzig et al. (1990) untersuchten 13 posttraumatische okuläre Sarkome, 8 davon waren Fibrosarkome. Berichte von posttraumatischen Sarkomen bei anderen Spezies als der Katze liegen nicht vor. Histologisch entsprechen postvakzinale Sarkome den mesenchymalen Tumoren, die bei der Katze posttraumatisch am Auge beschrieben werden, was eine gemeinsame Pathogenese dieser beiden Syndrome nahe legt (Woog et al., 1983; Dubielzig, 1984; Dubielzig et al., 1990). Macy und Hendrick (1996) diskutieren hieran anlehnend einen Zusammenhang zwischen einem primären Entzündungsprozess an der Impflokalisation und der Entwicklung eines Fibrosarkomes. Postvakzinale Tumoren entstehen als ein Resultat einer Fibroblasten- und Myofibroblastenproliferation im Anschluss an eine chronische Entzündung. Der Grund für die chronische Entzündung in Form einer Granulombildung an den Impflokalisationen bleibt allerdings letztendlich weiterhin unklar. Möglicherweise liegt er in einem Bestandteil des Impfstoffes, zum Beispiel im verwendeten Adjuvans oder im Antigen oder in beidem. Besonders Tollwutimpfstoffe enthalten ein Adjuvans auf Aluminiumbasis, ebenso zahlreiche FeLV-Impfstoffe. Zwar werden postvakzinale Sarkome auch nach einer Rhinotracheitis-, Calici- und Panleukopenieimpfung beschrieben, eine statistische Signifikanz ist allerdings nur für die FeLV- und die Tollwutimpfung bekannt (Kass et al., 1993; Hendrick et al., 1994). Gagon (2000) beschreibt einen Fall eines feline Fibrosarkoms, das nach einer Medikamenten-Injektion entstanden ist und in keinem Zusammenhang zu einer Impfung zu stehen scheint. Umfangreichere Studien, die als Kontrolle physiologische Kochsalzlösung injiziert haben, belegen einen Zusammenhang mit einer Impfstoffapplikation. An den Injektionsstellen der Kochsalzlösung waren dagegen keine palpierbaren Veränderungen zu bemerken (Schultze et al., 1997). Eggers et al. (2002) kamen nach umfangreichen Studien verschiedener Impfstofffabrikate an Katzen im Vergleich mit Frettchen und Nerzen zu dem Ergebnis, dass eine Prädisposition für das Entstehen postvakzinaler Sarkome bei Katzen vorliegen muss. Chronische granulomatös nekrotisierende Pannikulitiden sind auch bei Hunden beschrieben worden, allerdings keine daraus resultierende Tumorentstehung (Hendrick und Dunagan, 1991). Vascellari et al (2003) beschreiben allerdings auch bei Hunden Fibrosarkome an Injektionsstellen, die denen der Katze histologisch identisch sind.

4.1.1 Histologie

Histologisch besteht das feline Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkom aus Bündeln spindelzellartiger Tumorzellen mit teils hyperchromen Zellkernen, mehrkernigen Formen und Anaplasien (Hendrick et al., 1998b). Bei den eigenen Untersuchungen wurde zusätzlich zwischen **gut strukturierten und schlecht strukturierten** Fibrosarkomen unterschieden, abhängig davon, welcher Zelltyp vorherrschte. Die gut strukturierten und schlecht strukturierten Fibrosarkomen waren anteilmäßig in etwa gleich verteilt im Untersuchungsgut. In der Gruppe der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome kam allerdings der Zelltyp, der in den eigenen Untersuchungen als schlecht strukturiert bezeichnet wurde, etwas häufiger vor (55%). In vielen Fällen (n=145) bedingten also große blasige Zellen mit einem Zellkern von bis zu 25 µm im Durchmesser, viel Zytoplasma, und deutlichen Nukleoli, sowie oftmals mehrkernigen Riesenzellen ein polymorphes Zellbild. Es kamen allerdings auch häufig gut strukturierte Fibrosarkome an Stellen vor, die per definitionem zu den Injektionsstellen-assoziierten Lokalisationen zählen. Betrachtet man einmal die Körperoberfläche einer Katze, so machen die Flächen, die üblicherweise von Tierärzten für Injektionen genutzt werden, lediglich 40% der Hautoberfläche aus. 60% der Hautoberfläche gehören zu den sogenannten nicht Injektionsstellen-assoziierten Lokalisationen. Auf diesen 60% traten allerdings nur 27% der eingesendeten Fibrosarkome auf. Bedenkt man, dass 73% der eingesendeten Fibrosarkome an Injektionsstellen-assoziierten Stellen auftraten, sprechen alleine diese Zahlen für einen kausalen Zusammenhang. Geht man von einer gleichen Häufigkeit von nicht Injektions-assoziierten Fibrosarkomen in der gesamten Haut aus, ist somit bei ca. 1 von 4 Fibrosarkomen im Injektionsstellenbereich eine nicht Injektions-assoziierte Pathogenese zu erwarten.

Mitosen sind in Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen zahlreicher als in nicht Injektionsstellen-assoziierten (Doddy et al., 1996). Diese Aussage deckte sich mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen, bei denen Mitosen in Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome statistisch signifikant häufiger waren ($p=0,0002$). Betrachtet man die Strukturierung der Fibrosarkome, findet man ebenfalls eine statistische Signifikanz für das Vorkommen von Mitosen in schlecht strukturierten Fibrosarkomen ($p=0,0001$).

Bezüglich **Apoptosen** konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Injektionsstellen-assoziierten und nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ausgemacht werden ($p=0,2145$), was auch zusätzlich zur Lichtmikroskopie durch den

Nachweis in situ mittels der TUNEL-Methode zur Darstellung apoptotischer Zellen bestätigt wurde ($p=0,8759$). Bezogen auf die Strukturierung der Tumoren fand sich für die im HE-Schnitt ausgezählten Apoptosen ein signifikant häufigeres Auftreten in schlecht strukturierten Fibrosarkomen ($p=0,0034$), was allerdings mit der TUNEL-Methode statistisch nicht signifikant bestätigt werden konnte ($p=0,3686$). Die Anzahl der TUNEL-positiven apoptotischen Zellen lag generell etwas höher als die im HE-Schnitt ausgezählte. Mit der TUNEL-Methode werden allerdings nicht nur apoptotische Körperchen dargestellt (Wyllie et al., 1980). Lichtmikroskopisch wurden nur die apoptotischen Zellen ausgezählt, so dass eventuell hierdurch diese Diskrepanz zwischen Histologie und TUNEL-Methode erklärbar ist. **Verknöcherungen** in den Tumoren wurden in den eigenen Untersuchungen unabhängig von Lokalisation und Strukturierung beobachtet. Statistische Signifikanzen fanden sich für keine der Gruppen. Hinweise auf Verknöcherungen in den feline Fibrosarkomen in der Literatur finden sich nicht. Doddy et al. (1996) beschreiben lediglich sowohl für Injektionsstellen-assoziierte als auch für nicht Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome das gelegentliche Vorhandensein einer osteoiden beziehungsweise chondroiden Matrix, was mit den eigenen Untersuchungen übereinstimmt. Somit ist das Vorkommen von Verknöcherungen kein hilfreiches Kriterium für eine nähere Charakterisierung der Fibrosarkome.

Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome weisen mehr **Nekrosen** und **Blutungen** auf als nicht Injektionsstellen-assoziierte. Entzündungen sind häufiger beschrieben, wobei Lymphozyten die dominierenden Zellen darstellen (Doddy et al., 1996). Diese Angaben stimmen mit den eigenen Untersuchungen nur bedingt überein. 35% der untersuchten Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome wiesen Nekroseherde auf, was bei lediglich 17% der nicht Injektionsstellen-assoziierten der Fall war und somit statistisch signifikant ist ($p=0,0059$). Ebenso fand sich eine statistische Signifikanz für das Vorhandensein von Nekroseherden in schlecht strukturierten Fibrosarkomen ($p=0,0396$). Da die schlecht strukturierten Fibrosarkome auch die Mehrheit der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome ausmachen, bleibt unklar, ob die Nekroseherde kausal in der Injektion begründet liegen oder mit der Strukturierung zusammenhängen. In der Literatur werden allerdings Fälle von nekrotisierenden granulomatösen Pannikulitiden nach einer Tollwutimpfung sowohl bei der Katze als auch beim Hund beschrieben (Hendrick und Dunagan, 1991). Blutungen traten bei nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen mit einer signifikant höheren Häufigkeit auf ($p=0,019$). Ebenso konnte eine Signifikanz für

herdförmige Blutungen in den schlecht strukturierten Fibrosarkomen nachgewiesen werden. ($p=0,0014$). Die schlecht strukturierten Fibrosarkome machen lediglich 30% der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome aus. Hierbei muss auch bedacht werden, dass Blutungen aus dem operativen Entfernen des Tumors resultieren können und somit in keinem kausalem Zusammenhang zur Lokalisation und der Strukturierung stehen müssen.

Histologisch sieht man oft einen Übergang von der **Entzündungsreaktion** zur Tumorentstehung in Injektionsstellen-assoziierten Tumoren (Hendrick et al., 1992; Esplin und McGill, 1993). In den eigenen Untersuchungen wurde die Entzündungsreaktion der Fibrosarkome lichtmikroskopisch beurteilt. Generell waren die Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome statistisch hochsignifikant stärker entzündlich infiltriert als die nicht Injektionsstellen-assoziierten ($p<0,0001$), ein statistisch signifikanter Zusammenhang zur Strukturierung der Fibrosarkome fand sich nicht ($p=0,1888$), was sich mit den Beobachtungen von Couto et al. (2002) deckt.

Weiterhin wurde das Vorkommen von Lymphozytenclustern an der Tumorperipherie beurteilt. In der Tumorperipherie finden sich häufig **Lymphozytenansammlungen**, die bisweilen ein grau-braunes Material enthalten, das als Bestandteil des Impfstoffes identifiziert wurde (Hendrick et al., 1998a, 1998b). Ansammlungen von Lymphozyten mit einigen dazwischenliegenden Makrophagen in der Tumorperipherie (sogenannte Lymphozytencluster) wurden in 97,5% ($n=159$) der Fälle beobachtet, wobei hierfür lediglich die Fibrosarkome herangezogen wurden, bei denen eine natürliche Grenze beurteilt werden konnte ($n=163$). Hinweise auf Fremdmaterial (zum Beispiel unlösliches Adjuvans) konnten in keinem Fall gefunden werden.

Lymphozytencluster fanden sich statistisch hoch signifikant häufiger in Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ($p<0,0001$), was die Theorie von der primären Entzündungsreaktion als Basis der Tumorentstehung von Macy und Hendrick (1996) untermauert. Auch hier fand sich kein Bezug zur Strukturierung der Tumoren ($p=0,5770$). Immunhistologisch stellten sich die dominierenden Lymphozyten in den Clustern als B-Zellen dar. Hierauf wird weiter unten noch näher eingegangen.

Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome liegen meist in der Subkutis (Doddy et al., 1996), was mit den eigenen Beobachtungen übereinstimmt. Allerdings muss hierbei auch berücksichtigt werden, dass seit dem Beginn der Diskussionen über einen möglichen Zusammenhang zwischen einer Impfung und der daraus resultierenden Tumorentstehung

(etwa ab 1990) immer mehr von einer intramuskulären Injektion des Impfstoffes abgeraten wurde. Nach einer subkutanen Injektion ist es auch dem nicht sachkundigen Tierhalter leichter, eine eventuelle postvakzinale Umfangsvermehrung zu bemerken, als nach einer intramuskulären Impfung. Außerdem ermöglicht die subkutane Lokalisation dem Tierarzt auch eine leichter zugängliche operative Entfernung (Hirschberger und Kessler, 2001). Somit könnte der Grund der subkutanen Lokalisation der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome eher in der neuen Impfstrategie liegen als in einer "subkutanen Prädisposition".

4.2 Mehrkernige Riesenzellen

Ein auffallendes histologisches Phänomen in den Tumoren waren mehrkernige Riesenzellen, die in 27% der Injektionsstellen-assoziierten Fälle und lediglich in 12 % der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome beobachtet werden konnten, was somit statistisch signifikant ist ($p=0,0493$). Es fand sich allerdings eine noch deutlichere statistische Signifikanz für das Vorkommen von mehrkernigen Riesenzellen in den schlecht strukturierten Fibrosarkomen ($p<0,0001$). Couto et al. (2002) teilten in Anlehnung an die Humanmedizin auch die feline Fibrosarkome in verschiedene histologische Grade von I-III ein. Sie beschreiben eine statistische Signifikanz für das Verhältnis von mehrkernigen Riesenzellen zu dem Differenzierungsgrad der Fibrosarkome, das heißt, diese kommen ausschließlich in Tumoren der Grade II und III vor. Somit sind mehrkernige Riesenzellen immer ein Kriterium für den schlechten Differenzierungsgrad der Fibrosarkome. Doddy et al. (1996) berichten von mehrkernigen (zwei bis fünf Kerne) Tumorzellen, die allerdings bei beiden Tumorformen (Injektionsstellenassoziiert und nicht Injektionsstellen-assoziiert) gleich häufig beobachtet wurden. Als Riesenzelle gilt hier jede Zelle, die zwei oder mehr Zellkerne aufweist (Nielsen, 1952; Alexander et al., 1975; Oemus und Timmel, 1990).

Um Riesenzellen zu bezeichnen, die zur neoplastischen Zellpopulation gehören, wird in der Literatur häufig der Begriff Tumor-Riesenzelle ("tumor giant cell") gebraucht (z.B. Linzbach, 1955; Chambers, 1978; Daroca et al., 1990, Zukerberg, 1990). Gerdes et al. (1986) und Vollmer et al. (1989) verwenden den Begriff Tumorrisesenzelle für Riesenzellen, die sich mit dem Proliferationsmarker Ki-67 positiv darstellen und 2 oder mehr Zellkerne erhalten. Ki-67-Positivität ist nach Ansicht dieser Autoren das Kriterium für neoplastische Riesenzellen. Reaktive Riesenzellen dagegen (dazu gehören Osteoklasten und osteoklastenähnliche Riesenzellen, Fremdkörper-Riesenzellen, Langhans-Riesenzellen) entstehen ausschließlich

durch Fusion von Zellen des mononukleären Phagozytosesystems (Chambers, 1978; Kraus, 1980; Müller-Hermelink und Kaiserlink, 1980; Mechtersheimer et al., 1990). Dabei verschmelzen einkernige Zellen und die Zellgrenzen ursprünglich getrennter Zellen verschwinden (Chambers, 1978; Kraus, 1980). Die Zellkerne besitzen keine Teilungsaktivität mehr; es erfolgt keine DNS-Synthese in diesen Riesenzellen; sie sind somit immer Ki-67 negativ (Roessner et al., 1989; Vollmer et al., 1989; Mechtersheimer et al., 1990; Gaffey et al., 1991). Osteoklasten sind letztendlich ausdifferenzierte Makrophagen (Abbas, 2000; Takeshita et al., 2000). Demnach sprechen wir von ausdifferenzierten Makrophagen, wenn wir von osteoklastenartigen Riesenzellen (osteoclast-like giant cells = OCL-GC) sprechen.

Oemus und Timmel (1990) sowie Toyosawa et al. (1991) verwenden den Nachweis der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase ("tartrate-resistant acid phosphatase"=TRAP) zur Differenzierung von Riesenzellen. Diese Autoren bezeichnen TRAP-positive Zellen mit 2 oder mehr Kernen als reaktive OCL-GC und die einkernigen TRAP-positiven Zellen als Vorläuferzellen der OCL-GC. Demnach wären die mehrkernigen Riesenzellen der feline Fibrosarkome osteoklastenähnliche Riesenzellen, da in 100% unserer Fälle TRAP-Positivität festgestellt wurde. Über die Proliferationsfähigkeit der Riesenzellen ist bei diesen Autoren keine Angabe zu finden. Die Tartrat-resistente saure Phosphatase ("tartrate resistant acid phosphatase"=TRAP) kommt konstant in Osteoklasten und osteoklastenähnlichen Riesenzellen (OCL-GC) vor; diese Zellen enthalten TRAP primär schon in den einkernigen Vorstufen (Schäfer und Fischer, 1977). TRAP wird intrazytoplasmatisch in Lysosomen und lysosomähnlichen Organellen gespeichert (Lojda et al., 1976; Vincent und Averill, 1990).

Fremdkörper-Riesenzellen und verschiedene einkernige mesenchymale Zellen können unter bestimmten funktionellen Erfordernissen, je nach Art der abzubauenden Substanz, TRAP synthetisieren (Schaefer und Fischer, 1977; Grouls und Vogel, 1988). So weisen unter anderem Alveolarmakrophagen und retikulohistiozytäre Zellen im Lymphknoten TRAP-Aktivität auf. Auch Fremdkörper-Riesenzellen, die beim Abbau lipidhaltiger Stoffe, zum Beispiel in Fettgewebsnekrosen, beteiligt sind, reagieren TRAP-positiv. Aufgrund ihrer TRAP-Aktivität werden sie als osteoklastenähnliche Riesenzellen beziehungsweise die einkernigen Zellen als "osteoklastäre Vorläuferzellen" bezeichnet (Grouls und Vogel, 1988). In den eigenen Untersuchungen waren auch einige mononukleäre Zellen TRAP-positiv. Hierbei könnte es sich zum einen also um mesenchymale TRAP-positive Zellen handeln oder um einkernige Vorläuferzellen von Osteoklasten, die sich dann zu osteoklastenähnlichen

Riesenzellen weiterdifferenzieren.

Jösten und Rudolph (1997) beschreiben eine Methode zur Differenzierung von Riesenzellen in Neoplasien von Hund und Katze mittels Doppelmarkierung. Hierbei erfolgt eine Unterteilung in Geschwulstriesenzellen und reaktive osteoklastenartige Riesenzellen. Die Tartrat-resistente saure Phosphatase (tartrate-resistant acid phosphatase=TRAP) wird als ein Marker für Osteoklasten angesehen. Weiterhin wird ein Proliferationsmarker (MIB1; anti-Ki67) zur Differenzierung herangezogen. Sind die Riesenzellen TRAP-positiv und MIB1-negativ, so sprechen die Autoren von reaktiven Osteoklasten-Riesenzellen. Sind sie TRAP-negativ und MIB1-positiv, so interpretieren sie die Zellen als neoplastisch. Sind beide Reaktionen negativ, so beurteilen sie die mehrkernigen Riesenzellen als nicht neoplastisch.

Bei den eigenen Untersuchungen waren die Riesenzellen in allen Fällen TRAP-positiv. Anstelle des anti-Ki67 Antikörpers wurde anti-PCNA (proliferating cell nuclear antigen) verwendet. Anti-Ki67 ist ein endogener Marker, ein nukleäres Protein, das außer in der G₀- und der frühen G₁-Phase während des gesamten Zellzyklus in unterschiedlichen Konzentrationen vorhanden ist (Teter et al., 1995). Sandusky et al. (1993) kamen bei einem Vergleich zwischen Ki-67 und PCNA zu dem Ergebnis, dass PCNA bessere Ergebnisse in Bezug auf die Zellproliferation erbrachte. In eigenen Untersuchungen wurden auch PCNA-positive Riesenzellen beobachtet. Dieser Fall, also Proliferationsmarker- und TRAP-positiv wird bei Jösten und Rudolph (1997) nicht interpretiert. Fest steht, dass die mehrkernigen Riesenzellen in feline Fibrosarkomen PCNA-positiv sind.

Geschwulst-Riesenzellen sind nicht zur Phagozytose fähig (Zuckerberg et al., 1990; Toyosawa et al., 1991). In den eigenen Untersuchungen konnten jedoch Riesenzellen beobachtet werden, in deren Zytoplasma sich phagozytierte apoptotische Körperchen darstellen ließen. Ob es sich hierbei allerdings wirklich um phagozytierte apoptotische Zellen handelt oder einfach bei der Zellfusion ein apoptotischer Zellkern "mitfusioniert" worden ist, bleibt unklar. OCL-GC in Neoplasien besitzen die Fähigkeit, ein- und mehrkernige Tumorzellen, Erythrozyten, Osteoid, Nekrose und andere Substanzen zu phagozytieren (Jösten, 1995). Auch andere Autoren berichten von der Phagozytosefähigkeit der OCL-GC (Chambers, 1978; LeCoteur et al., 1978; Kenney et al., 1984; Boccatto et al., 1988; Oemus und Timmel, 1990; Gaffey et al., 1991; Sava et al., 1991; Jösten et al., 1997). OCL-GC und Fremdkörper-Riesenzellen können auch proliferationsaktive MIB1-positive einkernige Zellen phagozytieren (Jösten, 1995). Della Salda et al. (1993) postulieren im Gegensatz zu den oben zitierten Autoren, dass OCL-GC

keine Phagozytoseaktivität besitzen. Eventuell führen aber die geringe Fallzahl (4 Mammakarzinome) oder nicht repräsentative Ausschnitte aus den Neoplasien dazu, dass diese Arbeitsgruppe keine Phagozytoseaktivität der OCL-GC beobachten konnte. Jösten (1995) konnte allerdings auch nicht in allen OCL-GC typische Phagozytoseaktivität beobachten, so dass das Kriterium der Phagozytoseaktivität bei den mehrkernigen Riesenzellen in den feline Fibrosarkomen nur im positiven Fall eine Zuordnung zu den OCL-GC erlaubt, im negativen Fall aber nicht eine Tumorrisenzelle beweist.

Anzahl und Verteilung der Riesenzellen innerhalb eines Tumors können erheblich schwanken, und nicht in jedem Teil des Tumors sind Riesenzellen anzutreffen. Auch Goldschmidt und Shofer (1992) beschreiben, dass die mehrkernigen Riesenzellen in den feline Fibrosarkomen gleichmäßig verteilt im Tumor liegen oder dass sie in manchen Arealen akkumulieren können. Die Zahl der Zellkerne und die Menge des Zytoplasmas variiert von Fall zu Fall und auch innerhalb eines Tumors sind unterschiedliche Zellgrößen und Mengen an Zellkernen zu beobachten. Goldschmidt und Shofer (1992) sprechen von 3 bis 25 Zellkerne und einem eosinophilen Zytoplasma, das nicht vakuolisiert ist. Sie interpretieren die mehrkernigen Riesenzellen als Osteoklasten und vermuten, dass sie aus einer Fusion von mononukleären Histiozyten entstehen.

Häufig ist ein zielgerichtetes Geschehen erkennbar: OCL-GC liegen nekrose-, blutungs- oder osteoidassoziiert oder sie treten in geringer differenzierten Tumorbereichen auf; in gut differenzierten Arealen hingegen sind sie seltener (Jösten 1995), was sich mit den eigenen Untersuchungen nur in Bezug auf die Nekrosen und schlecht strukturierten Areal deckt. In der Literatur sind OCL-GC in folgenden Lokalisationen beschrieben: OCL-GC in der Nähe von Gefäßen (Gaffey et al., 1991), im Stroma (Della Salda et al., 1993), an Osteoid (Oemus und Timmel, 1990) oder in Nekroseherden (Kenney et al., 1984). Auch in den von uns untersuchten Fällen lagen die Riesenzellen häufig akkumuliert an Nekroseherden. Eine Assoziation zu Gefäßen und/oder Osteoid konnte dagegen nicht beobachtet werden. Nekrosen können somit in den feline Fibrosarkomen als Auslöser einer Riesenzellinfiltration angesehen werden. In einigen Fällen fehlt jedoch eine erkennbare abzubauen Substanz. Die mehrkernigen Riesenzellen sind dann diffus im Tumor über den gesamten Schnitt verteilt. Ähnliches beschreiben auch Daroca et al. (1990) und Rosai (1990). Bei den genannten Autoren handelt es sich in den beschriebenen Fällen um OCL-GC. Als Auslöser für die Riesenzellinfiltration werden in solchen Fällen chemotaktisch wirkende Substanzen vermutet

(Rosai, 1990).

Die mehrkernigen Riesenzellen in den feline Fibrosarkomen erinnern sehr an Fremdkörperriesenzellen, wie sie in granulomatösen Entzündungen beschrieben werden (Collins, 1999). Die Zellen enthielten sehr viel Zytoplasma und sie besaßen zum Teil bis zu 15 Zellkerne. Betrachtet man den Impfstoff beziehungsweise das Adjuvans nun als Fremdkörper, könnte in dem bereits weiter oben angesprochenen Sinn ein Zusammenhang zwischen einer Fremdkörperreaktion und einer Tumorentstehung bei feline Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen diskutiert werden. Die Riesenzellen wären in diesem Fall reaktive Riesenzellen im Sinn von Fremdkörperriesenzellen.

Alles deutet also darauf hin, dass es sich bei den mehrkernigen Riesenzellen in feline Fibrosarkomen um ausdifferenzierte fusionierte Makrophagen handelt. In Zellkulturen mit humanen Blutzellen gelang es in Monozyten/Makrophagen durch Zugabe von Koloniestimulierenden Faktoren, Wachstumsfaktoren und Interleukinen morphologische Veränderungen zu induzieren. So wurden in mit IL-6 behandelten Monozytenzelllinien nach 10 Tagen mehrkernige Riesenzellen beobachtet (Hassan et al., 1994). Gleichzeitig wurde die **MHC II Expression** herunterregelt. Die mehrkernigen Riesenzellen in den feline Fibrosarkomen waren MHC II-negativ, wohingegen die mononukleären neoplastischen Zellen MHC II-positiv waren (näheres siehe unten). Das würde die Hypothese unterstützen, dass es sich bei den Riesenzellen um weiter- beziehungsweise umdifferenzierte Makrophagen handeln könnte. MHC II wird von der Katze auf folgenden Zellen exprimiert: B- und T-Lymphozyten, mononukleäre Makrophagen und dendritische Zellen (Tizard, 1996). Der in den eigenen Untersuchungen verwendete monoklonale Antikörper gegen die β -Kette des feline MHC II (Klon F7 1 D4 F6 H4) stimmt in seiner Expression mit der Beschreibung der MHC II-Verteilung bei der Katze von Hunt et al. (1995) und Rideout et al. (1990) überein (von Bothmer, 1999; Kipar, 2002).

Eine positive **CD18-Reaktion** konnte in allen untersuchten mehrkernigen Riesenzellen beobachtet werden. CD18 ist ein Adhäsionsmolekül, das beim Hund in Makrophagen, Lymphozyten und Granulozyten nachgewiesen werden kann (Moore et al., 1990). Es ist Bestandteil der drei Mitglieder enthaltenden Familie der β_2 -Integrine, oberflächlicher, zellulärer Adhäsionsmoleküle, die Heterodimere aus zwei nicht-kovalent gebundenen Untereinheiten (α -Untereinheit: CD11, β -Untereinheit: CD18) darstellen. CD18 wurde auch in feline Makrophagen nachgewiesen (Kipar, 2001). Dermale Fibroblasten in unveränderter

feliner Haut waren in eigenen Untersuchungen CD18-negativ. Couto et al. (2002) verwendeten in ihren Untersuchungen an felinen Fibrosarkomen den gleichen Klon (anti-CD18; Fe3.9F2) wie wir. Sie definierten die mehrkernigen Riesenzellen als neoplastische Zellen, da sie zur Proliferation fähig sind (Ki-67-positiv) und CD18-negativ waren. Leider war kein Hinweis gegeben auf die immunhistologische Methode, so dass kein Vergleich gezogen werden konnte, ob vielleicht eine unterschiedliche Inkubationsmethode zu dem abweichenden Ergebnis geführt haben könnte.

Mehrkernige Riesenzellen können durch die Fusion von Monozyten entstehen (wie zum Beispiel bei der Tuberkulose, Leptospirose, Schistosomiasis und Sarkoidose), auch wenn der genaue Mechanismus noch nicht abschließend geklärt ist. Fest steht aber, dass für diesen Vorgang der Zellfusion Oberflächenantigene wichtig sind. Untersuchungen mit humanen Monozyten ergaben, dass ein Blocken sowohl der α - als auch der β -Kette des CD18-Moleküls eine Fusion der Zellen und somit das Entstehen mehrkerniger Riesenzellen unmöglich macht (Gasser und Möst, 1999). In den eigenen Untersuchungen sind zwischen 0 und 90% der neoplastischen mononukleären Zellen CD18-positiv. Das bedeutet, dass sie von der Monozyten/Makrophagen-Linie abstammen. Anlehnend an Gasser und Möst (1999) wären diese mononukleären neoplastischen Zellen nun in der Lage auf Grund ihrer oberflächlichen Adhäsionsmoleküle zu mehrkernigen Riesenzellen zu fusionieren. Demnach hätten die mononukleären und mehrkernigen Zellen den gleichen zellulären Ursprung.

Zusammenfassend sind diese Ergebnisse zwar kein Beweis, aber sie geben einen deutlichen Hinweis darauf, dass es sich bei den Riesenzellen in felinen Fibrosarkomen um ausdifferenzierte Makrophagen handelt. Die TRAP-Aktivität spricht dafür, dass sie Makrophagen sind, die eine Weiterdifferenzierung in osteoklasten-ähnliche Riesenzellen durchgemacht haben. Auch sind sie zur Proliferation und Phagozytose fähig. Die Tatsache, dass sie MHC II-negativ sind könnte ein Hinweis darauf sein, dass die mehrkernigen Riesenzellen im Laufe der Ausdifferenzierung die Fähigkeit zur Antigenpräsentation verloren haben, wie es auch bei den mehrkernigen Riesenzellen bei der Tuberkulose beschrieben wird (Pancholi et al., 1993).

In keiner mehrkernigen Riesenzelle konnte eine MAC387-Expression mit dem Antikörper, der gegen das myeloid/histiocyte Antigen (Calprotectin, leucocyte protein L1) zur Darstellung von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen/Monozyten benutzt wurde, nachgewiesen werden. Dies stimmt mit Angaben in der Literatur überein, in denen Riesenzellen vom

Langhans Typ und Fremdkörper-Riesenzellen negativ reagieren (Brandtzaeg et al., 1987). Bei den Riesenzellen, wie sie zum Beispiel bei der Tuberkulose beschrieben werden, handelt es sich um ausdifferenzierte Makrophagen (Schmitt et al., 1977; Soler und Bernaudin, 1993). Auch diese sind MAC387 negativ, was somit mit den eigenen Untersuchungen und der aufgestellten Hypothese der ausdifferenzierten Makrophagen übereinstimmen würde.

In keiner mehrkernigen Riesenzelle konnte eine positive CD3- und CD45R-Reaktion nachgewiesen werden.

Als wichtigste **Differenzialdiagnose** zum Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkom muss man an das **maligne fibröse Histiozytom** denken. Hierbei handelt es sich um einen malignen Tumor mit einem variablen Zellbild, der vermutlich von primitiven mesenchymalen Zellen ausgeht. Einigkeit besteht über diesen etwas unüblichen Tumor beziehungsweise seine Ursprungszellen noch nicht in der Literatur (Pace et al., 1994; Hendrick, 1998b). Die meisten histologischen, elektronenmikroskopischen und immunhistologischen Studien deuten einen Fibroblasten/Myofibroblastenursprung an. Am häufigsten wird dieser Tumor beim Hund beobachtet, wo er in der Haut oder in der Milz als solider Knoten oder als multifokales Geschehen in nahezu allen Organen auftreten kann. Bei allen Haussäugetieren kann man – anlehnend an die Klassifikation beim Menschen, die insgesamt 5 Einteilungen kennt - drei verschiedene Typen des malignen fibrösen Histiocytems unterscheiden. Neben einem pleomorphen und einem entzündlichen Typ wird ein Riesenzelltyp unterschieden. Dieser ist bei der Katze die häufigste Form (Gleiser et al., 1979; Garma-Avina, 1987) des generell bei der Katze sehr selten vorkommenden malignen fibrösen Histiocytems und wird auch "Riesenzelltumor des Weichteilgewebes" („giant cell tumor of soft part“) genannt (Hendrick, 1998b). Dieser Tumor enthält zahlreiche mehrkernige Riesenzellen, die zwischen Spindelzellen und mononukleären histiozytären Zellen liegen. Diese Beschreibung alleine macht schon klar, warum oftmals lichtmikroskopisch eine Unterscheidung zwischen einem Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkom mit mehrkernigen Riesenzellen und einem malignen fibrösen Histiozytom an einer entsprechenden Lokalisation kaum möglich ist. Eine eindeutige Abklärung ist oftmals nur mittels Immunhistologie möglich. In der Humanmedizin werden Marker wie zum Beispiel alpha 1-anti-Trypsin (AT) und alpha 1 anti-Chymotrypsin (ACT) zur näheren Abgrenzung herangezogen. Untersuchungen an der Katze mit diesen Antikörpern liegen vor und stimmen mit denen der Humanmedizin überein (Thoolen et al., 1992). Pace et al. (1994) nutzte Typ I und II Zytokeratin, Desmin, Vimentin und S100 zur

näheren Abgrenzung. Die malignen fibrösen Histiocytoome waren in dieser Studie positiv für Typ I (AE1) und II (AE2) Zytokeratin sowie Desmin. S100 wurde zur Abgrenzung gegen Melanome, Vimentin zur Abgrenzung gegen Fibrosarkome genutzt. Da die Zellmorphologie der beiden Entitäten nicht eindeutig voneinander abzugrenzen ist, ist somit in vereinzelt Fällen eine Unterscheidung zwischen der bei der Katze extrem seltenen Diagnose "malignes fibröses Histiozytom" und dem der häufig vorkommenden Diagnose Injektionsstellen-assoziiertes Fibrosarkom anhand der Histologie allein leider nicht möglich. Auch Hendrick und Brooks (1994) weisen in einer Untersuchung von 46 postvakzinalen Sarkomen der Katze darauf hin, dass es zahlreiche Übereinstimmungen zwischen den Fibrosarkomen mit Riesenzellen und den malignen fibrösen Histiocytoomen gibt und somit sicherlich unterschiedliche Diagnosen durch unterschiedliche Pathologen zustande kommen können. Für ihre Untersuchungen teilten Hendrick und Brooks (1994) die Tumoren lediglich anhand der Zellmorphologie ein: Die Fälle, in denen die Spindelzellen überwogen, die in Bündeln angeordnet waren, wurden als Fibrosarkome definiert, wohingegen die Fälle, in denen atypische histiozytäre Zellen überwogen und die Spindelzellen ungeordnet lagen, der Gruppe der malignen fibrösen Histiocytoome zugeordnet wurden. Allerdings konnte in dem einzigen immunhistologisch untersuchten malignen fibrösen Histiozytom dieser Studie eine stark positive Vimentin-Reaktion nachgewiesen werden, was laut Literatur (Pace et al., 1994) ein Kriterium für ein Fibrosarkom ist und somit die ursprüngliche morphologische Diagnose in Frage stellt. Da beide Tumorformen postvakzinal entstehen können (Hendrick und Brooks, 1994), hilft dem Diagnostiker auch eine Impfhistorie zur Abgrenzung nicht weiter. Wobei auch hierbei zu bedenken ist, dass die Einteilung dieser Studie lediglich auf die oben erwähnte Zellmorphologie gestützt ist und somit unklar bleibt, ob es sich nicht in Wirklichkeit um Fibrosarkome mit Riesenzellen handelt.

Metastasen sind – wie bei Fibrosarkomen - selten bei malignen fibrösen Histiocytoomen (Garavina, 1987). In der Humanmedizin wird diskutiert, dass maligne fibröse Histiozytom als pleomorphes Fibrosarkom neu zu klassifizieren (Antonescu et al., 2000). Bei der vorliegenden Arbeit wurde in "kritischen" Fällen ein immunhistologischer Nachweis von Zytokeratin, Vimentin und Desmin zum Ausschluss eines malignen fibrösen Histiocytooms herangezogen.

4.3 Nicht Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome

Zu den nicht Injektionsstellen-assoziierten Regionen zählen alle Regionen, die von Tierärzten nicht routinemäßig für Injektionen verwendet werden wie zum Beispiel der Kopf, die Pfoten, die Mammaleiste beziehungsweise der gesamte Bereich des Unterbauches.

Der Altersdurchschnitt der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome wird mit 10,2 und 10,5 Jahren angegeben (Doddy et al., 1996; Hendrick et al., 1994). Katzen mit einem nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkom sind somit älter als die mit einem Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkom (Kass et al., 1993), was allerdings bei dem von uns untersuchten Material nicht zutrifft, bei dem der Altersdurchschnitt der Katzen beider Gruppen bei 10 Jahren lagen. Eine Rasse- oder Geschlechtsdisposition konnte nicht festgestellt werden, was mit den Angaben in der Literatur übereinstimmt (Hendrick et al., 1994; Doddy et al., 1996). Doddy et al.(1996) konnte weder eine FeLV- noch eine FIV-Infektion im Zusammenhang mit nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen nachweisen. In keinem der 89 Fälle seiner Studie wurde eine Entzündungsreaktion in der Gruppe der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome beobachtet. In den eigenen Untersuchungen konnte in 5 nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen immunhistologisch FeLV-Antigen nachgewiesen werden. Entzündliche Infiltrate fanden sich in 38 der 97 (39%) nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome.

4.3.1 Histologie

In dem größten Teil (70%) der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome dominierte in unseren Fällen ein gut strukturiertes Zellbild. Mitosen waren selten.

Generell waren die nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome auch in den eigenen Untersuchungen deutlich weniger entzündlich infiltriert als die Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome. So konnten in 48% keine entzündlichen Infiltrate beobachtet werden. Zwar fanden sich auch in dieser Gruppe Lymphozyten-Cluster in der Tumorperipherie, doch waren diese deutlich kleiner und seltener als in der Gruppe der Injektionsstellen-assoziierten. In 18% der Fälle konnte eine eitrige beziehungsweise eitrig-nekrotisierende Entzündung gesehen werden, was deutlich häufiger ist als in den Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen. Nicht Injektionsstellen-assoziierte Lokalisationen wie zum Beispiel die distalen Gliedmassen sind dem Tier durch Belecken und Kratzen leichter zugänglich als eine Umfangsvermehrung in einer Injektionsstellen-assoziierten Region (zum Beispiel zwischen den Schulterblättern),

was durchaus ein Grund für eine sekundäre eitrige Entzündung mit sein kann. In diesem Fall müsste der Tumor theoretisch eine Ulzeration aufweisen. Dieses Kriterium ist in diesen Fällen leider im eigenen Material nicht mehr zuverlässig nachzuvollziehen, da die Epidermis nicht auf den Tumoranschnitten enthalten war. Auf Nekrosen, Blutungen, Verknöcherungen und das Vorhandensein mehrkerniger Riesenzellen in den nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen wurde bereits weiter oben eingegangen.

4.4 Cellular Turnover der feline Fibrosarkome

Die Zellproliferationsrate wurde unter anderem lichtmikroskopisch (Auszählung von Mitosen und Apoptosen pro Gesichtsfeld) bestimmt, was bereits weiter oben beschrieben und erläutert wurde. Im Folgenden wird daher nur noch auf weiterführende immunhistologische Untersuchungen zur Bestimmung der Proliferationsrate eingegangen.

Die Zellproliferationsrate wurde bei 137 Fibrosarkomen (101 Injektionsstellen-assoziierten und 36 nicht Injektionsstellen-assoziierten) mittels des Nachweises von **PCNA (proliferating cell nuclear antigen)** bestimmt. Die positive PCNA-Reaktion stellte sich sehr variabel dar. PCNA tritt während des gesamten Zellzyklus auf, die höchste Konzentration findet sich jedoch in der S-Phase (Kurki et al., 1986; Foley et al., 1991; Dietrich, 1993; Eldridge et al., 1993; Dietrich et al., 1994). Die Zellen der G1-Phase zeigen eine minimale, teils gesprenkelte nukleäre Anfärbung, da die PCNA-Synthese erst im Spätstadium dieser Phase beginnt. In der S-Phase ist eine intensive und deutliche nukleäre Anfärbung zu sehen, da hier die PCNA-Produktion am größten ist. Während der G2-Phase wird die DNA-Polymerase δ und ihr Hilfsprotein PCNA unter Auflösung der Kernmembran in das Zytoplasma abgegeben. Dies führt zu einer weniger intensiven, gefleckten nukleären und zytoplasmatischen Färbung. In der M-Phase sind Nukleoplasma und Zytoplasma vereint und zeigen eine fleckige Anfärbung (Foley et al., 1991). Es befanden sich in beiden Gruppen etwa 40-80% der Tumorzellen in einem Stadium der Zellteilung. Statistisch signifikante Unterschiede wie sie bei der histopathologischen Auszählung der Mitosen beobachtet wurden, konnten nicht festgestellt werden.

Die topographische Verteilung der **bcl-2-Expression** in gesunden Geweben der Katze entspricht exakt der in Geweben des Menschen (Madewell et al., 1999). In eigenen Untersuchungen waren die Basalzellen der Epidermis zum Teil, ebenso wie die vaskulären Endothelzellen schwach positiv. Ganz vereinzelt war eine schwach positive Reaktion in einem dermalen Fibroblasten erkennbar. Bcl-2 stellte sich als feingranuläre, zytoplasmatische

Reaktion in einem Teil der neoplastischen Fibroblasten dar. Es handelte sich überwiegend um Zellen mit dem großen, blasigen Kern von aktiven Fibroblasten. Es waren etwa 80-90% der tumorinfiltrierenden Lymphozyten bcl-2-positiv, was mit den Ergebnissen von Madewell et al. (1999) übereinstimmt. Die tumorinfiltrierenden Lymphozyten wiesen eine stärker-positive Farbreaktion auf als die neoplastischen Zellen. Madewell et al. (1999) untersuchten die Verteilung der bcl-2-Expression in Geweben der Katze unter anderem auch in feline Fibrosarkomen. Sie wiesen lediglich in einem von 14 Fibrosarkomen eine bcl-2 Expression in den neoplastischen Zellen nach. Über die Lokalisation ihrer Fibrosarkome ist nichts bekannt. In den eigenen Untersuchungen konnten sowohl in Injektionsstellen-assoziierten (n=31) als auch in nicht Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkomen (n=30) eine bcl-2 Expression in unterschiedlicher Menge nachgewiesen werden. Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen konnte nicht festgestellt werden ($p=0,8836$). Diese Ergebnisse passen auch mit der Auswertung der Apoptosen zusammen. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer bcl-2-Expression und der Strukturierung der Tumoren fand sich nicht ($p=0,6013$).

Die Vorstellung, dass ein Protoonkogen die Lebensdauer von Zellen reguliert, legt nahe, dass bcl-2 auch in der Onkogenese eine Bedeutung hat. Bcl-2 kann zum Beispiel den apoptoseinduktiven Effekt von c-myc (Evan et al., 1992), das in Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen nachgewiesen wurde (McCracken et al., 1999), inhibieren (Bissonnette et al., 1992; Fanidi et al., 1992). Dies würde eine erhöhte Überlebenszeit der mutierten Zellen bewirken, zusätzlich aber die Wirkung von c-myc durch Blockade seiner Apoptosefunktion in Richtung Proliferation verschieben. Somit hätte die bcl-2-Expression eine Doppelfunktion in der Tumorgenese: Zum einen würde sie eine erhöhte Überlebenszeit der mutierten Zellen bewirken, zusätzlich aber die Wirkung von c-myc durch Blockade seiner Apoptosefunktion in Richtung Proliferation verschieben. Die meisten Chemo- und Radiotherapeutika basieren auf dem Prinzip, dass sie Apoptose induzieren. Von daher kommt der bcl-2 Expression in feline Fibrosarkomen auch eine klinische Bedeutung zu, da der Nachweis von bcl-2 möglicherweise den Tumor therapieresistent machen könnte. Solche Resistenzen werden in der Humanmedizin diskutiert (Schmitt und Lowe, 1999).

Umgekehrt betrachtet kann unter Umständen anhand der bcl-2-Expression auch ein Schluss auf die Prognose des Tieres gezogen werden. Der Nachweis einer bcl-2-Expression wäre somit ein Indikator für eine ungünstigere Prognose. Dafür spricht auch die Tatsache, dass bcl-2 topographisch auf Areale langlebiger Zellen beschränkt ist (Hockenberry et al., 1991).

4.5 Immunhistologische Charakterisierung der Entzündungszellen in feline Fibrosarkomen (T- und B-Zellen, neutrophile Granulozyten und Makrophagen)

Unabhängig vom Grad der entzündlichen Infiltrate wurde in einem großen Teil der Fälle (n=289; 81%) eine nähere immunhistologische Charakterisierung der T- und B-Lymphozyten durchgeführt. Sowohl T- als auch B-Lymphozyten waren statistisch signifikant häufiger in Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkomen als in nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ($p < 0,0001$). Bezogen auf die Strukturierung der Fibrosarkome konnte für eine Infiltration mit T- oder B-Lymphozyten keine Signifikanz festgestellt werden ($p = 0,5770$). Das heißt, die Lymphozyteninfiltrationen sind eindeutig an die Lokalisation und somit wahrscheinlich auch an die Injektion gebundenes Kriterium. Diese Ergebnisse wären eine Bestätigung der in der Literatur diskutierten Hypothese, dass eine primäre Entzündung an der Impfstelle, hervorgerufen durch die Injektion, der pathogenetische Ursprung der Tumorentstehung bei Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ist (Macy und Hendrick, 1996).

Hendricks (1998b) hatte je 3 Injektionsstellen-assoziierte und 3 nicht Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome mit einem T-Zell-Marker (anti-CD3) immunhistologisch untersucht und dabei keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen feststellen können. Zur eigenen Darstellung von T-Lymphozyten wurde der Pan T-Zellmarker CD3 mittels der PAP-Methode detektiert (Sternberger et al., 1970; Beebe et al., 1994; Kipar et al., 1998a). Eine detailliertere Untersuchung der T-Zellen (CD4, CD8) war leider am Paraffinmaterial nicht möglich. Mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen das CD45R-Antigen auf B-Zellen und B-Zell-Vorstufen (B220 (Ly 5)), dem Klon RA3-6B2, wurden B-Zellen und Plasmazellen nachgewiesen (Coffmann und Weißmann, 1981). Dieser monoklonale Antikörper kann bei der Katze als Pan-B-Zellmarker verwendet werden (Montheit et al., 1996; Kipar et al., 1998a). Unabhängig vom Grad der Entzündung wurden 289 Fibrosarkome (209 Injektionsstellen-assoziierte und 80 nicht Injektionsstellen-assoziierte) auf den Gehalt an

infiltrierenden T-Zellen (Nachweis von CD3) und B-Zellen (CD45R) untersucht. In 22% der Injektionsstellen-assoziierten und in 51% der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome fanden sich keine entzündlichen Infiltrate. Immunhistologisch stellten sich die dominierenden Lymphozyten in den Lymphozytenclustern als B-Zellen dar. In allen Fällen fanden sich einzelne Makrophagen disseminiert zwischen den Lymphozytenakkumulaten. Die in wechselnder Menge disseminiert zwischen den Tumorzellen liegenden Lymphozyten hingegen waren überwiegend T-Zellen. Auf die Verteilung der T- und B-Zellen in den FeLV-positiven Fibrosarkomen wird weiter hinten eingegangen. Couto et al. (2002) propagierten eine T-Zell Dominanz in den Lymphozytenclustern an der Tumorperipherie feliner postvaxzinaler Fibrosarkome. Hierbei sei angemerkt, dass in dieser Untersuchung anti-CD79a als B-Zell-Marker genutzt wurde und nicht wie in den eigenen Untersuchungen anti-CD45R. Die Auswertung erfolgte mittels computergestützter Bildanalyse. Da die immunhistologische Färbung im Falle der CD79-Färbung allerdings unspezifischen Hintergrund enthielt, wurde nur die CD3-Färbung ausgewertet und die CD79-gefärbten Schnitte als Referenz für die CD3-negativen Lymphozyten angesehen. Es wurden 20 Fibrosarkome untersucht und der Gehalt an T-Zellen in den Lymphozytenclustern schwankte zwischen 19% und 88% mit einem Mittelwert von 46%. Die von dieser Arbeitsgruppe festgestellte T-Zell-Dominanz könnte somit am methodischen Ansatz liegen. Für die Darstellung der T-Zellen wurde dagegen auch von diesen Autoren der gleich Marker (anti-CD3) wie in den eigenen Untersuchungen genutzt.

Mittels des Nachweises des myeloid/histiocyte-Antigens (Calprotectin, leucocyte protein L1) wurden ebenfalls unabhängig vom Grad der Entzündung in 151 Fibrosarkomen (113 Injektionsstellen-assoziierte und 38 nicht Injektionsstellen-assoziierte) neutrophile Granulozyten und Makrophagen/Monozyten dargestellt. Makrophagen fanden sich außer in den Lymphozytenclustern auch vereinzelt zwischen den Tumorzellen. Neutrophile Granulozyten wurden lediglich in den Fällen beobachtet, in denen eine eitrige Entzündung zum Teil in Zusammenhang mit einer Ulzeration beziehungsweise eines großen Nekroseherdes, vorlag. Hierbei handelte es sich dann um eine herdförmige eitrige beziehungsweise eitrig-nekrotisierende Entzündung.

In Bezug auf die Infiltration mit neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen (MAC387-Antikörper; Dale et al., 1993; Flavell et al., 1987; Brandtzaeg et al., 1992) fand sich allerdings kein signifikanter Unterschied zu den nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen ($p=0,7816$). Auch in Hinblick auf die Strukturierung der Fibrosarkome konnte keine statistische Signifikanz ermittelt werden ($p=0,2206$).

4.6 Immunhistologische Charakterisierung der neoplastischen Zellen

Bei der Katze exprimieren alle Lymphozyten und Monozyten MHC II (Rideout et al., 1990). Auch in der Milz, den Lymphknoten, dem Thymus, den Peyerschen Platten und der Haut kann eine **MHC II-Expression** nachgewiesen werden (Hunt et al., 1995), was allerdings den Ergebnissen von Pollack et al. (1988) widerspricht, der mittels Immunfluoreszenz kein MHC II-Antigen in Fibroblasten nachweisen konnte. In den eigenen Untersuchungen wurde ein monoklonaler Antikörper gegen die β -Kette des felinen MHC II Moleküls (Klon F7, IgG1, κ -Leichtkette) eingesetzt. Mit diesem Antikörper konnte lediglich eine schwache MHC II-Expression in dermalen Fibroblasten unveränderter Haut der Katze beobachtet werden. Tumorinfiltrierende Lymphozyten waren größtenteils MHC II-positiv. Die Zahl der MHC II-positiven neoplastischen Zellen schwankte zwischen 10 und 80%. Pérez et al. (1999) wiesen eine MHC II-Expression in infiltrierenden Lymphozyten, Makrophagen und Fibroblasten in felinen Plattenepithelkarzinomen nach. Auch hier waren nicht alle tumorinfiltrierenden Lymphozyten MHC II-positiv und die Zahl der MHC II-positiven neoplastischen Zellen schwankte im gleichen Rahmen wie bei den eigenen felinen Fibrosarkomen. Pérez et al. (1999) verwendeten einen monoklonalen Antikörper, der gegen das humane MHC II-Antigen gerichtet ist und mit den entsprechenden Antigenen der Katze kreuzreagiert. Weitere Studien über die MHC II-Expression in felinen Tumoren liegen nicht vor. Die MHC II-Expression des Großteils der tumorinfiltrierenden Lymphozyten in den felinen Fibrosarkomen kann allerdings in den vorliegenden Untersuchungen nicht als Zeichen der Zellaktivierung interpretiert werden, weil laut Rideout et al. (1990) alle felinen T- und B-Zellen im lymphatischen Gewebe und in chronische Entzündungen (Day, 1998) konstitutiv MHC II exprimieren. Die MHC II-Expression der neoplastischen Fibroblasten wird von Pérez et al. (1999) als ein Hinweis auf eine Anti-Tumor-Antwort interpretiert. Sie sahen zum einen in der mononukleären Infiltration (T-Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen) der felinen Plattenepithelkarzinome einen Beweis für eine lokale primär T-Zell-vermittelte Anti-Tumor

Immunantwort. Sie sahen aber auch einen kausalen Zusammenhang zwischen einer MHC II-Expression der neoplastischen Zellen und dem Fehlen von invasivem Wachstum sowie einer T-Zell-Infiltration der Tumoren, wie Kipar et al. (1998c) es auch bei den kaninen kutanen Histiozytomen interpretierte. Auch Sadanaga et al. (1994) beschrieben sowohl einen Zusammenhang zwischen der MHC II-Expression in den Zellen von humanen Plattenepithelkarzinomen im Ösophagus und dem Fehlen von invasivem Tumorwachstum, als auch einer MHC II-Expression und einer T-Zellinfiltration der Tumoren. Auch Pérez et al. (1999) belegten eine Korrelation zwischen einer MHC II-Expression der Tumorzellen und einem invasivem Wachstum der Tumoren, was sie als lokale Anti-Tumorantwort interpretierten. Die Tatsache, dass in den eigenen Untersuchungen dermale Fibroblasten in unveränderter Haut nahezu MHC II-negativ waren, neoplastische Fibroblasten aber eine zum Teil starke MHC II-Expression zeigten und auch disseminiert in den Fibrosarkomen liegenden Lymphozyten sich immunhistologisch hauptsächlich als T-Zellen darstellen, würde dafür sprechen, dass auch in den feline Fibrosarkomen eine lokale anti-Tumor-Immunantwort stattfindet, wie sie von Pérez et al. (1999) beschrieben wurde. Im Hinblick auf die Lokalisation ($p=0,0765$) und die Strukturierung der Fibrosarkome ($p=0,3214$) konnten keine statistischen Signifikanzen errechnet werden. Allerdings lässt sich in Bezug auf die Lokalisation der Tumoren eine Tendenz dahingehend erkennen, dass Injektionsstellen-assoziierte Fibrosarkome mehr MHC II exprimieren als nicht Injektionsstellen-assoziierte.

4.7 FeLV-positive Fibrosarkome

In 2,5% ($n=9$) der 364 untersuchten feline Fibrosarkome konnte mittels Immunhistologie FeLV-Antigen nachgewiesen werden. Es wurden hierzu monoklonale Antikörper verwendet, die mittels Immunhistologie auf ihre Spezifität hin geprüft wurden (Nakane und Pierce, 1967; Bourne, 1983; Reinacher und Theilen, 1987; Kipar et al., 2000). Die Fälle 3 und 7 sind an Injektionsstellen-assoziierten Lokalisationen, die Fälle 1, 4, 8 und 9 sind an nicht Injektionsstellen-assoziierten Stellen. Die Fälle 2, 5 und 6 sind multipel und von daher nicht eindeutig in eine der beiden Gruppen einzuordnen. Es wurde jeweils der größte Tumor als Lokalisation für die Einteilung in eine der beiden Gruppen herangezogen und somit wurden dann insgesamt 3 Fälle der Gruppe der Injektionsstellen-assoziierten und 6 der Gruppe der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome zugeordnet.

Kass et al. (1993) konnte in einer umfangreichen Studie ($n=345$) bei 4,9% der Katzen mit

Fibrosarkom eine FeLV-Infektion nachweisen, allerdings wurden nur 49% (n=169) der Tiere getestet. Genau die Hälfte der FeLV-positiven Katzen hatte das Fibrosarkom an einer Injektionsstellen-assoziierten Lokalisation. Im untersuchten Material traten die FeLV-positiven Fibrosarkome statistisch signifikant häufiger an nicht Injektionsstellen-assoziierten Lokalisationen auf ($p=0,0102$). Hingegen konnten Kidney et al. (2001) keinen signifikanten Unterschied der FeLV-Frequenz bei Injektionsstellen-assoziierten und nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen feststellen. Sie testeten in ihrer Studie je 50 Formalin-fixierte Fibrosarkome mittel PCR auf die LTR (long terminal repeat)- und *env*-Region endogener FeLV.

In einer Studie von Ellis et al. (1996) gelang lediglich in einem von 130 Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen immunhistologisch der Nachweis des gp70-Antigens und mittels PCR der Nachweis der LTR-Region. Hierbei handelte es sich um ein multizentrisches Fibrosarkom. Doddy et al. (1996) konnte weder eine FeLV noch eine FIV-Infektion im Zusammenhang mit Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkomen nachweisen.

Reinacher und Theilen (1987) ermittelten für nicht leukotisch bedingte mesenchymale Tumoren eine signifikante Assoziation zu Infektionen mit FeLV. Vor allem Fälle von Tieren mit Osteosarkomen, Meningeomen und Fibrosarkomen waren ausschlaggebend für dieses Ergebnis. Andere Untersuchungen kamen zu dem Ergebnis, dass 43-50% der Katzen mit Fibrosarkomen FeLV-infiziert waren (Hardy et al., 1970; Snyder, 1971; Reinacher, 1987). Seit es einen geeigneten Impfstoff gegen das feline Leukämievirus gibt, ist aber auch der FeLV-Status in der Katzenpopulation deutlich zurückgegangen. In der Literatur finden sich Werte zwischen 0,31% und 5,0% für den FeLV-Status in der gesunden Katzenpopulation. Eine detaillierte Übersicht findet sich bei Wittmer (1993). Der Prozentsatz der FeLV-positiven Fibrosarkome in den eigenen Untersuchungen (2,5%) entspricht in etwa dem FeLV-Status der "normalen" Katzenpopulation in der Praxis. Ob diese 9 Fibrosarkome nun FeSV/FeLV-induziert sind kann abschließend nicht eindeutig geklärt werden. Die FeLV-positiven Fibrosarkomen verhielten sich histopathologisch (Riesenzellen, Blutungen, Lymphozyteninfiltrationen) identisch wie die FeLV-negativen Fibrosarkome in gleicher Lokalisation. Auch die Einteilung anhand der Strukturierung konnte auf die FeLV-positiven Fälle übertragen werden (3 gut differenzierte und 6 schlecht differenzierte Fibrosarkome). Es fand sich keine statistische Signifikanz ($p=0,2741$) für das Vorkommen einer FeLV-Infektion in Bezug auf die Lokalisation der Fibrosarkome.

4.7.1 Differentielle Expression der FeLV-Proteine (gp70, p27 und p15E)

Alle 9 Fälle wurden immunhistologisch auf eine differentielle Expression der FeLV-Proteine hin untersucht.

Es gibt lediglich wenige Arbeiten über die Expression von FeLV-Proteinen in Katzenorganen. Diese Arbeiten beschränken sich meist auf die Expression von p27, da der Nachweis des gruppenspezifischen Antigens mit Hilfe von Immunfluoreszenz-Verfahren als optimale Methode für die jeweilige Fragestellung galt (Rojko et al.; 1979, 1982). Will man die Ergebnisse von Rojko et al. (1979, 1982) zum Vergleich heranziehen, so ist zu beachten, dass es sich hierbei um experimentell infizierte Katzen handelte, die bereits 6 Wochen nach Virusexposition zur Untersuchung gelangten. Teebken-Schuler legte 1993 eine umfangreiche vergleichende immunhistologische Studie zum Nachweis der FeLV-Antigene gp70 und p27 in Katzenorganen vor. Hierbei handelte es sich um natürlich FeLV-infizierte Tiere. Kremendahl (1998) und Kipar et al. (2000) untersuchten bei der FeLV-assoziierten Enteritis der Katze als einzige 3 FeLV-Strukturproteine. Allerdings konnten diese Arbeiten nur bedingt als realistische Vergleichsmöglichkeit zum eigenen Material herangezogen werden, da über die Organe der Tiere, von denen die Tumoreinsendungen stammten, nichts bekannt war, und unklar war, in wieweit sich die Verteilungsmuster auf neoplastische Zellen übertragen lassen. Wie bei der FeLV-assoziierten Enteritis konnte auch bei den Fibrosarkomen eine deutliche Dominanz des Hüllproteins gp70 festgestellt werden.

Wie bei Kremendahl (1998) konnte auch bei den felines Fibrosarkomen in 5 Fällen eine ähnliche Expression des Transmembranproteins p15E und des gp70 beobachtet werden. In den Fällen 1, 6 und 9 waren mehr Zellen gp70 positiv als p15E-positiv. Gp70 und p15E gehen allerdings beide aus dem gleichen Vorläuferprotein gp85 hervor, weshalb eine Coexpression zu erwarten ist (Poss et al., 1989, 1990). In zwei Fibrosarkomen (T91/99; T8373/98) konnte ausschließlich gp70 nachgewiesen werden und in zwei Fällen (T3566/98; T996/00) gp70 und p27, aber kein p15E.

Die tumorinfiltrierende Lymphozyten exprimierten in allen Fällen das Hüllprotein gp70. In Fall 4 konnten keine neoplastische p27-positve Zelle beobachtet werden, es fanden sich allerdings p27-positve Tumor infiltrierende Lymphozyten. Auffällig ist, dass die Farbreaktion in den Lymphozyten meistens stärker war als in den neoplastischen Zellen, was nach Bourne (1983) bedeutet, dass in diesen Zellen auch mehr Protein lokalisiert ist. Die mehrkernigen Riesenzellen in den Fällen 1 und 3 exprimierten keines der drei FeLV-

Strukturproteine.

Abschließend kann man sagen, dass sich die FeLV-positiven Fibrosarkome verhielten wie die FeLV-negativen Fibrosarkome an der entsprechenden Lokalisation.

In 5 der 9 (55%) FeLV-positiven Fibrosarkome dominierten in den Lymphozytenclustern die T-Zellen und nicht wie bei den FeLV-negativen Fibrosarkomen die B-Zellen (siehe Grafik 3.2.16a und 3.2.16b). 2 FeLV-positive Fibrosarkome wiesen keine lymphozytäre Infiltration auf, in einem dominierten die B-Zellen und in einem weiteren waren T- und B-Zellen in gleicher Anzahl vorhanden. Da auch bei den FeLV-negativen Fibrosarkomen in einzelnen Fällen die T-Zellen dominierten und es sich bei den FeLV-positiven Fibrosarkomen auch um eine relativ kleine Fallzahl handelt, kann das häufige Dominieren der T-Zellen derzeit nicht zuverlässig als FeLV-assoziiert interpretiert werden. Auch ist nicht auszuschließen, dass zumindest in einem Teil der Fälle ein "normales" Fibrosarkom mit gleicher Ätiologie und Pathogenese wie bei einem FeLV-negativen Tier bei einem FeLV-positiven Tier entstanden ist, ohne dass ein FeSV gebildet wurde. In solchen Fällen hätte dann FeLV/FeSV nicht direkt mit der Tumorentstehung zu tun. Aus diesen Gründen wurden die lymphozytären Infiltrate der FeLV-positiven Fibrosarkomen in der Statistik zusammen mit denen der FeLV-negativen gerechnet.

5. Zusammenfassung

1. Ziel dieser Arbeit war es, mittels Histologie, Immunhistologie und Enzymhistochemie Kriterien für eine Klassifizierung der feline Fibrosarkome sowie Hinweise auf mögliche Pathogenesen und den Ursprung der Tumorzellen sowie der mehrkernigen Riesenzellen zu finden.

2. Im ersten Teil der Literaturübersicht wird auf den gegenwärtigen Kenntnisstand bezüglich des feline Fibrosarkoms, insbesondere auf seine Einteilung in Vakzine-assoziierte und nicht Vakzine-assoziierte Fibrosarkome eingegangen. Der zweite Teil gibt einen Überblick über das Feline Sarkomvirus als eine Möglichkeit der Ätiopathogenese eines feline Fibrosarkoms. Der dritte Teil beschreibt Möglichkeiten zur immunhistologischen Charakterisierung von Fibroblasten und anderen Zellarten, zur Darstellung von Entzündungszellen und zur Darstellung der Rate von Tumorzellproliferation und Zelluntergang als Basis für die weiteren eigenen Untersuchungen.

3. Die eigenen Untersuchungen erfolgten an Fibrosarkomen von insgesamt 364 Katzen (267 Vakzine-assoziierte Fibrosarkome und 97 nicht Vakzine-assoziierte Fibrosarkome) aus der Routinediagnostik des Institutes für Veterinär-Pathologie aus den Jahren 1998-2000. Die Fibrosarkome wurden anhand ihrer vorberichtlich erwähnten Lokalisation in die 2 Gruppen Vakzine-assoziiert und nicht Vakzine-assoziiert eingeteilt. Anhand der Histologie wurden sie weiterhin den Gruppen gut strukturierte Fibrosarkome und schlecht strukturierte Fibrosarkome zugeteilt.

4. Mittels Histologie und Immunhistologie konnten signifikante Unterschiede herausgearbeitet werden: Das Vorkommen von Riesenzellen, Nekrosearealen, kollagenen Fasern, der Grad der entzündlichen Infiltration, Lymphozyteninfiltrate und Mitosen sind signifikant höher in Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen, Blutungsherde signifikant häufiger in nicht Vakzine-assoziierten Fibrosarkomen. Riesenzellen, Nekroseareale, Blutungsherde, Mitosen und Apoptosen sind weiterhin auch signifikant häufiger in schlecht strukturierten Fibrosarkomen als in gut strukturierten.

5. Mittels Immunhistologie wurde in 9 Fibrosarkomen eine Expression von FeLV-Strukturproteine nachgewiesen. Es konnte wie bei anderen FeLV-assoziierten Entitäten eine Dominanz des Hüllproteins gp70 festgestellt werden. Die FeLV-positiven Fibrosarkome verhielten sich bezüglich aller histologischen und immunhistologischen Kriterien außer dem T- und B-Zellgehalt wie die FeLV-negativen in gleicher Lokalisation. Daraus ergibt sich die Frage, ob nicht auch bei FeLV-positiven Tieren Fibrosarkome auftreten können, deren Ätiopathogenese nichts mit der FeLV-Infektion zu tun hat.

6. Die Untersuchungen an den mehrkernigen Riesenzellen gaben Hinweise darauf, dass es sich hierbei um spezialisierte Makrophagen handeln könnte. Sie exprimierten CD18, waren TRAP-positiv und zeigten eine Expression von PCNA- und bcl-2. Es wurde keine MHC II-, CD3-, CD45R- und MAC387-Expression in den Riesenzellen nachgewiesen. Eine FeLV-Vermehrung fand in den Riesenzellen nicht statt. Eine letztendliche Klärung des Ursprungs dieser Zellen bedarf allerdings weiterer Untersuchungen.

5. 1 Summary

(Investigations on the classification and pathogenesis of feline fibrosarcomas)

1. The purpose of this study was to establish criteria for a better characterization of feline fibrosarcomas via histology, immunohistology and enzyme histochemistry. It was therefore attempted to find evidence for their pathogenesis and the cellular origin of neoplastic cells as well as multinucleated giant cells.
2. The first part of the literature review deals with the present knowledge of feline fibrosarcomas and their classification as fibrosarcomas from vaccination sites and non-vaccination sites. The second part provides an overview on the feline sarcoma virus as an aetiological agent for the development of feline fibrosarcomas. The third part describes tools for the immunohistochemical characterization of fibroblasts and for the identification of inflammatory cells as well as the cellular turnover, which provide a basis for the own investigations.
3. Investigations were performed on fibrosarcomas of 364 cats (267 vaccination site-associated fibrosarcomas and 97 non-vaccination site-associated fibrosarcomas), collected from the routine diagnostic material of the Department of Veterinary Pathology between 1998 and 2000. On the basis of their reported location, these tumors were classified as fibrosarcomas from vaccination sites or from non-vaccination sites. They were further subdivided via histology in well differentiated and poorly differentiated fibrosarcomas.
4. Statistically significant differences were found: the presence of multinucleated giant cells, large areas of necrosis, collagen fibres, the degree of inflammatory infiltration, the presence of clusters of lymphocytes and the mitotic rate are significantly higher for vaccination site-associated fibrosarcomas. Focal haemorrhages are found significantly more often in non-vaccination site-associated fibrosarcomas. Multinucleated giant cells, focal haemorrhages and numerous mitoses and apoptoses are significantly more frequent in poorly differentiated fibrosarcomas.

5. Nine fibrosarcomas were immunohistologically positive for FeLV. Like in other FeLV-associated diseases, a dominance of the glycoprotein gp70 was found. With regard to histology and immunohistology no differences between FeLV-positive and FeLV-negative fibrosarcomas were found in the respective location with the possible exception of the B- and T-cell content. This raises the question whether fibrosarcomas may arise in FeLV-positive cats based on an etiopathogenesis independent from FeLV infection.

6. The investigations on the multinucleated giant cells indicate that these are specialized macrophages. They expressed CD18, were generally TRAP-positive and capable to express proliferation marker (PCNA) and bcl-2. Staining for MHC II, CD3, CD45R and MAC387 was always negative in the giant cells. Those cells were also consistently negative for FeLV antigen. Final clarification of the origin of the multinucleated giant cells requires further investigations.

6. Literaturverzeichnis

- Abbas**, A.K., 2000. Diseases caused by immune responses: hypersensitivity and autoimmunity. In: Cellular and molecular immunology, 4th Edit., Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pober, J.S. (Eds.). W B. Saunders Company, Philadelphia, pp 404-423.
- Alexander**, J.W., Riis, R.C., Dueland, R., 1975. Extraskelatal giant cell tumor in a cat, *Vet. Med. Small Anim. Clin.* **70**, 1161-1166.
- Antonescu**, C.R., Erlandson, R.A., Huvos, A.G., 2000. Primary fibrosarcoma and malignant fibrous histiocytoma of bone-a comparative ultrastructural study: evidence of a spectrum of fibroblastic differentiation. *Ultrastruct. Pathol.* **24**, 83-91.
- Barbacid**, M., Beemon, K., Devare, S.G., 1980a. Origin and functional properties of the major gene product of the Snyder-Theilen strain of feline sarcoma virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **77**, 5158-5162.
- Barbacid**, M., Lauver, A.V., Devare, S.G., 1980b. Biochemical and immunological characterization of polyproteins coded for by the McDonough, Gardner Arnstein, and Snyder-Theilen strains of feline sarcoma virus. *J. Virol.* **33**, 196-207.
- Barbacid**, M., 1981. Cellular transformation by subgenomic feline sarcoma virus DNA. *J. Virol.* **37**, 518-523.
- Barka**, T., Anderson, P.J., 1963. Chapter 10: Phosphatases. In: Barka, T., Anderson, P. J.: Histochemistry. Theory, practice, and bibliography. Hoeber Medical Division, Harper and Row Publisher, Inc., New York, Evanston, London, pp 212-256.
- Beebe**, A.M., Dua, N., Faith, T.G., Moore, P.F., Pedersen, N.C., Dandekar, S., 1994. Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. *J. Virol.* **68**, 3080-3091.
- Berg**, J., Gliatto, J.M., Wallace, M.K., 1990. Giant cell tumor of the accessory carpal bone in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **197**, 883-885.
- Besmer**, P., 1983a. Acute transforming feline retroviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **107**, 1-27.
- Besmer**, P., Snyder, H.W., Jr. Murphy, J.E., Hardy, W.D., Jr. Parodi, A., 1983b. The Parodi-Irgens feline sarcoma virus and simian sarcoma virus have homologous oncogenes, but in different contexts of the viral genomes. *J. Virol.* **46**, 606-613.
- Besmer**, P., Hardy, W.D., Zuckerman, E.E., Bergold, P., Lederman, L., Jr. Snyder, H.W., 1983c. The Hardy-Zuckerman 2-FeSV, a new feline retrovirus with onc gene homology to Abelson-MuLV. *Nature.* **303**, 825-828.
- Bissonnette**, R.P., Echeverri, F., Mahboubi, A., Green, D.R., 1992. Apoptotic cell death induced by c-myc is inhibited by bcl-2. *Nature.* **359**, 552-554.
- Bleiweiss**, I.J., Klein, M.J., Copeland, M. 1996. Breast prosthesis reaction. *Am. J. Surg. Pathol.* **20**, 505-507.
- Boccatto**, P., Briani, G., D'artri, C., Pasini, L., Blanamura, S., Bizzaro, N., 1988. Spindle cell and cartilaginous metaplasia in a breast carcinoma with osteoclastlike stromal cells (a difficult fine needle aspiration diagnosis). *Acta. Cytol.* **32**, 75-78.
- Boerhave**, H., 1977. Quoted in Shimkin MB: Contrary to nature, DHEW Publications No. (NIH) 76-720. Wahington, DC, Departement of Health and Human Services p79.
- Bourne**, J.A., 1983. Handbook of immunoperoxidase staining methods. Immunochemistry Laboratory, DAKO Corporation, Santa Barbara, Kalifornien.
- Brand**, K.G., Buoen, L.C., Brand, I., 1976a. Multiphasic incidence of foreign body-induced sarcomas. *Cancer Res.* **36**, 3681-3683.

- Brand, K.G., Johnson, K.H., Buoen, L.C., 1976b.** Foreign body tumorigenesis, *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **4**, 353-394.
- Brand, K.G., 1994.** Do implanted medical devices cause cancer?. *J Biomaterials applications* **8**, 325-343.
- Brandtzaeg, P., Dale, I., Magne, K., Fagerhol, M.D., 1987.** Distribution of a formalin-resistant myelomonocytic antigen (I1) in human tissues. *Am. J. comp. Pathol.* **87**, 681-699.
- Brandtzaeg, P., Dale, I., Gabrielsen, T.O., 1992.** The leucocyte protein L1 (calprotectin): usefulness as an immunohistochemical marker antigen and putative biological function. *Histopathol.* **21**, 191-196.
- Bravo, R., MacDonald-Bravo, H. 1987.** Existence of the populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during cell cycle: association with DNS replication sites. *J. Cell. Biol.* **105**, 1549-1554.
- Bregmann, C.L., Hirth, R.S., Sundberg, J.P., Christensen, E.F., 1987.** Cutaneous neoplasms in dogs associated with canine oral papillomavirus vaccine. *Vet. Pathol.* **24**, 477-487.
- Brinkley, J.R., Zappiy, M.D., 1980.** An eyelid tumor caused by a migrated hard contact lens. *Ophthalmic surgery.* **11**, 200-202.
- Briscoe, C.M., Lipscomb, T.P., McKinney, L., 1998.** Pulmonary metastasis of a feline vaccination-site fibrosarcoma. *J. Vet. Diagn. Invest.* **10**, 79-82.
- Cameron, A.J., Ott, B.J., Payne, W.S., 1985.** The incidence of adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett's) esophagus. *N. Engl. J. Med.* **313**, 857-859.
- Celis, J.E., Celis, A., 1985.** Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **82**, 3262-3266.
- Celis, J.E., Madsen, P., Celis, A., Nielsen, H.V., Gieser, B., 1987.** Cyclin (PCNA, auxiliary protein of DNA polymerase delta) is a central component of the pathway(s) leading to DNA replication and cell division. *FEBS Lett.* **220**, 1-7.
- Chambers, T.J., 1978.** Multinucleated giant cells. *J. Pathol.* **126**, 125-148.
- Coffin, J.M. 1979.** Structure, replication, and recombination of retrovirus genomes: some unifying hypotheses. *J. Gen. Virol.* **42**, 1-26.
- Coffmann, R.L., Weissmann, I.L., 1981.** B220: a cell-specific member of the T200 glycoprotein family. *Nature.* **19**, 681-683.
- Colbatzky, F., Hermanns, W., 1990.** Über das Vorkommen riesenzelliger Tumoren (Osteoklastome) bei der Katze, *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* **103**, 430-435.
- Colbatzky, F., Hermanns, W. 1993.** Acute megakaryoblastic leukemia in one cat and two dogs. *Vet. Pathol.* **30**, 186-194.
- Collins, R.J.H., Feldman, M., Fordtran, J.S. 1987.** Colon cancer, dysplasia and surveillance in patients with ulcerative colitis: A critical review. *N. Engl. J. Med.* **316**, 1654-1658.
- Collins, T., 1999.** Acute and chronic inflammation. In: *Pathologic basis of disease*, Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T., sixth edition, W. B. Saunders Company. p.83.
- Cook, P.D., Osborne, B.M., Connor, R.L., Strauss, J.F. 1995.** Follicular lymphoma adjacent to foreign body granulomatous inflammation and fibrosis surrounding silicon breast prosthesis. *Am. J. Surg. Pathol.* **19**, 712-717.
- Correa, P., 1988.** A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res.* **48**, 3554-3560.
- Cotran, R.S., 1999.** Cellular Pathology I: Cell injury and cell death, In: *Pathologic basis of disease*, Cotran, R.S., Kumar, V. Collins, T., sixth edition, W. B. Saunders Company. p.18.
- Couto, S.S., Griffey, S.M., Duarte, P.C., Madewell, B.R., 2002.** Feline vaccine-associated fibrosarcoma: morphological distinctions. *Vet. Pathol.* **39**, 33-41.

- Coyne, M.J., Reeves, N.C.P., Rosen, D.K., 1997.** Estimated prevalence of injection-site sarcomas in cats during 1992. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **210**, 249-251.
- Criuckshank, A.H., McConnell, E.M., Miller, D.G., 1963.** Malignancy in scars, chronic ulcers and sinuses. *J. Clin. Pathol.* **16**, 573.
- Dale, I., Fagerhol, M.K., Naesgaard, I., 1983.** Purification and partial characterization of a high immunogenic human leukocyte protein, the L1 antigen. *Eur. J. Biochem.* **134**, 1-6.
- Danks, A.G., Olafson, P., 1939.** Giant-cell sarcoma, *Cornell Vet.* **29**, 68-70.
- Daroca, P.J., Reed, R.J., Martin, P.C., 1990.** Metastatic amelanotic melanoma simulating giant-cell tumor of bone. *Hum. Pathol.* **21**, 978-80.
- Day, M.J., 1998.** Immunohistochemical characterization of the lesion of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *J. Comp. Pathol.* **119**, 135-147.
- De Las Mulas, J.M., Espinosa de los Monteros, A., Carrasco, L., Niel van, M. Fernández, A., 1995.** Immunohistological distribution pattern of intermediate filament proteins in 50 feline neoplasms. *Vet. Pathol.* **32**, 692-701.
- Della Salda, L., Sarli, G., Benazzi, C., Marcato, P., S., 1993.** Giant cells in anaplastic mammary carcinoma of the dog and cat. *J. Comp. Path.* **109**, 345-360.
- De Vico, G., Maiolono, P., 1997.** "Osteoclast-like" giant cells in a feline mammary carcinoma. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* **29**, 153-155.
- Dietrich, D.R., 1993.** Toxicological and pathological applications of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), a novel endogenous marker for cell proliferation, critical review in toxicology. **23**, 77-109.
- Dietrich, D.R., Candrian, R., Marsman, D.S., Popp, J.A., Kaufmann, W.K., Swenberg, J.A., 1994.** Retrospective assessment of liver cell proliferation via PCNA: a comparison with tritiated thymidine. *Cancer letters.* **79**, 45-51.
- Dixon, W.J., 1993.** BMPD statistical software manual, volume 1 and 2. University of California press, Berkeley, Los Angeles, London.
- Doddy, F.D., Glickman, L.T., Janovitz, E.B., 1996.** Feline fibrosarcoma at vaccination sites and non vaccination sites. *J. Comp. Path.* **114**, 165-174.
- Dubielzig, R.R., 1984.** Ocular sarcoma following trauma in three cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **184**, 578-581.
- Dubielzig, R.R., Everitt, J., Shaddock, J.A., Albert, D.M., 1990.** Clinical and morphological features of posttraumatic ocular sarcomas in cats. *Vet. Pathol.* **27**, 62-65.
- Eckstein, F.S., Vogel, U., Mohr, W., 1992.** Fibrosarcoma in association with a total knee prosthesis. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.* **421**, 175-178.
- Eggers, E., Carroll, R., Dubielzig, R., Schulz, R.D., 2002.** Cats differ from mink and ferrets in their response to commercial vaccines: a histologic comparison of early vaccine reactions, *Vet. Pathol.* **39**, 216-227.
- Eisenschmith, S.P., 1993.** PlotIT – Graphics & Statistics. Scientific programming enterprises, Haslett, MI 48840 USA.
- Eisenschmith, S. P. 1994.** PlotIT for Windows. Scientific programming enterprises, Haslett, MI 48840 USA.
- Eldridge, S.R., Butterworth, B.E., Goldsworthy, T.L., 1993.** Proliferating cell nuclear antigen: a marker for hepatocellular proliferation in rodents, *Environ Health Perspect* **101**, 211-218.
- Eldridge, S.R., Goldsworthy, S.M., 1996.** Cell proliferation rates in common cancer target tissues of B6C3F1 mice and F344 rats: effects of age, gender, and choice of marker, *Fund. Appl. Toxicol.* **32**, 159-167.

- Ellis, J.A.,** Jackson, M.L., Bartsch, R.C., McGill, L.G., Martin, K.M., Trask, R., Haines, D.M., 1996. Use of immunohistochemistry and polymerase chain-reaction for detection of oncornaviruses in formalin-fixed, paraffin-embedded fibrosarcomas from cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **209**, 767-771.
- Esplin, D.G.,** McGill, L.D., Meininger, A.C, Wilson, S. R., 1993. Postvaccination sarcomas in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **202**, 1245-1247..
- Evan, G.I.,** Wyllie, A.H., Gilbert, C.S., Littlewood, T.D., Land, H., Brooks, M., Waters, C.M., Penn, L.Z., Hancock, D.C., 1992. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell.* **69**, 119-128.
- Fanidi, A.,** Harrington, E.A., Evan, G.I., 1992. Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogens. *Nature.* **359**, 554-556.
- Fawcett, H.A.,** Smith, N.P., 1984. Injection-site granuloma due to aluminium. *Arch. Dermatol.* **120**, 1318-1322.
- Ferguson, A.R.,** 1911. Associated bilharzioses and primary malignant disease of the urinary bladder, with observations on a series of forty cases. *J. Pathol. Bacteriol.* **16**, 76.
- Flavell, D.J.,** Jones, D.B., Wright, D.H., 1987. Identification of tissue histiocytes on paraffin sections by a new monoclonal antibody. *J. Histochem. Cytochem.* **35**, 1217-1226.
- Foley, J.F.,** Dietrich, D.R., Swenberg, J.A., Maronpot, R. R., 1991. Detection and evaluation of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in rat tissue by an improved immunohistochemical procedure. *J. Histotechnol.* **14**, 237-241.
- Ford, G.H.,** Empson, R.N., Plopper, C.G., Brown, P.H., 1975. Giant cell tumor of soft part. *Vet. Pathol.* **12**, 428-433.
- Frankel, A.E.,** Gilbert, J.H., Porzig, K.J., Scolnick, E.M., Aaronson, S.A., 1979. Nature and distribution of feline sarcoma virus nucleotide sequences. *J. Virol.* **30**, 821-827.
- Gaffey, M.J.,** Lack, E.E., Christ, M.L., Weiss, L.M., 1991. Anaplastic thyroid carcinoma with osteoclast-like giant cells-A clinicopathologic immunohistochemical, and ultrastructural study. *A. J. Surg. Pathol.* **15**, 160-168.
- Gagon, A.C.,** 2000. Drug Injection-associated fibrosarcoma in a cat. *Feline Practice.* **28**, 18-21.
- Gardner, A.W.,** 1959. Trauma and squamous skin cancer. *Lancet.* **1**, 760.
- Gardner, M.B.,** Rongey, R.W., Arnstein, P., Estes, J.D., Sarma, P., Huebner, R.J., Rickard, C.G., 1970. Experimental transmission of feline fibrosarcoma to cats and dogs. *Nature.* **226**, 807-809.
- Garma-Avina, A.,** 1987. Malignant fibrous histiocytoma of the giant cell type in a cat. *J. Comp. Pathol.* **97**, 551-557.
- Garman, R.H.,** Powell, F.R., Tompsett, J.W., 1977. Malignant giant cell tumor in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **171**, 546-548.
- Gasser, A.,** Möst, J., 1999. Generation of multinucleated giant cells in vitro by culture of human monocytes with *mycobacterium bovis* BCG in combination with cytokine-containing supernatants. *Inf. Immun.* **67** 395-402.
- Gavrieli, Y.,** Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A., 1992. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell. Biol.* **119**, 493-501.
- Gerdes, J.,** Pileri, S., Bartels, H., Stein, H., 1986. Der Proliferationsmarker Ki-67: Korrelation zur histologischen Diagnose, zur histologischen Einschätzung des Malignitätsgrades und zum klinischen Verlauf. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **70**, 152-158.
- Gleiser, C.A.,** Raulston, L.G, Jardine, J.H., Gray, K.N., 1979. Malignant fibrous histiocytoma in dogs and cats. *Vet. Pathol.* **16**, 199-208.

- Golschmidt, M.H., Shofer, F.S., 1992.** Cutaneous fibrosarcomas, In: Goldschmidt, M.H., Shofer, F.S.: Skin tumors in dog and cat. Pergamon Press Ltd, Oxford. pp158-178.
- Gobar, G.M., Kass, P.H., 2002.** World wide Web-based survey of vaccination practices, postvaccinal reactions, and vaccine site-associated sarcomas in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **220**, 1477-1482.
- Gordon, L.I., Weitzman, S.A., 1993.** Review Inflammation and cancer. *Cancer Journal.* **6**, 257-261.
- Greenwell, A., Foley, J.F., Maronpot, R.R., 1991.** An enhancement method for immunohistochemistry staining of proliferating cell nuclear antigen in archival rodent tissues. *Cancer Lett.* **59**, 251-256.
- Greenwell, A., Foley, J.F., Maronpot, R.R., 1993.** Detecting proliferating cell nuclear antigen in archival rodent tissues. *Environ. Health. Perspect.* **101**, 207-210.
- Grouls, V., Vogel, J. 1988.** Über das Vorkommen Tartrat-resistenter saurer Phosphatase in verschiedenen mesenchymalen Zellen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **72**, 418-419.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J., 1992.** Fibrocytic tumors, In: Veterinary Dermatopathology, A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease, Mosby-Year Book, Inc, St.- Louis Missouri. pp 413-415.
- Hallowes, R.C., Chesterman, F.C., 1971.** Histochemistry of giant cells in tumors induced in golden hamsters by murine sarcoma virus-Harvey. *Int. J. Cancer.* **7**, 507-512.
- Hampe, A., Gobet, M., Even, J., Sherr, C.J., Galibert, F., 1983.** Nucleotide sequences of feline sarcoma virus long terminal repeats and 5' leaders show extensive homology to those of other mammalian retroviruses. *J. Virol.* **45**, 466-472.
- Hardy, W.D. Jr., Geering, G., Odd, L.J., de Harven, E., 1969.** Feline leukemia virus: occurrence of viral antigen in the tissues of cats with lymphosarcoma and other diseases, *Science.* **166**, 1019-1027.
- Hardy, W. D., 1980.** The biology and virology of the feline sarcoma virus. *Dev. Cancer Res.* **4**, 79-82.
- Hardy, W.D., 1981a,** The feline sarcoma viruses. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **17**, 951-980.
- Hardy, W.D., Zuckerman, E.E., Markovic, R., 1981b.** Isolation of feline sarcoma viruses from pet cats with multicentric fibrosarcomas. In: Yohn, D.S., Blakeslee, J.R. (Eds.): Advances in Comparative leukemia research 1982. Elsevier/North-Holland, New York. p. 205
- Hassan, N.F., Chehimi, J., Ho, W., Campbell, D.E., Douglas, S.D., 1994.** Effect of hematopoietic growth factors on human blood monocytes/macrophages in In vitro culture. *Clin.diagn. lab.immunol.* **1**, 620-625.
- Hausner, R.J., Schoen, F.J., Pierson, K.K., 1978.** Foreign-body reaction to silicon gel in axillary lymph nodes after an augmentation mammoplasty. *Plast. reconstr. surg.* **62.**, 381-384.
- Hayman, J., Huygens, H., 1983.** Angiosarcoma developing around a foreign body. *J. Clin. Pathol.* **36**, 515-518.
- Hendrick, M.J., Dunagan, C.A., 1991.** Focal necrotizing granulomatous panniculitis associated with subcutaneous injection of rabies vaccine in cats and dogs: 10 cases (1988-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **2**, 304-305.
- Hendrick, M.J., Goldschmidt, M.H., 1991.** Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats?, *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **199**, 968.
- Hendrick, M.J., Goldschmidt, M.H., Shofer, F.S., Wang, Y., Solmyo, A.P., 1992.** Postvaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminium. *Cancer Res.* **52**, 5391-5394.
- Hendrick, M.J., Brooks, J.J., 1994.** Postvaccinal sarcomas in the cat: histology and immunohistochemistry. *Vet. Pathol.* **31**, 126-129.

- Hendrick, M.J., Shofer, F.S., Goldschmidt, M.H., Haviland, J.C., Schelling, S.H., Engler, S.J., Gliatto, J.M., 1994.** Comparison of fibrosarcomas that developed at vaccination sites and at nonvaccination sites in cats: 239 cases (1991-1992). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **205**, 1425-1429.
- Hendrick, M.J., Mahaffey, E.A., Moore, F.M., Vos, J.H., Walder, E.J., 1998a.** Histological classification of mesenchymal tumors of skin and soft tissues of domestic animals, In *World Health Organisation international histological classification of tumors of domestic animals, Second series Volume 2.* p 17.
- Hendrick, M.J., 1998b.** Historical review and current knowledge of risk factors involved in feline vaccine-associated sarcomas. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **213**, 1422-1423.
- Hirschberger, J., Kessler, M., 2001.** Das feline Fibrosarkom. *Tierärztl. Praxis* **29**, 66-71.
- Hockenbery, D.M., Zutter, M., Hickey, W., Nahm, M., Korsmeyer, S.J., 1991.** Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **88**, 6961-6965.
- Hunt, P., McConnel, I., 1995.** Variable expression of major histocompatibility complex class II in the domestic cat. *Res. Vet. Sci.* **59**, 195-200.
- Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H., 1981.** Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* **29**, 577-580.
- Irgens, K., 1973.** Isolement d'un virus sarcomatogene felin a partir d'un fibrosarcome spontane du chat: etude du pouvoir sarcomatogene in vivo. *C.R. Acad. Sci.* **276**, 1783.
- Issacson, M., Johnson, D., 1975.** The microanalysis of light elements using transmitted energy loss electrons. *Ultramicroscopy.* **1**, 33-52.
- Jösten, M., 1995.** Differenzierung zwischen Geschwulst-Riesenzellen und osteoklastenähnlichen Riesenzellen in Neoplasien von Katzen und Hunden am immun- und enzymhistochemisch gefärbten Paraffinschnitt. *Journal-Nr. 1879, Diss. Vet. Med., Berlin.*
- Jösten, M., Rudolph, R., 1997.** Methods for the differentiation of giant cells in canine and feline neoplasias in paraffin sections. *J. Vet. Med. A.* **44**, 159-166.
- Kantor, A.F., Hartge, P., Hoover, R.N., Fraumeni, J.F., 1988.** Epidemiological characteristics of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the bladder. *Cancer Res.* **48**, 3853-3855.
- Katenkamp, D., Kosmehl, H., 1990.** Seltene gutartige mesenchymale Tumoren im Haut- und Subcutisbereich mit atypischen bizarren Riesenzellen (pleomorphes Lipom, Riesenzellfibroblastom, atypisches "pseudosarkomatöses" kutanes fibröses Histiocytom). *Pathologie.* **11**, 275-282.
- Kasamaki, S., Tsurumara, M., Kamano, T., Kobayashi, S., Hino, M., Kuwarsur, R., 2000.** A case of inflammatory breast cancer following augmentation mammoplasty with silicone gel implants. *Breast Cancer.* **7**, 71-74.
- Kass, P.H., Barnes, W.G., Spangler, W.L., Chomel, B.B., Culbertson, M.R., 1993.** Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrosarcoma tumorigenesis in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **203**, 396-405.
- Kenney, R.M., Prat, J., Taberner, M., 1984.** Giant-cell tumor-like proliferation associated with a papillary transitional cell carcinoma of the renal pelvis. *Am. J. Surg. Pathol.* **8**, 139-144.
- Khan, A.S., Deobagkar, D.N., Stephenson, J.R., 1978.** Isolation and characterization of a feline sarcoma virus-coded precursor polyprotein. *J. Biol. Chem.* **253**, 8894-8901.
- Kidney, B.A., Ellis, J.A., Haines, D.M., Jackson, M.L., 2000.** Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues obtained from vaccine site-associated sarcomas of cats for DNA of feline immunodeficiency virus. *Am. J. Vet. Res.* **61**, 1037-1041.

- Kidney, B.A., Haines, D.M., Ellis, J.A., Burnham, M.L., Jackson, M.L., 2001a.** Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from vaccine site-associated sarcomas of cats for polyomavirus DNA and antigen. *Am. J. Vet. Res.* **62**, 828-832.
- Kidney, B.A., Haines, D.M., Ellis, J.A., Burnham, M.L., Teifke, J.P., Czerwinski, G., Jackson, M.L., 2001b.** Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from vaccine site-associated sarcomas of cats for papillomavirus DNA and antigen. *Am. J. Vet. Res.* **62**, 833-839.
- Kidney, B.A., Ellis, J.A., Haines, D.M., Jackson, M.L., 2001c.** Comparison of endogenous feline leukemia virus RNA content in feline vaccine and nonvaccine site-associated sarcomas. *Am. J. Vet. Res.* **62**, 1990-1994.
- Kidney, A.B., Haines, D.M., Ellis, J.A., Burnham, M.L., Jackson, M.L., 2002.** Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from feline vaccine site-associated sarcomas for feline foamy virus DNA. *Am. J. Vet. Res.* **63**, 60-63.
- Kipar, A., Kremendahl, J., Addie, D.D., Leukert, W., Grant, C.K., Reinacher, M., 1998a.** Fatal enteritis associated with coronavirus infection in cats. *J. Comp. Pathol.* **119**, 1-14.
- Kipar, A., Bellmann, S., Kremendahl, J., Köhler, K., Reinacher, M., 1998b.** Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **65**, 243-257.
- Kipar, A., Baumgärtner, W., Kremmer, E., Frese, K., Weiss, E. 1998c.** Expression of major histocompatibility complex class II antigen in neoplastic cells of canine cutaneous histiocytoma. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **62**, 1-13.
- Kipar, A., Bellmann, S., Gunn-More, D.A., Leukert, W., Menger, S., Reinacher, M., 1999.** Histopathological alterations of lymphatic tissues in cats without feline infectious peritonitis after long-term exposure to FIP virus. *Vet. Microbiol.* **69**, 131-137.
- Kipar, A., Kremendahl, J., Grant, C.K., von Bothmer, I., Reinacher, M., 2000.** Expression of viral proteins in feline leukemia virus-associated enteritis. *Vet. Pathol.* **37**, 129-136.
- Kipar, A., Köhler, K., Leukert, W., Reinacher, M., 2001.** A comparison of lymphatic tissues from cats with spontaneous feline infectious peritonitis (FIP), cats with FIP virus infection but no FIP, and cats with no lesions. *J. Comp. Pathol.* **125**, 182-191.
- Kipar, A., 2002.** Zur Pathogenese der Felinen Infektiösen Peritonitis. Habilitationsschrift, Giessen, 2002.
- Köhler, K., Kipar, A., Reinacher, M., 2000.** Immunohistological evaluation of haemolymphoid tissue activity in the cat. *Europ. J. Vet. Pathol.* **6**, 107-114.
- Korelitz, B.I., 1983.** Carcinoma of the intestinal tract in Crohn's disease: results of a survey conducted by the national foundation for ileitis and colitis. *Am. J. Gastroenterol.* **78**, 44-46.
- Kovacevic, S., Kipar, A., Kremendahl, J., Teebken-Schuler, D., Grant, C.G., Reinacher, M. 1997.** Immunohistochemical diagnosis of feline leukemia virus infection in formalin-fixed tissue. *Europ. J. Vet. Pathol.* **3**, 13-19.
- Kraus, B., 1980.** Mehrkernige Riesenzellen in Granulomen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **64**, 103-125.
- Kremendahl, J., 1998.** Untersuchungen zur Felinen Leukämievirus-assoziierten Enteritis, Diss. Vet. Med., Leipzig.
- Kurki, P., Vanderlaan, M., Dolbeare, F., Gray, J., Tan, E.M., 1986.** Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) during cell cycle. *Exp. Cell. Res.* **166**, 209-219.
- Kurki, P., Ogata, K., Tan, E.M., 1988.** Monoclonal antibodies to proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) as probes for proliferating cells by immunofluorescence microscopy and flow cytometry. *J. Immunol. Meth.* **109**, 49-59.

- Kyriakou, G.,** Kalahanis, N., Kyroudi-Voulgar, A., Zervas, A., Mitropoulos, D., 2000. Extravesical foreign body presenting as a bladder tumor. *Urol. Int.* **65**, 224-225.
- Lafrado, L.J.,** Lewis, M.G., Mathes, L.E., Olsen, R.G., 1987. Suppression of in vitro neutrophil function by feline leukemia virus (FeLV) and purified FeLV-p15E. *J. Gen. Virol.* **68**, 507-513.
- LeCouteur, R.A.,** Nimmo, J.S., Price, S.M., Pennock, P.W., 1978. A case of giant cell tumor of bone (osteoclastoma) in a dog. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **14**, 356-362.
- Lever, W.F.,** Lever, G.S., 1990. Inflammatory diseases due to physical agents and foreign substances. In: *Histopathology of the skin*, Ed. 7, Philadelphia: J. B. Lippincott Co. p. 246.
- Lewandrowski, K.B.,** Weston, L., Dickersin, G.R., Rattner, D.W., Compton, C.C., 1990. Giant cell tumor of the pancreas of mixed osteoclastic and pleomorphic cell type: evidence for a histogenetic relationship and mesenchymal differentiation. *Hum. Pathol.* **21**, 1184-1187.
- Linden, M.D.,** Torres, F.X., Kubus, J., Tarbo, R.J., 1992. Clinical application of morphologic and immunocytochemical assessments of cell proliferation. *Am. J. Clin. Pathol.* **97**, 4-13.
- Linzbach, A.J.,** 1955. Quantitative Biologie und Morphologie des Wachstums einschließlich Hypertrophie und Riesenzellen, In: Büchner, F., E. Letterer und F. Roulet (Hrsg.): *Handbuch der allgemeinen Pathologie VI*, 1. Teil: Entwicklung und Wachstum. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg. pp254-280.
- Locke, J.R.,** Hill, D.E., Walzer, Y., 1985. Incidence of squamous cell carcinoma in patients with long-term catheter drainage. *J. Urol.* **133**, 1034-1035.
- Lojda, Z.,** Gossrau, R., Schiebler, T.H., 1976. Saure Phosphatase. In: Lojda, Z., Gossrau, R. und Schiebler, T. H: *Enzymhistochemische Methoden*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. pp64-78.
- Lorenz, R.J.,** 1996. *Grundbegriffe der Biometrie (3. Aufl.)*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Lowenfels, A.B.,** Maisonneuve, P., Cavallini, G., Ammann, R.W., Lankisch, P.G., Andrsen, J.R., Dimagno, E.P., Andren-Sandberg, A., Domellof, L., 1993. Pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **328**, 1433-1437.
- Macy, D.W.,** Hendrick, M.J., 1996. The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Prac.* **26**, 103-110.
- Madewell, B.R.,** Gandour-Edwards, R., Edwards, B.F., Walls, J.E., Griffey, S.M., 1999. Topographic distribution of bcl-2 protein in feline tissues in health and neoplasia. *Vet. Pathol.* **36**, 565-573.
- Madewell, B.R.,** Griffey, S.M., McEntee, M.C., Leppert, V.J., Munn, R.J., 2001. Feline vaccine-associated fibrosarcomas: an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999). *Vet. Pathol.* **38**, 196-202.
- Magni, E.,** Lauritzen, A.F., Wilken-Jensen, C., Horn, T., 1991. Malignant giant cell tumor of the uterus. *APMIS Suppl.* **23**, 113-118.
- McDonough, S.K.,** Larsen, S., Brodey, R.S., Stock, N.D., Hardy, W.D., 1971. A transmissible feline fibrosarcoma of viral origin. *Cancer Res.* **31**, 953-954.
- Mechtersheimer, G.,** Stauster, M., Möller, P., 1990. Immunophäntypisierung mehrkerniger Riesenzellen in mesenchymalen Tumoren, Fremdkörper- und Hypersensitivitätsgranulomen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **74**, 655-657.
- Mitchel, R.N.,** Cotran, R.S., 1999. Neoplasia, In: Robbins, *Pathologic basis of disease*, Cotran, R. S., Kumar, V., Collins, T. sixth edition, W.B. Saunders Company, Philadelphia. pp 294-295.
- Monaghan, P.,** Robertson, D., Amos, T.A.S., Dyer, M.J.S., Mason, D., Greaves, M.F., 1992. Ultrastructural localization of the bcl-2 protein. *J. Histochem. Cytochem.* **40**, 1819-1825.

- Monteith**, C.E., Chelack, B.J., Davis, W.C., Haines, D.M., 1996. Identification of monoclonal antibodies for immunohistochemical staining of feline B lymphocytes in frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Can. J. Vet. Res.* **60**, 193-198.
- Moore**, P.F., Rossitto, P.V., Danilenko, D.M., 1990. Canine leukocyte integrins: characterization of a CD18 homologue. *Tissue Antigens.* **36**, 211-220.
- Moore**, G.E., 1991. Foreign body carcinogenesis. *Cancer.* **67**, 2731-2732.
- Moriello**, K.A., 1994. Diseases of skin, In *The Cat: Diseases and clinical management*, edited by Sherding, R. G., 2nd ed. Churchill Livingstone. p1955.
- Morris**, G.F., Mathews, M.B., 1989. Regulation of proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle. *J. Biol. Chem.* **264**, 13856-13864.
- Morrison**, L.M., Homesley, H.D., 1978. Carcinoma of the cervix complicated by a soup spoon. *Obstet. Gynecol.* **51**, 5-6.
- Munday**, J.S., Stedman, N.L., Richey, L.J., 2003. Histology and immunohistochemistry of seven ferret vaccination-site fibrosarcomas. *Vet. Pathol.* **40**, 288-293.
- Müller-Hermelink**, H.K., Kaiserling, E., 1980. Epitheloidzellreaktionen im lymphatischen Gewebe. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **64**, 77-101.
- Murray**, J., 1998. Vaccine injection-site sarcoma in a ferret. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **213**, 955.
- Nakane**, P.K., Pierce, G.B., 1967. Enzyme-labelled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. *J. Histochem. Cytochem.* **50**, 455-460.
- Naharro**, G., Tronick, S.R., Rasheed, S., Gardner, M.B., Aaronson, S.A., Robbins, K.C. 1983. Molecular cloning of integrated Gardner-Rasheed feline sarcoma virus: Genetic structure of its cell-derived sequence differs from that of other tyrosine kinase-coding *onc* genes. *J. Virol.* **47**, 611-619.
- Nambiar**, P.R., Jackson, M.L., Ellis, J.A., Chelack, B.J., Kidney, B.A., Haines, D.M., 2001. Immunohistochemical detection of tumor suppressor gene p53 protein in feline injection site-associated sarcomas. *Vet. Pathol.* **38**, 236-238.
- Nasir**, L., Krasner, H., Argyle, D.J., Williams, A., 2000. Immunotypical analyses of the tumor suppressor protein (p53) in feline neoplasia. *Cancer Lett.* **155**, 1-7.
- Nielson**, S.W., 1952. Extrascapular giant cell tumor in a cat. *Cornell Vet.* **42**, 304-311.
- Oemus**, K., Timmel, H., 1990. Chondroosteoider Mammatumor mit vielkernigen Riesenzellen. *Pathologie*, **11**, 307-312.
- Pace**, L.W., Kreeger, J.M., Miller, M.A., Turk, J.R., Fischer, J.R., 1994. Immunohistochemical staining of feline malignant fibrous histiocytoma. *Vet. Pathol.* **31**, 168-172.
- Paltrinieri**, S., Parodi, R., Cammarata, M., Cammarata, G., Comazzi, S., 1998. Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol, Immunopathol.* **65**, 205-220.
- Pancholi**, P., Mirza, A., Bhardwaj, N., Steinman, R.M., 1993. Sequestration from immune CD4⁺ T-cells of mycobacteria growing in human macrophages. *Science.* **260**, 984-986.
- Patnaik**, A.K., Liu, S.K., Hurvitz, A.I., McClelland, A.J., 1975. Nonhematopoietic neoplasms in cats. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**, 855-860.
- Pedersen**, N.C., Johnson, L., Theilen, G.H., 1984. Biological behavior of tumors and associated retroviremia in cats inoculated with Snyder-Theilen fibrosarcoma virus and the phenomenon of tumor recurrence after primary regression. *Infect. Immun.* **43**, 631-636.
- Pérez**, J., Day, M.J., Martín, M.P., González, S., Mozos, E., 1999. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with feline cutaneous squamous cell

- carcinomas and precancerous lesions (actinic keratosis). *Vet. Immunol. Immunopathol.* **69**, 33-46.
- Pfeiffer**, R.L., Monticello, T., Bouldin, T.W., 1988. Primary ocular sarcomas in the cat. *J. Small Anim. Pract.* **29**, 105-116.
- Pollack**, M.S., Hayes, A., Mooney, S., Pedersen, N.C., Cook, R.G., 1988. The detection of conventional class I and class II I-E homologous major histocompatibility complex molecules on feline cells. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **19**, 79-91.
- Porzig**, K.J., Barbacid, M., Aaronson, S.A., 1979. Biological properties and translational products of three independent isolates of feline sarcoma virus. *Virology.* **92**, 91-107.
- Rasheed**, S., Barbacid, M., Aaronson, S., Gardner, M.B., 1982. Origin and biological properties of a new feline sarcoma virus. *Virology.* **117**, 238-244.
- Reed**, J.C., 1994. Mini review: cellular mechanisms of disease series. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J. Cell Biol.* **124**, 1-6.
- Reinacher**, M., 1987a. Feline leukemia virus-associated enteritis - A condition with feature of feline panleukopenia. *Vet. Pathol.* **24**, 1-4.
- Reinacher**, M., 1987b. Infection with feline leukemia virus detected upon post-mortem examination. *J. Small Anim. Pract.* **28**, 640-649.
- Reinacher**, M., Theilen, G., 1987. Frequency and significance of feline leukemia virus infection in necropsied cats. *Am. J. Vet. Res.* **48**, 939-945.
- Reinacher**, M., 1989. Diseases associated with spontaneous feline leukemia virus (FeLV) infection in cats. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **21**, 85-95.
- Reynolds**, F.H., Van den Ven, W.J., Blomberg, J., Stephenson, J.R., 1981. Involvement of a high-molecular weight polyprotein translational product of Snyder-Theilen feline sarcoma virus in malignant transformation. *J. Virol.* **37**, 643-645.
- Reynolds**, F.H., Van de Ven, W.J.M., Blomberg, J., Stephenson, J.R., 1981. Differences in mechanism of transformation by independent feline sarcoma virus isolates. *J. Virol.* **38**, 1084-1089.
- Reynolds**, F.R., Oroszlan, S., Blomberg, J., Stephenson, J.R., 1982. Tyrosine phosphorylation sites common to transforming proteins encoded by Gardner and Snyder-Theilen FeSV. *Virology.* **122**, 134-146.
- Rideout**, B.A., Moore, P.F., Pedersen, N.C., 1990. Distribution of MHC class II antigens in feline tissues and peripheral blood. *Tissues Antigens.* **36**, 221-227.
- Roessner**, A., Vollmer, E., Zwaldo, G., Sorg, C., Kolve, M., Bassewitz, D.P.V., Wuisman, P., Härle, A., Grundmann, E., 1989. The cytogenesis of macrophages and osteoclast-like giant cells in bone tumors with special emphasis on the so-called fibrohistiocytic tumors, In: Roessner, A. (Hrsg): Current topics in pathology. Vol. 80: Biological characterization of bone tumors, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York. pp205-227.
- Rojko**, J.L., Hoover, E.A., Mathes, L.E., Olsen, R.G., Schaller, J.P., 1979. Pathogenesis of experimental feline leukemia virus infection. *J. Natl. Cancer Inst.* **63**, 759-768.
- Rojko**, J.L., Hoover, E.A., Quackenbush, S.L., Olsen, R.G., 1982. Reactivation of latent feline leukemia virus infection. *Nature.* **298**, 385-388.
- Rojko**, J.L., Hardy, W.D. Jr., 1994. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding, R. G. (ed.): The Cat: Diseases and clinical management, 2nd ed., Churchill Livingstone, New York. pp: 263-432.
- Rosai**, J., 1990. Liver cell carcinoma with osteoclast-like giant cells: nonepitheliogenic giant cells in diverse malignancies. *Hepatology elsewhere.* **12**, 782-783.
- Rosenbaum**, R.M., 1964. Kapitel I. Methods for the intracellular localization of enzymes. In: Graumann, W. und K. Neumann (Hrsg): Handbuch der Histochemie. Bd VII: Enzyme.

Vierter Teil: Intrazelluläre Lokalisation der Enzyme. Enzyme bei der Ontogenese. Bearbeitet von R. M. Rosenbaum und F. Rossi, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart. pp2-20.

Rosenberg, Z.F., Sahagan, B.G., Snyder, H.W. Jr, Worley, M.B., Essex, M., Haseltine, W. A., 1981. Biochemical characterization of cells transformed via transfection of feline sarcoma virus proviral DNA. *J. Virol.* **38**, 782-788.

Rudmann, D.G., Vanalstine, W.G., Doddy, F., Sandusky, G.E., Barkdull, T., Janovitz, E.B., 1994. Pulmonary and mediastinal metastases of a vaccination-site sarcoma in a cat. *Vet. Pathol.* **33**, 466-469.

Ryan, W.L., Stenback, F., Curtis, G.L., 1981. Tumor promotion by foreign bodies. *Cancer Lett.* **13**, 299-302.

Sachs, L., 1992 *Angewandte Statistik* (7. Aufl.). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokio.

Sadanaga, N., Kuwana, H., Watanabe, M., Maekawa, S., Mori, M., Sugimachi, K., 1994. Local immune response to tumor invasion in esophageal squamous cell carcinoma. The expression of human leukocyte antigen-DR and lymphocyte infiltration. *Cancer.* **74**, 586-591.

Salm, R., Sisson, H.A., 1970. Giant-cell tumors in soft tissues. *J. Pathol.* **107**, 27-39.

Sandersleben, J. von, 1989. Geschwülste, In: Sandersleben, J. von, Dämmrich, K., Dahme, E.: *Pathologische Histologie der Haustiere*. 3. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York. pp42-75.

Sandusky, G., Teter, K., Holloway, D., 1993. PCNA and Ki-67, immunostaining in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues from various domestic animals. *Vet. Pathol.* **30**, 450.

Sarma, P.S., Log, T., 1971. Viral interference in feline leukemia-sarcoma complex. *Virology.* **44**, 252-258.

Sarli, G., Benazzi, C., Preziosi, R., Marcato, P.S., 1995. Assessment of proliferation activity by anti-PCNA monoclonal antibodies in formalin fixed, paraffin-embedded samples and correlation with mitotic index. *Vet. Pathol.* **32**, 93-96.

Sarli, G., Benazzi, C., Preziosi, R., Della Salda, L., Bettini, G., Marcato, P.S., 1999. Evaluating mitotic activity in canine and feline solid tumors: standardizing the parameters. *Biotechnic. Histochem.* **74**, 64-76.

Sava, G., Ceschia, V., Pacor, S., Zabucchi, G., 1991. Observations on the antimetastatic action of lysozym in mice bearing Lewis lung carcinoma. *Anticancer Research.* **11**. 1109-1114.

Schäfer, H.E, Fischer, R., 1977. Aussagemöglichkeiten des zytochemischen Nachweises saurer Phosphatase an konventionellen Paraffinschnitten. *Zbl. allg. Pathol. pathol Anat* **121**, 577.

Schmitt, E., Meuret, G., Stix, L., 1977. Monocyte recruitment in tuberculosis and sarcoidosis. *Br. J. Haematol.* **35**, 11-17.

Schmitt, C.A., Lowe, S.W., 1999. Apoptosis and therapie. *J. Pathol.* **187**, 127-137.

Schneider, T., Renney, J., Hayman, J., 1997. Angiosarcoma occurring with chronic osteomyelitis and residual material: case report of a late world war II wound complication. *Aust. N. Z. J. Surg.* **67**, 576-587.

Schniewind, A., 1982. Vorkommen und Infektionen mit dem feline Leukämievirus (FeLV) im Raum Giessen und Augsburg, *Vet. Med. Diss. Giessen*.

Schuh, A.C., Keating, S.F., Monteclaro, F.S., Vogt, P.K., Breitman, M. L., 1990. Obligatory wounding requirement to tumorigenesis in v-jun transgenic mice. *Nature.* **346**, 756-760.

Schulz, A., Delling, G., 1980. Cytopathogenese und ultrastrukturelle Funktionsmorphologie mehrkerniger Riesenzellen in Knochentumoren und tumorähnlichen Läsionen. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* **64**, 290-294.

- Schultze**, A.E., Frank, L.A., Hahn, K.A., 1997. Repeated physical and cytological characterization of subcutaneous postvaccinal reactions in cats. *Am. J. Vet. Res.* **58**, 719-724.
- Shalaby**, F., Schuh, A.C., Breitman, M.L., 1994. Two distinct target cells for *v-jun*-mediated wound tumorigenesis. *Oncogene*. **9**, 2579-2588.
- Sherr**, C.J., Fedele, L.A., Donner, L., Turek, L.P., 1979. Restriction endonuclease mapping of unintegrated proviral DNS of Snyder-Theilen feline sarcoma virus: Localisation of sarcoma-specific sequences. *J. Virol.* **32**, 860-875.
- Slater**, D.N., Underwood, J.C.N., Durrant, T.E., Gray, T., Hopper, I.P., 1982. Aluminium hydroxid granulomas: light and electron microscopic studies and x-ray microanalyses. *Br J. Dermatol.* **107**, 103-108.
- Slauson**, D.O., Osburn, B.I., Shifrine, M., Dungworth, D. L., 1975a. Regression of feline virus-induced sacomas in dogs. I. Morphological investigations. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**, 361-370.
- Slauson**, D.O., Osburn, B.I., Shifrine, M., Dungworth, D.L., 1975b. Regression of feline virus-induced sacomas in dogs. II. Immunologic investigations. *J. Natl. Cancer Inst.* **54**, 371-377.
- Snyder**, S.P., Theilen, G.H., 1969. Transmissible feline fibrosarcoma. *Nature*. **221**, 1074-1075.
- Snyder**, S.P., Theilen, G.H., Richards, W.P.C., 1970. Morphological studies on transmissible feline fibrosarcomas. *Cancer Res.* **30**, 1658-1667.
- Snyder**, S.P., 1971. Spontaneous feline fibrosarcomas: Transmissibility and ultrastructure of associated virus-like particles. *J. Natl. Cancer Inst.* **47**, 1079-1085.
- Snyder**, S.P., Dungworth, D.L., 1973. Pathogenesis of feline viral fibrosarcoma: Dose and age effect. *J. Natl. Cancer Inst.* **51**, 793-798.
- Soler**, P., Bernaudin, J.F., 1993. Physiology of granulomas. *Rev. Pneumol. Clinique.* **49**, 257-261.
- Springer**, T.A., 1990. Leucocyte adhesion to cells. *Scand. J. Immunol.* **32**, 211-216.
- Sternberger**, L.A., Jr. Hardy, P.H., Cuculis, J.J., Meyer, H.G., 1970. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* **18**, 315-333.
- Stiglmaier-Herb**, M.T., 1987. Hauttumoren bei Katzen - eine retrospektive Studie, *Tierärztl. Umschau.* **42**, 681-686.
- Stiglmaier-Herb**, M.T., Ortmann, U., 1987. Die Fibrosarkome der Katze unter besonderer Berücksichtigung ihrer Dignität. *Kleintierpraxis.* **32**, 75-79.
- Takahashi**, M., 1987. Zellveränderungen, die Malignität vortäuschen, In: Takahashi, M.: Farbatlas der onkologischen Zytologie. Dt. Übers. der 2. engl. Aufl., übers. von E. Bayer-Pietsch u. M. Stolte, peimed-Fachbuch-Verlags-Gesellschaft, Erlangen. pp50-56.
- Takehita**, S., Kaji, K., Kudo, A., 2000. Identification and characterization of the new osteoclast progenitor with macrophage phenotypes being able to differentiate into mature osteoclasts. *J. Bone Mineral. Res.* **15**, 1477-1488.
- Teter**, K.P., Holoway, D.C., Sandusky, G.E., 1995. Assesment of PCNA (19A2) and Ki-67 (MIB1) cell proliferation marker in formalin fixed tissues. *J. Histochem.* **18**, 2-6.
- Theilen**, G.H., Schalm, O.W., Pedersen, N.C., 1976. Myeloproliferative disorders and associated leukemias in the cat: pathogenesis, diagnosis, cytology, therapy and control. *Proc. Am. Anim. Hosp. Assoc.* **43**, 171-175.

- Thoolen**, R.J., Vos, J.H., van der Linde-Sipman, J.S., de Weger, R.A., van Unnik J.A., Misdorp, W., van Dijk, J.E., 1992. Malignant fibrous histiocytomas in dogs and cats: an immunohistochemical study. *Res. Vet. Sci.* **53**, 198-204.
- Tizard**, I.R., 1996. *Veterinary Immunology* (5th edition), W.B. Saunders Company, Philadelphia. pp 59-64.
- Toyosawa**, S., Ogawa, Y., Chang, C.K., Hong, S.S., Yagi, T., Kuwahara, H., Wakasa, K., Sakurai, M., 1991. Histochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase and carbonic anhydrase isoenzyme-II in osteoclast-like giant cells in bone tumors. *Virchows Arch. (A)* **418**, 255-262.
- Vascellari**, M., Melchiotti, E., Bozza, M.A., Mutinelli, F., 2003. Fibrosarcomas at presumed sites of injection in dogs: characteristics and comparison with non-vaccination site fibrosarcomas and feline post-vaccinal fibrosarcomas. *J. Vet. Med. A.* **50**, 286-291.
- Vincent**, J.B., Averill, B.A., 1990. An enzyme with a double identity: purple acid phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase. *FASEB J.* **4**, 3009-3014.
- Vollmer**, E., Roessner, A., Wuisman, P., Härle, A., Grundmann, E., 1989. The proliferation behavior of bone tumors investigated with the monoclonal antibody Ki-67. In: Roessner, A. (Hrsg.) *Current topics in pathology*. Vol 80: Biological characterization of bone tumors, Springer-Verlag Berlin. pp91-114.
- von Bothmer**, I., Reinacher, M., 1999. Expression von Proteinen des Felinen Leukämievirus (FeLV) in verschiedenen Zellen und Geweben bei unterschiedlichen Krankheitsbildern nach spontaner Infektion (Abschlussbericht des DFG-Projektes Re 532/5-1 vom 01. Juni 1999)
- Wittmer**, G., 1993. Statistische Untersuchungen zur Infektion mit dem felinen Leukämievirus (FeLV) bei Sektionskatzen. *Vet Med Diss. Giessen*.
- Woog**, J., Albert, D.M., Gondor, J.R., Carpenter, J.J., 1983. Osteosarcoma in a phthisical feline eye. *Vet. Pathol.* **20**, 209-214.
- Wyllie**, A.H., Morris, R.G., Smith, A.L., Dunlop, D., 1980, Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* **68**, 251-306.
- Wyllie**, A.H., Morris, R.G., Smith, A.L., Dunlop, D., 1984. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J. Pathol.* **142**, 67-77.
- Ziemiecki**, A., Hennig, D., Gardner, L., Ferdinand, F.J., Friis, R.R., Bauer, H., Pedersen, N.C., Johnson, L., Theilen, G.H., 1984. Biological and biochemical characterization of a new isolate of feline sarcoma virus, Theilen-Pedersen (TPI-FeSV). *Virology.* **138**, 324-331.
- Zukerberg**, L.R., Armin, A.R., Pisharodi, L., Young, R.H., 1990. Transitional cell carcinoma of the urinary bladder with osteoclast-like giant cells. A case report of two cases and review of the literature. *Histopathology.* **17**, 407-411.

7. Anhang

7.1 Makroskopische Befunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

7.2 Makroskopische Befunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

7.3 Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den feline Fibrosarkomen

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
9945	98	11 Jahre	männl. k.	Thorax	Taubeneigroßer Knoten, SF: Homogen weiß mit strahligen Anteilen
9895	98	6 Jahre	weibl.	Schulterblatt	3 apfelsinenscheibengroße derbe UV, SF: stellenweise braun
9807	98	7 Monate	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten SF: grau-weiß, homogen
9596	98	15 Jahre	weibl.	Oberschenkel Biopsie,	Oberfläche schwarz
9566	98	8 Jahre	männl. k.	Schulterblatt	Erbsengroße Knoten in Unterhaut SF: weiß, glasig
9556	98	13 Jahre	weibl.	Hals	unregelmäßiges Gebilde, SF: grau-beige
9505	98	2 Jahre	männl.	Lende	Haselnußgroßer Knoten, SF: beige glasig, fadenziehend mit Hohlraum
9494	98	11 Jahre	weibl. k.	Thorax	Dattelgroßer Knoten SF: weiß, fasrig
9456	98	12 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Bohnengroße Knötchen in der Unterhaut
9355	98	k. A.	weibl.	Oberschenkel	Pflaumengroßer, zerklüfteter Knoten, grau-weiß
9155	98	5 Jahre	männl. k.	Schulterblatt	Pflaumengroßer fester Knoten, SF: weiß
9085	98	2 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: weiß, fasrig
9010	98	12 Jahre	männl.	Thorax	Kirschgroß ulzerierter Knoten, SF: weiß, fasrig
8977	98	14 Jahre	männl. k.	Schulterblatt	5 cm großer, 2cm hoher Knoten, SF: weiß, fasrig
8913	98	7 Jahre	männl. k.	Nacken	Kirschgroße UV, SF: fasrig, fadenziehend
8737	98	11 Jahre	männl.k.	Hals	Kirschgroßer Knoten, SF: weiß, glasig
8594	98	12 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	4 cm großer, 2 cm hoher Knoten SF: weiß, knotig
8329	98	9 Jahre	männl.	Schulterblatt	unregelmäßig geformte UV, SF: weiß, teils fadenziehend
8268	98	9 Jahre	weibl.	Rücken	Walzenförmig, deformiert, fest, dattelgroß SF: weiß, fasrig
8191	98	9 Jahre	weibl.k.	Thorax	Paranußgroßer Knoten, SF: weiß, fasrig
8174	98	7 Jahre	männl.	Thorax	Walnußgroßer Knoten,, zottig SF: Hohlraum mit Inhalt
8160	98	9 Jahre	männl.	Thorax	Paranußgroßer Knoten, SF: weiß, glasig
8105	98	7 Jahre	weibl.k.	Flanke	3cm großer, 2 cm hoher derber Knoten an linker Flanke SF: weiß, faserig
7895	98	10 Jahre	männl. k.	Thorax	unregelmäßiger Knoten in der Haut, SF: Hohlraum
7845	98	k. A.	weibl.	Lende	3 bohnen große unregelmäßige Knoten in der Haut, SF: weiß
7799	98	13 Jahre	weibl.	Flanke	Dattelgroßer Knoten, SF: beige, fasrig, derb

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
7767	98	12 Jahre	männl.k.	Nacken	2 UV zusammen tischtennisballgroß, SF: weiß, fasrig
7725	98	11 Jahre	weibl. k.	Thorax	Mehrere Knoten in Haut, ca. kastaniengroß, SF: weiß, fasrig
7705	98	3 Jahre	männl.	Rücken	13 cm großer ulzerierender Knoten, SF: weiß, fasrig
7695	98	7 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer höckriger Knoten, SF: weiß, glasig
7674	98	6 Jahre	weibl. k.	Thorax	Walnußgroßer Knoten, SF: weiß, fasrig, derb
7653	98	14 Jahre	weibl.	Rücken	Kastaniengroßer Knoten, SF: Hohlraum, fest, weiß mit kleinen Zysten
7637	98	13 Jahre	weibl.	Flanke	Unregelmäßiger Knoten an linker Flanke, SF: weiß, fasrig
7584	98	8 Jahre	männl. k.	Rücken	18 cm großer, 5 cm hoher Knoten in Haut auch im Fettgewebe teils Knoten
7485	98	k. A.	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: glasig, weiß
7464	98	16 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten mit Hohlraum
7236	98	14 Jahre	weibl.	Schulter	3 mandelkerngroße UV, SF: grau-weiß
7208	98	8 Jahre	männl.	Rücken	Bohnengroße UV und erbsengroße Ulzeration SF: weiß, strahlig
7180	98	15 Jahre	männl.k.	Schulter	Tischtennisballgroßer Knoten weiß, strahlig, teils glitschig
7121	98	6 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Pflaumengroßer derber Knoten SF: stark verknöchert
7056	98	8 Jahre	weibl.	Rücken	Walnußgroße, grobe UV
7009	98	k. A.	männl.	Thorax	Kirschgroße UV
6953	98	12 Jahre	weibl.	Thorax	2 bohnen große UV, SF: grau-weiß
6952	98	5 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Walnußgroße UV, SF: grob, grau-weiß
6894	98	13 Jahre	männl.	Thorax	Hühnereigroßer UV, SF: grau-weiß
6740	98	11 Jahre	männl.	Nacken	Kirschgroßer grau-weißer Knoten
6669	98	9 Jahre	weibl.	Thorax	Hühnereigroßer, höckriger Knoten SF: grau-weiß
6649	98	k. A.	weibl.k.	Thorax	Dattelgroße, grau-weiße solide UV
6614	98	8 Jahre	männl.k.	Thorax	Haselnußgroße, derbe UV
6249	98	5 Jahre	männl.	Thorax	3x4x2 cm UV, SF: homogen weiß, zentral leicht zystisch
6131	98	10 Jahre	weibl.	Thorax	Walzenförmige 4 cm UV, SF: weiße Nekrosen
6125	98	10 Jahre	männl.	Thorax	Pflaumengroße UV an linker Brustwand SF: weiß-grau

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
6122	98	10 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschkerne große UV
5947	98	8 Jahre	männl.k.	Thorax	Kirschkerne große UV, SF: homogen, weiß, strahlig
5847	98	4,5 Jahre	männl.k.	Thorax	Pflaumengroße höckerige UV
5734	98	4 Jahre	männl.	Schulterblatt	Pfirsichkerne große Knoten, SF: grau-weiß, gefeldert, bräunliche Arealen
5688	98	6 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Apfelsinengroßer Knoten mit zentralen Hohlräumen
5651	98	13 Jahre	weibl.	Flanke	Pflaumengroßer Knoten mit Fettgewebe SF: grau-weiß lobuliert
5614	98	8 Jahre	k. A.	Thorax	Junghennenei großer Tumor SF: grau-weiß, strahlig
5495	98	12 Jahre	männl.	Hals	Hühnereigroße UV, SF: grau-weiß
5490	98	8 Jahre	männl.k.	Thorax	Kirschgroßer Knoten, solide, derb SF: grau-weiß
5468	98	11 Jahre	männl.k.	Thorax	Haselnußgroßer grau-weiß lobulierter Herd invasiv
5331	98	8 Jahre	männl.	Hals	Tischtennisballgroßer Knoten mit Zysten SF: grau-weiß
5107	98	5 Jahre	weibl.	Hals	5 cm lange UV mit erbsengroßer rot-brauner Struktur
5065	98	14 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Walnußgroßer Knoten SF: grau-weiß
5032	98	8 Jahre	männl.k.	Schulter	Stecknadelkopfgroße UV, SF: grau-weiß
4977	98	8 Jahre	männl.k.	Rücken	Handtellergröße UV in der Haut SF: grau-weiß
4719	98	1 Jahr	weibl.k.	Thorax	Handtellergröße UV, ulzerierend, SF: grau-weiß
4700	98	14 Jahre	männl.	Rücken	Handtellergröße UV, SF: grob gefeldert, grau-weiß
4483	98	12 Jahre	weibl.k.	Flanke	Gänseeigroße UV
4475	98	13 Jahre	weibl.k.	Thorax	2 handtellergröße UV
4460	98	7 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroße UV, SF: gefeldert, teils mit knorpeligen weißen Arealen
4338	98	7 Jahre	weibl.	Thorax	Junghenneneigroße UV, SF: grau-weiß, strahlig, zystisch
4232	98	10 Jahre	männl.k.	Thorax	Bohnengroße, zerklüftete UV
4090	98	6 Jahre	männl.	Schulterblatt	Tischtennisballgroßer Knoten
4071	98	12 Jahre	weibl.k.	Thorax	Unregelmäßiger, kirschgroßer Knoten, SF: weiß, fasrig
3977	98	14 Jahre	männl.	Schulter	Unregelmäßiger, haselnußgroßer Knoten
3960	98	10 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Haselnußgroßer fasriger Knoten in der Unterhaut

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
3756	98	k. A.	weibl.	Thorax	Hühnereigroße UV
3732	98	14 Jahre	männl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten in der Haut, SF: grau-weiß
3696	98	k. A.	weibl.	Thorax	Unregelmäßiges Gebilde, 6 cm lang, teils glasig, teils fasrig
3641	98	8 Jahre	weibl.	Flanke	Pflaumengroßer Knoten, teils beige-braun marmoriert
3626	98	8 Jahre	männl.k.	Thorax	2 cm große UV, teils fest
3356	98	13 Jahre	weibl.k.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten
3316	98	5 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Walzenförmige 6 cm lange UV, SF: weiß, fasrig
3308	98	12 Jahre	weibl.	Hals	Pflaumengroßer Knoten, SF: weiß, fasrig, zentral hohl
3270	98	k. A.	weibl.	Oberschenkel	Bohnengroße UV
3250	98	25 Jahre	männl.	Thorax	Pflaumengroße weiche UV und eine feste fadenziehende GP
3188	98	13 Jahre	männl.	Schulterblatt	5 cm großer Knoten, SF: fasrig, weiß mit Hohlraum
3181	98	2 Jahre	männl.k.	Rücken	Hühnereigroßer weißer Knoten, SF: weiß, fasrig
3167	98	16 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroße UV, SF: weiß, fasrig
3146	98	12 Jahre	männl.k.	Nacken	Dattelgroßer Knoten, SF: fasrig mit Hohlräumen
3134	98	13 Jahre	männl.	Schulterblatt	Haselnußgroßer fasriger Knoten
3079	98	13 Jahre	weibl.	Thorax	6x3 cm Knoten, ulzerierend, zentral hohl, weiß, fest
3064	98	16 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer glatter Knoten SF: weiß-fasrig mit Hohlraum
2990	98	11 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: weiß, glasig
2934	98	12 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroße UV, SF: knotig gefeldert, grau-weiß
2899	98	13 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Bohnengroße UV, SF: grau-weiß, derb
2703	98	10 Jahre	männl.	Hüfte	Flaches, festes Gebilde, SF: weiß, fasrig
101	99	14 Jahre	weibl.k.	Rücken	Tischtennisballgroßem Knoten in der Unterhaut
113	99	11 Jahre	männl.k.	Schulter	Kirschgroßer weiß lobulierter Herd in Epidermis
129	99	9,5 Jahre	weibl.	Thorax	Haselnußgroße Knoten, SF: weiß strahlig
159	99	10 Jahre	weibl.k.	Thorax	Walnußgroße GP, SF: grau-weiß, lobuliert
335	99	8 Jahre	weibl.k.	Schulter	Walnußgroße beige GP

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
517	99	14 Jahre	weibl.	Thorax	6 cm große GP, weiß-strahlig fasrig mit bohnen große braunem Herd
539	99	k. A.	k. A.	Thorax	Erbsengroße, gelb-braune weiche GP
722	99	8 Jahre	weibl.k.	Flanke	Bohnengroße, gelb-weiße GP, Grenze vorhanden
785	99	11 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	10 Pfennigstückgroße GP, SF: weiß-strahlig, derb
882	99	17 Jahre	männl.k.	Thorax	Hühnereigroße UV mit gefülltem Hohlraum 5-10 cm breiter Saum
920	99	12 Jahre	männl.k.	Kruppe	3 geformte ca. dattelgroße graue GP
947	99	5,5, Jahre	männl.k.	Thorax	Enteneigroße GP, höckrig, grau-weiß, derb
1139	99	7 Jahre	männl.	Thorax	Kirschgroße, grau-weiße, solide GP mit zentraler zystischer Einschmelzung
1192	99	12 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Hühnereigroßer Knoten, grau-weiß, solide mit zystischer Einschmelzung
1256	99	10 Jahre	weibl.k.	Thorax	Hhaselnußgroß, grau-weiß, derb
1440	99	14 Jahre	weibl.	Thorax	Erbsengroß grau-weiß, derb
1514	99	15 Jahre	weibl.k.	Rücken	Walnußgroß, derb
1606	99	8 Jahren	weibl.	Rücken	Pflaumengroß HGP, SF: weiß, strahlig
1697	99	10 Jahre	männl.	Thorax	Walnußgroße GP, mit Haut SF: weiß, strahlig
1733	99	10 Jahre	weibl.	Hals	Pflaumengroße, höckrige GP, SF: weiß-rötlich
1905	99	10 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroße HGP mit Fett, SF: lobuliert
2049	99	11 Jahre	weibl.k.	Flanke	Pflaumengroße HGP, SF: weiß-grau lobuliert, teils mit braunen Hohlräumen
2264	99	16 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Apfelningroße höckrige GP, SF: rot-weiß, strahlig
2283	99	13 Jahre	weibl.	Schulterblatt	3cm große flache GP, SF: weiß gelb erbsengroß
2491	99	9 Jahre	weibl.k.	Nacken	Junghenneneigroß, scharf begrenzt Knoten mit Haut
2657	99	6 Jahre	weibl.	Thorax	Apfelningroßer, grau-weißer, strahliger Knoten, scharf begrenzt, derb
2806	99	13 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroß, derber unscharfer Knoten im Fettgewebe
3101	99	k. A.	k. A.	Oberschenkel	Kirschgroße, grau-weiß, höckrig
3192	99	8 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Pflaumengroßer Knoten, SF:weiß-grau, strahlig
3370	99	16 Jahre	weibl.k.	Thorax	Handtellergröße 4 cm dick mit Haaren, ulzerierend derb, grau-weiß, lobuliert
3447	99	9 Jahre	weibl.	Thorax	Dattelgroß von Haut bedeckt, derb, grau-weiß, strahlig

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
3556	99	6 Jahre	weibl.	Thorax	Daumengroß mit Haut, derb, grau-weiß, lobuliert
3693	99	9 Jahre	weibl	Schulter	Grau-weiß, lobuliert mit soliden Anteilen
3702	99	15 Jahre	weibl.k.	Flanke	Pflaumengroß, knotiges Hautstück mit Ulzeration, SF: multipel, grau-weiß
3742	99	6 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Spindelgroßes Hautstück mit anhängendem Fett
3779	99	13 Jahre	weibl.k.	Schulter	Erbsengroße homogenes Knötchen in Haut
3882	99	k. A.	männl.k.	Hüfte	Kirschgroßer Knoten mit Haut
3954	99	12 Jahre	männl.	Schulter	Tischtennisballgroßer Knoten in Unterhaut, bräunlich lobuliert mit Inhalt
4078	99	10 Jahre	weibl.k.	Thorax	Junghenneneigroß, SF: gelb-weiß, strahlig derb
4146	99	11 Jahre	männl.k.	Schulter	5DM Stück groß ,SF: erbsengroßes weiches Knötchen
4192	99	2 Jahre	männl.	Nacken	Junghenneneigroß, SF: grau-weiß
4207	99	13 Jahre	männl.k.	Thorax	6x3cm, SF: homogen weiß
4265	99	5 Jahre	weibl.	Rücken	Pflaumengroß, zerklüftet SF: grau-weiß strahlig
4462	99	8 Jahre	männl.	Thorax	Walnußgroß SF: kirschgroße weiße UV
4500	99	11 Jahre	männl.k.	Flanke	Mandarinengroß, SF: weiß-strahlig mit Hohlraum
4754	99	12 Jahre	k. A.	Nacken	Kirschgroßer Knoten, SF: grau-weiß
4804	99	10 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroß, SF: grau-weiß
4814	99	17 Jahre	weibl.k.	Hals	Walnußgroß, SF: grau-weiß derb
4928	99	5,5 Jahre	weibl.	Thorax	Dattelgroß, SF: grau-weiß
4931	99	13 Jahre	männl.k.	Thorax	Bohnengroß, SF: grau-weiß
5062	99	7 Jahre	weibl.	Thorax	Handtellergroß, zentral nekrotisch SF: grau-weiß
5111	99	16 Jahre	weibl.	Thorax	Hühnereigroß, grau-weiß, solide
5116	99	12 Jahre	männl.k.	Schulter	Taubeneigroß, grau-weiß, solide, zentral zystische Nekrose
5125	99	9 Jahre	weibl.k.	Thorax	Erbsengroß, grau-weiß, solide
5241	99	8 Jahre	weibl.	Thorax	Walnußgroß, grob-knotig, lobuliert, grau-weiß, solide
5263	99	12 Jahre	weibl.	Nacken	Hühnereigroß, grau-weiß solide, grob-knotig mit Nekrose
5274	99	7 Jahre	weibl.k.	Rücken	Kirschgroß, scharf begrenzt, grau-weiß, solide mit Nekrose

Tabelle 7 : Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
5363	99	16 Jahre	weibl.	Thorax	Bohnengroß, grau-weiß, derb
5544	99	11 Jahre	weibl.	Hals	2 pflaumengroße Knötchen SF: weiß-strahlig
5620	99	k. A.	weibl.	Flanke	Tischtennisballgroße GP, SF: grau-weiß strahlig
5689	99	14 Jahre	weibl.k.	Hals	Mandelgroße HGP, SF: erbsengroß, zystisch
5724	99	13 Jahre	männl.	Thorax	Kirschgroße GP, SF: grau-braun
5876	99	8 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Zwetschengroße HGP, SF: herdförmig, grau-weiß
6067	99	6 Jahre	männl.k.	Rücken	Taubeneigroß-höckrig, SF: grau-weißes, strahliges Knötchen
6071	99	10 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Junghenneneigroßer Knoten mit Haut, SF: grau-weiß, strahlig
6234	99	7 Jahre	männl.k.	Schulter	Gut pflaumengroßer Knoten, SF: grau-weiß, derber Herd
6267	99	16 Jahre	männl.	Thorax	Walnußgroßer Knoten; SF: weiß
6284	99	13 Jahre	männl.	Lende	3 gut pflaumengroße Knoten, SF: grau-weiß, solide oder strahlig
6345	99	4 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Tischtennisball großer Knoten, grau-braun
6486	99	6 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroßes solides grau-weißes, Knötchen
6582	99	8 Jahre	männl.	Hals	Hühnereigroß, höckriger Knoten SF: blumenkohllartig
6755	99	7 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroß, grau-weiß, derb
6774	99	k. A.	k. A.	Schulter	Stecknadelkopfgroße GP
6798	99	13 Jahre	weibl.	Lende	Pflaumengroße HGP mit braun-weißen Anteilen mit Hohlraum
6936	99	10 Jahre	männl.k.	Rücken	Tischtennisballgroße UV, SF: walnußgroß
7119	99	8 Jahre	männl.k.	Nacken	10 Pfennigstückgroß, SF: mehrere grau-weiße Herde
7176	99	9 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Pfenniggroßer derber Knoten weiß, strahlig
7259	99	11 Jahre	weibl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: grau-weiß, blumenkohllartig gefeldert
7336	99	17 Jahre	männl.	Thorax	Apfelgroße HGP, grau-weiß
7515	99	11 Jahre	weibl.	Thorax	Markstückgroße ulzerierende HGP SF: grau-weiß
7561	99	1 Jahr	männl.	Nacken	Pflaumengroße HGP, zystisch
7570	99	11 Jahre	weibl.	Oberschenkel	Bohnengroße HGP
7579	99	12 Jahre	weibl.k.	Hals	Kirschgroße HGP, weiß-strahlig

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
7750	99	5 Jahre	männl.k.	Thorax	5x3 cm große HGP, ulzeriert SF: grau-weiß
7763	99	10 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroßer Knoten mit Hohlraum
7855	99	6-8 Jahre	männl	Thorax	Fingergroße GP, gequetscht, weitgehend knorpelig
7880	99	8 Jahre	weibl	Schulterblatt	5 DM Stück große 1 cm dick, derb, grau-weiß, lobuliert
7889	99	k. A.	k. A.	Thorax	Mandarinengroßer Knoten; SF: grau-weiß
7891	99	13 Jahre	weibl.	Rücken	Derber kirschgroßer Knoten
8057	99	14 Jahre	männl.	Schulterblatt	Pflaumengroße zerklüftete GP, SF: grau-weiß, derb
8113	99	13 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Pflaumengroße GP derb grau-weiß, strahlig zystisch
8167	99	k. A.	k. A.	Rücken	Lobulierte gut erbsengroßer Knoten, SF: grau-weiß
8170	99	5 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Pflaumengroße UV, SF homogen, weiß, derb
8190	99	11 Jahre	männl.	Schulterblatt	Handtellergröße zerklüftete GP, SF: grau-weiß-schwarz
8314	99	8 Jahre	männl.	Rücken	Kirschgroßer Knoten, SF: grau-weiß
8325	99	11 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Kirschgroßes flaches Knötchen
8392	99	10 Jahre	männl.	Nacken	Mandarinengroßer Knoten, derb, grau-weiß
8402	99	4 Jahre	weibl.k.	Flanke	5 DM große HGP, SF: weiß-braun lobuliert
8430	99	10 Jahre	weibl.k.	Thorax	Pflaumengroße HGP, weiß höckrigen
8473	99	k. A.	männl.	Schulter	Gut pflaumenkerngroße UV mit Hohlraum , solide braun-strahlig
8646	99	15 Jahre	männl.	Schulterbalt	Faustgroßer derber Knoten, teils lobuliert, zentral gekammert
8680	99	k. A.	männl.	Thorax	Pflaumengroße HGP, kirschgroß, grau-weiß
8747	99	10 Jahre	männl.	Schulterblatt	Pflaumengroße GP mit kirschgroßem, grau-weißem Tumor
8843	99	13 Jahre	männl.	Schulter	Pflaumengroße GP mit Haut, SF: grau-weiß mit Hohlraum
8851	99	11 Jahre	männl.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten SF:grau-weiß
8887	99	k. A.	weibl.k.	Thorax	Kirschgroß grau-weißer strahliger Knoten
8943	99	11 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Marktstückgroße HGP, grau-weiß derb
9125	99	12 Jahre	männl.k.	Thorax	Erbsengroßes, de,rbes Knötchen
9188	99	k. A.	weibl.	Hüfte	Grau-braune GP SF: grau-braun marmoriert

Tabelle 7.1 : Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
9217	99	k. A.	männl.	Flanke	Derbe, grau-weiße zerklüftete GP
9221	99	14 Jahre	weibl.k.	Nacken	Gänseeigroß, grau-weiß strahlig, zystisch
9244	99	14 Jahre	k. A.	Thorax	Lobulierte mandelgroße UV, homogen grau-weiß, speckig
9321	99	6 Jahre	weibl.	Schulterblatt	5x6x2cm große GP, SF: grau-weiß, strahlig teils lobuliert
9368	99	k. A.	männl.	Schulter	Erbsengroß, SF: strahlig weiß
9495	99	13 Jahre	weibl.	Flanke	Junghenneneigroße HGP, SF:blumenkohlartig gefeldert, grau-weiß
9523	99	10 Jahre	weibl.	Nacken	Handgroße höckrige HGP, SF: weiß, lobuliert, derb
9622	99	12 Jahre	männl.	Schulterblatt	Kirschgroß, derb, grau-weiß, gefeldert mit Haut
9716	99	6 Jahre	weibl.	Thorax	Walnußgroße zerklüftete GP
9730	99	10 Jahre	weibl.k.	Schulter	Mandarinengroße GP, grau-weiß
9767	99	8 Jahre	weibl.	Schulterblatt	Mandelgroß, zerklüftete GP, SF: grau-braun, lobuliert
64	00	17 Jahre	männl.	Lende	Taubeneigroße grau-weiße GP, strahlig
135	00	16 Jahre	weibl.k.	Thorax	Apfelsinengroße, grau-weiße GP
144	00	11 Jahre	weibl.	Schulter	Pflaumengroßer Knoten
162	00	4 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroße HGP, weiß, glasig
211	00	6 Jahre	weibl.k.	Thorax	Mandarinengroße, derbe, grau-weiße UV, SF: strahlig
401	00	15 Jahre	weibl.k.	Kruppe	Haselnußgroße lobulierte derbe UV, SF: grau-weiß, strahlige UV
497	00	11 Jahre	weibl.k.	Thorax	Kirschgroße, grau-weiße GP, SF: kirschgroß, grau-weiße
529	00	11 Jahre	weibl.k.	Thorax	Erbsengroßer, grau weißer Knoten
618	00	11 Jahre	weibl.	Schulter	Kirschgroße höckrige GP in Unterhaut
701	00	k. A.	weibl.k.	Flanke	Pflaumengroße höckrige GP SF: weiß, strahlig
798	00	8 Jahre	weibl.	Schulter	Stecknadelkopfgroßes graues Knötchen
819	00	11 Jahre	weibl.k.	Schulterblatt	Tischtennisballgroßes Knötchen, SF: grau-weiß, strahlig
872	00	k. A.	männl.	Schulterblatt	Gut kirschgroßer Knoten, SF: weiß, strahlig, zentral nekrotsich
944	00	7 Jahre	männl.	Flanke	Junghenneneigroße GP, SF: grau-weiß, strahlig
994	00	14 Jahre	männl.	Thorax	Hühnereigroßer Knoten, SF: zentral derb, grau-weiß solide

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
1050	00	10 Jahre	männl.k.	Rücken	Junghenneneigroßer Knoten, SF: solider weißer Knoten
1059	00	10 Jahre	weibl.	Thorax	Wasserbrötchengroßer Knoten zentral großer Hohlräume
1226	00	3 Jahre	weibl.k.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: braun-weiß
1255	00	11 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	0,8x0,6x0,5cm weiß-beige, oberflächlich gefurcht SF: weiß
1269	00	5 Jahre	männl.	Schulterblatt	7x5x4 cm groß, SF: weiß
1328	00	8 Jahre	männl.k.	Schulterblatt	Walnußgroße HGP lobulierte UV in Unterhaut
1357	00	k. A.	männl.k.	Hals	Stecknadelkopfgroße GP, grau-gelb
1490	00	14 Jahre	weibl.	Thorax	Walnußgroße höckrige GP, SF: weiß, strahlig
1492	00	15 Jahre	weibl.	Rücken	Pflaumengroße HGP, weiß lobuliert
1501	00	14 Jahre	männl.	Rücken	Walnußgroße höckrige HGP, SF: weiß
1531	00	5 Jahre	männl.	Thorax	Pflaumengroß, grau-weißer Knoten
1568	00	10 Jahre	männl.k.	Thorax	Pflaumengroßer Knoten, SF: grau-weiß strahlig
1611	00	8 Jahre	männl.k.	Thorax	Pfirsichgroße HGP linsengroß grau-weiße Herde
1775	00	15 Jahre	männl.	Schulter	Hühnereigroßer Knoten, SF: grau-weiß strahlig
1776	00	10 Jahre	männl.	Flanke	Tischtennisballgroßer höckriger Knoten SF: grau-weiß, strahlig, derb
2162	00	10 Jahre	weibl.	Nacken	Walnußgroßer Knoten, weiß, erbsengroße, Zyste
2220	00	10 Jahre	weibl.	Schulter	Kirschgroße höckrige Knoten, SF: weiß-schwarz gefeldert
2347	00	11 Jahre	weibl.	Schulterblatt	6x4 cm große HGP, teils lobuliert, beige, derb
2478	00	7 Jahre	männl.	Rücken	Kirschgroße zerklüftete grau-braune GP, weiß, strahlig
2542	00	6 Jahre	weibl.k.	Flanke	Kirschgroße HGP mit bohnen großem Knoten
2654	00	11 Jahre	männl.	Rücken	4x3 cm große GP SF: unscharf, braun-beige zentrale Nekrose
2713	00	13 Jahre	weibl.	Hals	Kirschgroßer Tumor mit zystischem Hohlraum, homogen beige
2722	00	14 Jahre	männl.	Schulter	1x1x0,5 cm große HGP
2972	00	8 Jahre	weibl.	Nacken	Junghenneneigroßer Knoten SF: grau-weiß, blutig, nekrotisch
3357	00	8 Jahre	weibl.	Thorax	Tischtennisballgroße HGP, SF: blumenkohlartig zentral nekrotisch
3409	00	14 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroßes Knötchen mit Haut, SF: weiß

Tabelle 7.1: Makrobefunde der Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
3624	00	9 Jahre	männl.	Nacken	2x2x2 cm großer Tumor, SF: grau-weiß, mit braunem Zentrum
4384	00	10 Jahre	weibl.	Thorax	Junghenneneigroße HGP, SF: teils nekrotisch, teils solide
4432	00	9 Jahre	weibl.	Rücken	Mandarinengroße HGP, grau-weiß
4541	00	15 Jahre	weibl.	Thorax	Kirschgroßer Knoten grau-weiß, strahlig

Erläuterung der Abkürzungen: SF: Schnittfläche; GP: Gewebsprobe; HGP: Hautgewebsprobe; UV: Umfangsvermehrung

Tabelle 7.2 : Makrobefunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
9735	98	8 Jahre	weibl.	Armbeuge	Unregelmäßige UV mit aufgeschnittenem Tumor und Lymphknoten.
9470	98	5 Jahre	weibl.	Augenwinkel	Linsengroße UV, SF: weiß
9145	98	8 Jahre	weibl.	Achsel	Haselnußgroßer Knoten, SF: weiß, faserig, fest
8609	98	13 Jahre	weibl.	Mundhöhle	Unregelmäßiges Gebilde, SF: beige
8442	98	3 Jahre	weibl.	Pfote	Walnußgroßer Knoten, SF: weiß, faserig
8261	98	8 Jahre	männl.k.	Augenrand	Mirabellengroßer Hautknoten, SF: weiß, fest
7595	98	15 Jahre	weibl.	Schwanzwurzel	Walzenförmige fingerkuppengroße UV, SF: weiß, fest, faserig
7211	98	9 Jahre	männl.	Unterbauch	Haselnußgroße UV mit Fistel, SF: weiß, strahlig
7178	98	10 Jahre	männl.k.	Metatarsus	Walnußgroße UV
6736	98	13 Jahre	männl.	Pfote	Kirschgroße UV SF: grau-weiß
6703	98	12 Jahre	männl.	Metatarsus	Pflaumengroßer Knoten, SF: grau-weiß
6616	98	k. A.	k. A.	Oberkiefer	Bohnergroße, grau-weiße UV
6288	98	9 Jahre	männl.	Bauch	Enteneigroßer höckeriger Knoten, SF: grau-weiß, teils zystisch
6116	98	6 Jahre	männl.	Pfote	Pflaumengroßer unregelmässiger Knoten, SF: grau-weiß, faserig
5887	98	14 Jahre	männl.	Ohr	Erbsengroße UV in Haut
5648	98	13 Jahre	weibl.k.	Mamma	Pflaumengroße UV, SF: grau-weiß, lobuliert mit soliden Anteilen
5642	98	14 Jahre	männl.	Karpalgelenk	Pflaumenkerngroße UV
5567	98	3 Jahre	weibl.k.	Mamma	Kirschgroßer UV, SF: blumenkohlartig, gefeldert
5564	98	14 Jahre	männl.	Schwanzoberseite	Kirschkerngroßer Knoten, SF: grau-weiß, solide, glasig
5533	98	k. A.	weibl	Rücken	Pflaumengroßer Knoten, SF: erbsengroße grau weiße solide Herde
5417	98	11 Jahre	weibl.	Pfote	Haselnußgroßer Knoten, SF: grau-weiß, strahlig, sehr derb
5413	98	5 Jahre	weibl.	Kopf	Kirschgroßer Knoten, SF: grau-weiß
5328	98	k. A.	weibl.k.	Kniefalte	Kirschgroßer Knoten, SF: blumenkohlartig
5211	98	k.A	männl.k.	Mamma	8x2,5 cm lange UV, SF: grau-weiß, solide
4895	98	11 Jahre	männl.k.	Harnblase	2 bohnergroße UV, SF: grau-weiß
4765	98	8 Jahre	weibl.	Kniefalte	Pflaumengroße UV

Tabelle 7.2 : Makrobefunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
4688	98	10 Jahre	weibl.	Kniefalte	2x1 cm große UV, SF: grau-weiß
4574	98	12 Jahre	männl.k.	Kopf	Ca. 2cm lange HP Unterhaut ca. erbsengroß weiß-glasiges Gebilde
4120	98	12 Jahre	männl.	Pfote	Pflaumengroßer, unregelmässiger Knoten, SF: weiß, faserig
4076	98	15 Jahre	weibl.	Zehe	Bohngroße, lobulierte UV
4041	98	7 Jahre	männl.k.	Ellbogen	4 unregelmäßig geformte Gebilde bis apfelkerngroß
3246	98	7 Jahre	weibl.	Pfote	Bohngroßer fester Knoten in Unterhaut, weiß
3201	98	7 Jahre	weibl.	Ohrmuschel	Erbsengroße UV
3026	98	8 Jahre	männl.	Krallenbett	Linsengroßer Knoten SF: beige
2997	98	11 Jahre	männl.	Ohr	Haselnußgroßer glasiger, faseriger Knoten
174	99	10 Jahre	männl.k.	Pfote	Walnußgroße weiße höckrige GP
433	99	7 Jahre	männl.	Ohr	1,5 cm großer, rosa-weißer, speckiger Knoten
617	99	7 Jahre	weibl.	Ellbogen	Erbsengroßer Knoten, weiß, SF: speckig weiß
669	99	4 Jahre	weibl.	Mamma	5 cm langes Stück
709	99	6,5 Jahre	männl.k.	Konjunktiva	Erbsengroße, weiße höckrige GP, SF: weiß lobuliert
1497	99	11 Jahre	weibl.	Tarsus	Dattelgroß, scharf begrenzt, homogen, grau-weiß, solide
1683	99	3 Jahre	weibl.k.	Ohrgrund	Erbsengroße GP SF: gräulich-weiß, leicht glasig, scharf begrenzt
1750	99	15 Jahre	weibl.	Tarsus	Walnußgroß, grau-beige GP lobuliert, SF: weiß
2024	99	12 Jahre	weibl.k.	Gingiva	2 reiskorngroße, braune Gewebefragmente
2111	99	1 Jahr	weibl.	Mamma	Multiple bis bohngroße höckrige Gewebefragmente
2395	99	5 Jahre	männl.k.	Ohrmuschel	Mandarinengroßes Stück mit flachen blumenkohlartigem Knötchen
2974	99	12 Jahre	weibl.	Ohr	Linsengroßer, grau-weißer Knoten
2975	99	11 Jahre	weibl.	Ohrgrund	2 mandelgroße Knoten, grau-weiß
3111	99	11 Jahre	weibl.	Vorderbein	Mandelgroßer, grau-weißer Knoten
3433	99	6 Jahre	weibl.k.	Ellbogen	Kirschgroß, hautanhängend, grau-weiß, derb
3926	99	k. A.	weibl.	Mamma	Tischtennisballgroßem Knoten SF: strahlig, weiß
4082	99	1,5 Jahre	weibl.	Wange	Pflaumengroß, SF: weiß-glasig

Tabelle 7.2: Makrobefunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
4212	99	15 Jahre	männl.k.	Pfote	Bohnengroß mit Haut, ulzerierend
4244	99	k. A.	k. A.	Zunge	Pflaumengroße GP, SF: gelb-weiß, glasig
4916	99	11 Jahre	männl.	Tarsus	Erbsengroß, SF: grau-weiß solide scharf begrenzt
5102	99	16 Jahre	männl.k.	After	Haselnußgroß grau-weiß, solide, scharf begrenzt
5178	99	12 Jahre	männl.k.	Augenrand	Pflaumenstückgroß mit grau-braunen Anteilen in Subcutis
5185	99	1 Jahr	weibl.	Mamma	Haselnußgroß unscharf begrenzt
5217	99	9 Jahre	weibl.k.	Ohr	Hühnereigroß, schleimig, grob-knotig gefeldert zystisch
5527	99	2 Jahre	männl.k.	Ellbogen	Saubohnengroß, SF: grau-gelb, strahlig
5551	99	10 Jahre	männl.	Ohr	Erbsengroße GP mit oberflächlichem Knötchen, SF: homogen weiß
5692	99	10 Jahre	weibl.	Ballen	Bohnengroße GP mit Haut, SF: grau-beige
5780	99	10 Jahre	weibl.k.	Mundwinkel	SF: grau-beige
6429	99	8 Jahre	weibl.	Karpalgelenk	Pflaumengroßer Knoten
6526	99	14 Jahre	männl.k.	Unterlippe	Erbsengroßer Knoten
6656	99	8 Jahre	männl.	Metatarsus	Pflaumengroßer Knoten grau-weiß, solide
6707	99	16 Jahre	weibl.	Kopf	Mandelkerngroß, grau-weiß, solide, bröckeliges Gewebe
7100	99	9 Jahre	männl.	Unterarm	Pflaumengroßer Knoten mit ulzerierender Haut SF: grau-weiß
7485	99	12 Jahre	männl.	Ellbogen	Aprikosengroß, grau-weiß, speckig
7551	99	1 Jahr	weibl.	Nasenloch	Kirschgroße GP SF: weiß, strahlig
7809	99	14 Jahre	weibl.k.	Mundhöhle	2 GP, 1x2,5 cm lang und 1 cm lang SF: grau-weiß derb
8045	99	16 Jahre	weibl.	Schwanzansatz	Saubohnengroße zerklüftete GP derb, hellbeige, SF: homogen weiß
8343	99	9 Jahre	weibl.	Augenrand	Erbsengroße HGP weiß, strahlige UV in Unterhaut, scharf begrenzt
8350	99	k. A.	weibl.	Bauch	Tischtennisball großer Knoten in Unterhaut, SF: homogen weiß
9130	99	12 Jahre	weibl.	Ohrmuschel	Kirschkernegroßer Knoten rötlich verfärbt
9378	99	8 Jahre	weibl.	Gingiva	Erbsengroße und stecknadelkopfgroße weiche GP
9638	99	9 Jahre	weibl.k.	Axilla	Bohnengroßer Knoten, grau-w,eiß
231	00	13 Jahre	k. A.	Mamma	2 pflaumengroße GP mit Haut SF: grau-weiß, glasig marmoriert

Tabelle 7.2 : Makrobefunde der nicht Injektionsstellen-assoziierten Fibrosarkome

Tgb.-Nr	Jahr	Alter	Geschlecht	Lokalisation	Makro-Befund
292	00	10 Jahre	männl.k.	Augenrand	Multiple, zerklüftete GP, grau-braun, derb, marmoriert
313	00	7,5 Jahre	männl.k.	Ballen	Sonnenblumenkerngroße, derbe GP, SF: braun marmoriert
490	00	16 Jahre	weibl.k.	Tibia	Aprikosengroße GP mit Haut, SF: grau-weiß strahlige UV
542	00	8 Jahre	weibl.k.	Mamma	Apfelsinengroße UV, SF: gut gänseeigroße zentral Zyste mit Inhalt
611	00	k. A.	k. A.	After	Bohnengroße HGP SF: weiß, glasige UV mit grauen Herden
841	00	6 Jahre	männl.	Augenrand	Erbsengroßes flaches Knötchen in der Haut ,SF: homogen weiß
924	00	19 Jahre	weibl.	Gingiva	Apfelsinenkerngroßes GP, Grenze nicht vorhanden
957	00	k. A.	weibl.	Nasenspiegel	Halb fingernagelgroße flache und 1 reiskorngroße Probe
1010	00	8 Jahre	k. A.	Bulbus	SF: grau-weiß, strahliger Herd
1901	00	12 Jahre	männl.k.	Oberkiefer	Biopsie
1906	00	13 Jahre	männl.k.	3. Augenlid	SF: homogen weiß, elastisch
1941	00	3 Jahre	männl.	Zehe	SF: grau-weiß glasige Herde
2355	00	10 Jahre	männl.k.	Ballen	3x1cm HGP, blumenkohlartig gefeldert SF: zentral nekrotisch
2646	00	8 Jahre	weibl.k.	Mundhöhle	5 GP, 3 mm bis linsengroß, grau-braun höckrig

Erläuterung der Abkürzungen: UV: Umfangsvermehrung; GP: Gewebeprobe; HGP: Hautgewebeprobe; k. A.; Keine Angabe

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
2703/98	1	1	2	0	0	0	0	20	*	5	1	*	*	4	2	2	2	1	1	1
2899/98	1	1	2	0,4	0,2	40	60	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	2	2	1
2934/98	1	1	2	0,4	0,8	50	50	60	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	3	2
2990/98	1	1	2	0,6	0,8	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	3	2
2997/98	2	1	2	0	0	0	0	90	*	10	*	40	20	2	2	2	2	1	1	2
3026/98	2	1	1	0,2	0,2	0	0	20	*	*	3	*	*	2	2	2	1	2	1	2
3064/98	1	1	2	0,6	0,4	20	80	80	*	*	2	*	*	*	2	2	1	3	3	2
3079/98	1	1	2	3,2	0	50	50	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	4	2	2
3134/98	1	1	2	3,6	0	30	70	*	*	*	4	*	*	2	2	2	2	3	2	2
3146/98	1	1	1	0	0	40	60	70	*	*	2	*	*	4	2	2	2	2	2	1
3167/98	1	1	2	0,8	0,6	50	50	*	*	*	2	*	*	4	1	2	2	3	3	1
3181/98	1	1	1	1,2	0	30	70	*	*	*	*	*	*	3	1	2	2	3	3	2
3188/98	1	1	2	0,2	0,6	30	70	*	*	*	2	40	*	2	1	2	2	2	2	2
3201/98	2	1	2	0,4	0,2	0	0	60	*	80	3	*	*	2	2	2	1	2	1	1
3246/98	2	1	2	3,2	0,8	70	30	60	*	10	*	*	*	2	2	2	2	2	2	2
3250/98	1	1	1	0,4	0,2	0	0	60	1	*	*	*	*	2	2	2	2	4	2	2
3270/98	1	1	2	0,2	0	40	60	20	*	80	3	0	50	2	2	2	2	4	3	1
3308/98	1	1	2	0,6	0,4	20	80	*	*	*	2	50	*	1	2	2	2	2	2	2
3316/98	1	1	2	0	0	0	0	*	*	*	2	50	*	*	2	2	2	2	1	1
3356/98	1	1	2	1,4	0,4	30	70	*	*	*	*	*	*	2	1	2	2	3	2	1
3566/98	2	2	2	0,8	0,4	60	40	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	1
3626/98	1	1	2	0,6	0,2	0	0	*	*	*	1	*	*	4	2	2	2	2	2	1
3641/98	1	1	1	0,2	0,2	50	50	60	*	*	2	*	*	*	2	2	2	3	3	2
3696/98	1	1	2	0,8	0,2	0	0	*	*	*	4	*	*	*	1	2	2	3	1	2
3732/98	1	1	2	0,4	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	1	1
3756/98	1	1	2	1,2	0	40	60	*	*	*	1	*	*	*	1	2	2	3	3	1
3960/98	1	1	2	0,6	0,4	50	50	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	1
3977/98	1	1	2	0,6	0,4	0	0	*	*	*	1	*	*	*	1	2	2	2	1	1
4041/98	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	1	1	1
4071/98	1	1	2	0,2	0	0	0	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	1	1
4076/98	2	1	2	0,6	0,8	0	0	*	*	*	2	*	*	2	2	2	2	2	1	1
4090/98	1	1	1	0,2	0,8	0	0	50	*	*	3	*	*	*	1	2	2	4	1	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bel-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
4120/98	2	1	2	0	0	0	0	*	*	10	1	*	*	3	2	2	2	1	1	1
4232/98	1	1	2	0,2	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
4338/98	1	1	2	0,2	0,2	0	0	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	1	1	1
4460/98	1	1	2	0,8	0,4	0	0	*	*	*	3	*	*	*	1	2	2	3	1	2
4475/98	1	1	2	0	0	40	60	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	3	3	1
4483/98	1	1	2	1,2	0,2	30	70	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	4	4	2
4574/98	2	1	2	0,2	0,6	40	60	*	*	50	2	*	*	3	2	2	2	2	2	1
4688/98	2	1	2	0,2	3,2	20	80	*	*	40	*	*	*	2	2	2	2	2	2	1
4700/98	1	1	2	1,2	0,2	0	0	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	2	1	1
4719/98	1	1	2	0,8	0,6	40	60	*	*	*	3	*	*	*	2	2	2	4	2	1
4765/98	2	1	2	1,2	0,4	30	70	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	3	3	1
4895/98	2	1	2	1	0	0	0	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	1	1	1
4977/98	1	1	1	0,2	0	0	0	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	4	1	2
5032/98	1	1	2	0,4	0	10	90	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	1	1	1
5065/98	1	1	2	1,2	2	50	50	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	2	1
5107/98	1	1	2	0,2	0,4	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
5211/98	2	1	2	0,4	1	30	70	*	*	10	3	*	*	2	1	2	2	2	2	1
5328/98	2	1	2	1	0,4	0	0	*	*	10	1	*	*	2	2	2	1	1	1	1
5331/98	1	1	1	1,2	0,6	30	70	80	*	*	2	*	*	*	2	2	2	3	3	1
5413/98	2	1	2	0,6	0,2	20	80	70	4	5	2	*	*	*	2	2	1	2	1	1
5417/98	2	1	2	0	0	0	0	20	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	1
5468/98	1	1	1	0,8	0,2	20	80	80	3	70	2	*	*	3	2	2	2	3	3	1
5490/98	1	1	2	0,2	0	20	80	*	*	*	4	*	*	*	2	2	2	4	2	1
5495/98	1	1	2	1	0,2	20	80	80	*	20	2	*	*	3	1	2	2	3	3	2
5533/98	2	1	2	2,2	0,8	40	60	*	*	90	*	*	*	4	2	2	2	4	3	2
5564/98	2	1	2	0	0	0	0	*	*	80	2	*	*	3	2	2	2	1	1	1
5614/98	1	1	2	0,6	0,4	50	50	*	*	10	3	*	*	2	1	2	1	4	3	1
5642/98	2	1	2	0	0,4	0	0	*	*	5	1	*	*	*	1	2	2	1	1	1
5648/98	2	1	2	0	0	30	70	*	*	5	1	*	*	3	2	2	2	2	2	1
5651/98	1	1	1	1,6	0,2	40	60	*	*	80	1	*	*	2	1	2	2	2	2	2
5688/98	1	1	2	0,8	1	0	0	70	*	*	2	*	*	*	1	2	2	2	1	2
5734/98	1	1	2	3	1,2	40	60	70	*	*	3	*	*	2	1	2	2	3	3	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
5847/98	1	1	1	1,6	0,8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	2	1	2	2	2
5887/98	2	1	2	0	0	0	40	*	80	2	*	*	2	2	2	2	2	1	1	1
5947/98	1	1	2	0,4	0,6	30	70	80	*	2	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
6116/98	2	1	2	0	0	0	40	*	40	2	*	*	*	*	2	1	2	1	1	1
6122/98	1	1	2	0,4	0	30	70	*	*	2	30	*	*	*	2	2	2	4	3	1
6125/98	1	1	2	0,6	0	60	40	50	*	1	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6131/98	1	1	1	0,6	0,4	40	60	40	*	3	*	*	*	*	1	2	2	3	2	1
6249/98	1	1	2	1	0,4	40	60	80	*	1	*	*	*	*	2	2	2	3	3	2
6268/98	1	2	1	1,2	0,4	60	40	50	*	*	*	*	*	*	1	1	2	2	2	2
6288/98	2	1	2	1,2	0,4	60	40	80	*	20	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
6614/98	1	1	2	0,8	0,4	40	60	60	*	1	20	*	*	*	2	2	2	3	3	1
6616/98	2	1	2	1,2	0,6	0	30	*	90	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
6649/98	1	1	2	0,6	0,4	60	40	90	*	1	*	*	*	*	1	2	2	2	2	1
6669/98	1	1	2	0	1	50	50	80	*	1	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
6703/98	2	1	2	0	0,2	0	40	40	*	70	2	10	30	*	2	2	2	2	1	1
6736/98	2	1	2	1	0,2	20	80	50	*	80	2	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6740/98	1	1	1	1	0,6	0	60	60	*	2	40	20	*	*	1	1	2	1	1	2
6894/98	1	1	2	0,6	0	70	30	*	*	3	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6952/98	1	1	2	1	1,8	20	80	60	*	2	*	*	*	*	1	2	1	2	2	2
6953/98	1	1	1	0	0	*	*	*	*	2	*	*	*	*	2	2	2	3	3	2
7009/98	1	1	1	0,4	0,6	30	70	90	*	2	30	70	*	*	2	2	2	2	2	2
7056/98	1	1	1	0,4	0,4	20	80	60	*	4	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
7121/98	1	1	2	1	0,4	0	40	40	*	*	*	*	*	*	1	2	1	1	1	1
7178/98	2	1	2	0	0	0	40	40	*	1	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
7180/98	1	1	1	0,4	0,2	30	70	30	*	3	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
7208/98	1	1	1	1,8	2	20	80	80	*	2	5	50	*	*	2	2	2	2	2	2
7211/98	2	1	1	0,4	0	30	70	*	90	3	70	90	*	*	1	2	2	4	3	2
7236/98	1	1	2	1,4	2	40	60	40	*	4	*	*	*	*	2	2	2	3	2	1
7464/98	1	1	2	0,4	0,2	40	60	60	*	2	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
7485/98	1	1	2	0,4	1	40	60	60	*	1	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
7584/98	1	1	2	0	0	50	50	80	*	1	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
7595/98	2	1	2	0,8	0,4	30	70	80	*	20	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2

Tgb.-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bel-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
7637/98	1	1	2	0,2	1,4	40	60	80	*	*	2	*	*	*	2	2	1	2	2	2
7653/98	1	1	1	1,4	1	0	0	60	*	*	2	20	50	*	2	2	2	1	1	2
7674/98	1	1	2	0,8	0,8	30	70	80	*	*	1	*	*	*	2	2	2	3	3	1
7695/98	1	1	2	0,2	0,2	30	70	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	1
7705/98	1	1	1	0,8	0	20	80	40	*	*	*	5	*	*	2	2	2	2	2	2
7725/98	1	1	2	0,6	0,2	40	60	70	*	*	1	*	*	*	2	2	2	4	4	2
7767/98	1	1	1	0,6	0	40	60	50	*	*	2	0	20	*	2	2	2	3	3	2
7799/98	1	1	1	0,6	0	40	60	50	*	*	2	40	70	*	2	2	2	3	3	2
7845/98	1	1	1	0,6	1	30	70	30	*	*	2	5	60	*	2	2	2	2	2	2
7895/98	1	1	2	0,8	0,2	40	60	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	2	2	2
8105/98	1	1	2	0,4	1	30	70	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	1
8160/98	1	1	1	0,2	0,4	50	50	60	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	2
8174/98	1	1	2	0,4	1	50	50	60	*	20	3	*	*	2	1	2	2	3	3	1
8191/98	1	1	2	0,2	0,4	50	50	60	*	*	1	*	*	*	1	2	2	3	2	1
8261/98	2	1	2	0,2	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
8268/98	1	1	2	0,2	0	40	60	70	*	*	*	*	*	4	1	2	2	3	3	1
8329/98	1	1	1	0,6	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
8373/98	2	2	1	0	0	60	40	0	*	*	*	*	*	*	2	1	2	2	2	1
8442/98	2	1	2	0	0	0	0	70	2	*	2	*	*	*	2	2	2	1	1	1
8594/98	1	1	2	2,8	0,4	30	70	70	5	10	2	*	*	2	2	2	2	2	2	1
8609/98	2	1	1	0,8	3,1	0	0	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	1	1	1
8737/98	1	1	1	2,2	1,4	40	60	*	*	*	1	20	20	*	2	2	2	2	2	1
8913/98	1	1	2	0,8	0,6	40	60	70	*	*	2	*	*	*	1	2	2	3	2	1
8977/98	1	1	2	2,2	1,2	40	60	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	3	3	1
9010/98	1	1	2	0,6	1,2	50	50	50	*	*	2	*	*	*	1	2	2	2	2	2
9070/98	2	2	1	0,2	0	0	0	0	*	*	*	*	*	*	1	1	2	2	2	2
9085/98	1	1	2	0,4	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	4	2
9145/98	2	1	2	0,4	0,2	50	50	40	*	5	*	*	*	4	2	2	2	2	2	1
9155/98	1	1	1	1,6	1,8	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
9355/98	1	1	2	0,6	0,8	30	70	60	*	40	*	*	*	3	2	2	2	3	3	2
9456/98	1	1	1	0,4	0	30	70	*	*	*	*	0	20	*	2	2	2	2	2	2
9470/98	2	1	2	0,2	0	0	0	60	*	10	*	*	*	4	2	2	2	1	1	1

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
9494/98	1	1	2	1	1	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
9505/98	1	1	2	0,4	0,2	50	50	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	1
9556/98	1	1	1	0,4	0,2	0	0	30	*	20	*	*	*	*	2	1	2	1	1	2
9566/98	1	1	2	1	0,4	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
9596/98	1	1	2	0,8	0,6	0	0	50	*	20	*	*	*	2	1	2	2	1	1	2
9735/98	2	1	2	1,2	0,8	50	50	40	*	*	1	*	*	2	1	2	2	3	3	2
9807/98	1	1	2	0,4	0,2	30	70	*	*	*	1	20	40	*	1	2	2	3	3	2
9895/98	1	1	1	0,8	0,4	20	80	40	*	*	1	5	20	*	1	2	2	3	3	2
9945/98	1	1	1	1,2	0,8	30	70	40	*	*	1	5	*	*	2	2	2	2	2	2
91/99	2	2	2	0,8	1,6	60	40	*	3	*	*	*	*	*	2	1	2	2	2	1
101/99	1	1	2	1,2	0	50	50	30	*	*	2	*	*	3	2	2	2	2	2	2
113/99	1	1	2	2	1	30	70	*	*	*	1	0	90	2	2	2	2	3	3	2
129/99	1	1	2	0,6	0,6	40	60	60	*	*	*	0	*	*	2	2	2	3	3	2
159/99	1	1	1	1,2	0,6	30	70	80	*	*	2	20	*	*	2	2	2	2	2	2
174/99	2	1	2	0	0,4	0	0	30	*	*	1	5	30	*	1	2	2	1	1	1
335/99	1	1	2	2,6	0,6	0	0	60	*	*	1	0	*	2	1	2	2	1	1	2
433/99	2	1	2	0	0	0	0	60	*	*	1	10	20	*	2	2	2	1	1	1
517/99	1	1	2	0,4	0,2	50	50	90	4	*	2	50	70	2	2	2	2	2	2	2
539/99	1	1	2	0	0,4	0	0	10	*	*	2	0	*	2	1	2	2	1	1	1
617/99	2	1	1	0	0	20	80	70	*	*	4	20	*	*	1	1	2	4	2	2
669/99	2	1	2	0	0	20	80	*	*	*	3	30	20	2	2	2	3	3	1	1
709/99	2	1	2	0,2	0,2	0	0	50	*	*	2	5	20	2	2	2	2	1	1	1
722/99	1	1	2	0,6	0,8	30	70	80	*	*	3	0	20	2	2	2	2	3	3	1
785/99	1	1	2	1,8	2,2	50	50	90	*	*	1	0	20	3	1	2	2	2	2	2
882/99	1	1	1	0,6	0	60	40	70	*	*	4	*	*	2	1	2	2	3	3	2
920/99	1	1	2	0,8	0,8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	1	1	1
947/99	1	1	2	0,4	0,2	50	50	*	*	*	2	30	80	2	1	2	2	2	1	2
1139/99	1	1	2	0,8	0,4	30	70	*	*	*	2	50	40	*	2	2	2	2	2	1
1192/99	1	1	2	1,2	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	3	1
1256/99	1	1	2	0,4	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
1440/99	1	1	2	0,4	0,6	70	30	90	*	*	10	70	*	*	2	2	2	3	3	1
1497/99	2	1	2	0	0,2	0	0	80	*	*	1	0	20	2	1	2	2	1	1	1

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
1514/99	1	1	2	2	0,4	0	0	50	*	*	*	5	80	3	2	2	2	1	1	2
1606/99	1	1	2	0,2	0,4	50	50	*	*	*	2	50	70	3	1	2	2	4	4	1
1683/99	2	1	2	0	0,4	40	60	70	*	*	4	0	60	*	1	2	2	3	3	2
1697/99	1	1	2	0	0	30	70	90	*	*	*	30	90	*	1	2	2	3	3	1
1733/99	1	1	1	0	0,2	40	60	70	*	*	1	*	*	*	2	2	2	1	1	2
1750/99	2	1	1	0,6	1	0	0	*	*	*	3	*	*	3	2	2	2	2	1	2
1905/99	1	1	2	0,2	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	1
2024/99	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	60	30	2	2	2	2	1	1	1
2049/99	1	1	1	0,2	0,2	40	60	50	*	*	3	*	*	*	2	2	2	3	3	1
2111/99	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	0	*	2	2	1	2	1	1	1
2283/99	1	1	2	0,8	0,6	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	1	2	2	2
2264/99	1	1	1	0,4	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
2395/99	2	1	2	0,4	0,4	0	0	*	*	*	*	40	30	*	2	2	2	2	2	2
2491/99	1	1	1	0	0	40	60	*	*	*	3	*	*	*	1	2	2	3	3	2
2657/99	1	1	2	0	0,6	*	*	*	*	*	*	*	*	4	1	2	2	2	2	1
2806/99	1	1	2	2,2	1	40	60	70	*	*	2	20	90	*	2	2	2	2	2	2
2974/99	2	1	2	0	0,4	60	40	50	*	60	1	0	30	2	2	2	2	2	2	1
2975/99	2	1	2	0,8	0,4	0	0	70	*	*	*	*	*	*	1	1	2	3	1	2
3101/99	1	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	0	80	*	2	2	2	1	1	1
3111/99	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	*	60	*	2	2	2	1	1	1
3192/99	1	1	2	0,2	0,2	60	40	*	*	*	2	0	60	*	1	2	2	4	4	1
3370/99	1	1	2	0	0	50	50	50	*	*	2	0	70	*	2	2	2	3	3	1
3433/99	2	1	2	0,2	0,2	0	0	70	*	*	*	5	80	*	1	2	2	1	1	1
3447/99	1	1	2	0	0	20	80	70	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
3556/99	1	1	2	0,8	0,4	20	80	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	2
3693/99	1	1	2	1,2	0,8	20	80	90	*	50	2	*	*	4	1	2	2	3	3	2
3702/99	1	1	2	1,8	0,4	40	60	*	*	*	4	*	*	*	1	2	2	4	2	1
3742/99	1	1	2	0,2	0,2	40	60	*	1	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	2
3779/99	1	1	2	0,8	0,6	40	60	*	*	*	1	*	*	*	2	2	2	2	2	2
3882/99	1	1	2	0,2	0	40	60	*	*	*	2	*	*	*	2	2	2	3	3	1
3926/99	2	1	2	0,2	0,4	40	60	*	*	*	*	40	50	*	1	2	2	3	3	2
3954/99	1	1	1	1,2	1,2	30	70	90	*	*	2	*	*	*	2	2	2	4	2	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
4078/99	1	1	2	0,2	1	40	60	70	*	*	2	*	*	*	1	2	2	3	3	1
4082/99	2	1	2	0,2	0	0	0	30	*	10	2	0	30	*	2	2	2	1	1	1
4146/99	1	1	2	1,6	2,6	50	50	60	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
4192/99	1	1	2	1,4	0,4	30	70	*	*	*	2	*	*	2	2	2	2	4	2	2
4207/99	1	1	2	0,8	0,8	20	80	80	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
4212/99	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	40	40	2	2	2	2	1	1	1
4244/99	2	1	2	0	1	0	0	30	1	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
4265/99	1	1	2	0,2	0,8	0	0	60	*	*	2	*	*	4	1	2	2	2	2	1
4462/99	1	1	1	0,8	0,6	50	50	90	1	*	2	*	*	3	2	2	2	3	3	2
4500/99	1	1	2	0,6	0,8	60	40	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
4754/99	1	1	2	1	2,2	40	60	40	2	90	2	*	*	2	2	2	2	2	2	1
4804/99	1	1	2	0,2	0,2	30	70	40	*	*	2	*	*	*	1	2	2	3	3	2
4814/99	1	1	1	0,4	0	40	60	70	*	5	*	*	*	3	1	2	2	2	2	2
4916/99	2	1	1	0	0	0	0	80	*	60	*	*	*	3	1	2	2	2	1	2
4928/99	1	1	2	0	0	0	40	40	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
4931/99	1	1	1	0	0,8	0	0	80	*	90	2	*	*	3	1	2	2	2	2	2
5062/99	1	1	2	0,8	0,4	40	60	50	*	*	*	*	*	3	1	2	2	4	2	2
5102/99	2	1	2	0	1,2	0	0	70	*	*	2	*	*	3	2	2	2	2	1	2
5111/99	1	1	2	1,2	0,8	0	0	*	*	*	*	*	*	3	1	2	2	1	1	2
5116/99	1	1	2	0,4	0,8	0	0	50	*	*	4	*	*	*	1	2	2	3	2	2
5125/99	1	1	1	1,8	1,2			80	*	*	*	*	*	2	2	1	2	2	2	2
5178/99	2	1	1	1	1,6	50	50	80	*	20	*	*	*	2	2	1	2	2	2	2
5185/99	2	1	2	0,8	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
5217/99	2	1	1	0,4	0,4	20	80	80	*	*	*	*	*	2	2	1	2	3	3	2
5241/99	1	1	2	0,6	0,4	40	60	*	*	*	*	*	*	4	2	2	2	2	2	1
5263/99	1	1	1	0	0	30	70	*	*	40	*	*	*	3	1	2	2	3	3	2
5274/99	1	1	1	1,6	2	20	80	80	*	*	1	*	*	2	1	1	2	4	4	2
5363/99	1	1	1	2,4	0,6	40	60	70	4	20	*	*	*	3	2	2	2	3	3	2
5527/99	2	1	2	0	0	20	80	40	*	*	2	*	*	*	2	2	2	3	3	2
5544/99	1	1	2	0	0,2	70	30	90	1	*	2	*	*	4	2	2	2	2	2	2
5551/99	2	1	2	0	0	0	0	20	*	*	2	*	*	4	2	2	2	1	1	1
5620/99	1	1	2	0	0	40	60	80	3	*	3	*	*	4	2	2	2	3	3	1

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
5689/99	1	1	2	0	0	30	70	*	*	*	1	*	*	4	2	1	2	2	2	2
5692/99	2	1	2	0,2	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	3	2	2
5724/99	1	1	1	1	1	0	0	80	*	30	1	*	40	3	2	2	2	2	2	2
5780/99	2	1	2	0,2	0,6	20	80	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
5876/99	1	1	2	0,4	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
6067/99	1	1	1	0,4	0	20	80	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
6071/99	1	1	2	1,6	0,4	0	0	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	1	1
6234/99	1	1	2	0	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	2
6267/99	1	1	2	0,6	0,2	50	50	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	2	1
6284/99	1	1	1	0,2	0,6	*	*	80	*	40	*	30	70	2	2	1	2	2	2	2
6345/99	1	1	2	0	1,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6429/99	2	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
6486/99	1	1	2	0,2	0,6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
6526/99	2	1	2	0	0,6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6582/99	1	1	1	0,2	0,6	*	*	60	*	*	*	10	50	3	1	2	2	2	2	2
6656/99	2	1	2	0,8	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
6707/99	2	1	2	0,8	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
6755/99	1	1	1	0,6	0,2	50	50	*	2	*	*	*	*	*	1	2	2	3	3	1
6774/99	1	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
6798/99	1	1	1	0,4	0,4	0	0	70	*	60	*	10	70	*	1	1	2	1	1	2
6936/99	1	1	1	2	0,6	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
7100/99	2	1	2	1	0,6	60	40	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	2	2
7119/99	1	1	1	0,4	0,6	60	40	40	*	70	*	10	40	*	2	2	2	4	4	1
7176/99	1	1	2	0,4	0,4	0	0	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	1
7251/99	2	2	2	0	0,4	0	0	30	2	*	*	*	*	*	2	1	2	1	1	2
7259/99	1	1	1	0	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	2	2
7336/99	1	1	2	0,8	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
7485/99	2	1	2	1,8	0,6	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	1	2	1	1	2
7515/99	1	1	2	0,2	0,8	40	60	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	4	2	2
7551/99	2	1	2	0,8	0,4	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	1	2
7561/99	1	1	2	3	0,8	20	80	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	2	1
7570/99	1	1	2	1	0,6	50	50	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
7579/99	1	1	2	1,2	0,8	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
7750/99	1	1	2	0	0	30	70	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	4	2	1
7763/99	1	1	1	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	1	2	2	2	2
7809/99	2	1	2	1,6	0,8	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1	1
7855/99	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	1	1	1	1
7880/99	1	1	2	0,6	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	2
7889/99	1	1	2	1,2	0,4	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	2	2
7891/99	1	1	2	0,6	1,2	20	80	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
8045/99	2	1	2	0	0,6	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
8057/99	1	1	2	0,8	0,6	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
8113/99	1	1	2	0,8	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
8167/99	1	1	1	0,4	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
8170/99	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
8190/99	1	1	1	0,6	0,4	0	0	*	*	*	30	60	2	2	2	2	2	4	2	2
8314/99	1	1	1	1,4	0,8	0	0	50	*	*	10	60	3	2	1	2	2	2	2	2
8325/99	1	1	2	4,6	1,4	40	60	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	3	2
8343/99	2	1	2	0,4	0,2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
8350/99	2	1	2	0,2	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	3	3	1
8392/99	1	1	2	0	0	60	40	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	2
8402/99	1	1	2	0,4	0,2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
8430/99	1	1	2	0,6	1,2	30	70	40	*	*	0	90	2	2	2	2	3	3	2	2
8473/99	1	1	2	1	2	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	1	2	4	2	2
8646/99	1	1	2	0,4	0	50	50	*	*	*	*	*	*	*	2	2	1	2	2	2
8680/00	1	1	2	1,2	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
8747/99	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
8843/99	1	1	1	3,2	0,4	40	60	*	*	70	60	20	2	2	2	2	3	2	2	2
8851/99	1	1	2	0,6	0,4	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
8887/99	1	1	2	0,2	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
8943/99	1	1	2	0	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
9125/99	1	1	2	0,2	0,4	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
9130/99	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	1	1	2	2	1	1
9188/99	1	1	2	1,6	0,2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
9217/99	1	1	2	0	0	20	80	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
9221/99	1	1	2	0,4	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
9244/99	1	1	2	0,8	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	1	1	1
9321/99	1	1	2	0	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	1
9368/99	1	1	2	0,4	0,4	20	80	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
9378/99	2	1	2	0,4	0,8	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
9484/99	1	2	2	0,2	0,4	30	70	70	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	2
9495/99	1	1	2	0,6	0,2	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
9523/99	1	1	2	0,6	0,8	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	1	1	2
9622/99	1	1	2	0,2	0,6	0	0	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	1
9638/99	2	1	2	0,4	0	30	70	*	*	*	*	*	*	*	2	2	1	2	2	1
9716/99	1	1	1	2,4	0,6	0	0	40	5	*	*	0	50	2	2	2	2	4	1	1
9730/99	1	1	2	0	0,6	40	60	*	*	*	*	*	*	*	1	2	2	2	2	1
9767/99	1	1	2	0	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	3	3	1
64/00	1	1	2	0,2	0,2	20	80	*	*	*	*	40	80	*	2	2	2	2	2	1
135/00	1	1	2	1,8	1	30	70	*	*	*	*	60	70	*	1	2	2	2	2	2
144/00	1	1	1	0,2	0	40	60	*	*	60	*	40	50	4	2	2	2	3	3	2
162/00	1	1	2	0	0	20	80	*	*	40	*	80	20	3	2	2	2	2	2	2
211/00	1	1	2	2,4	0	30	70	*	*	*	*	0	40	*	1	2	2	2	2	2
231/00	2	1	2	0	0	40	60	*	*	*	*	*	*	*	4	2	2	3	3	1
292/00	2	1	1	0,2	0,6	0	0	*	*	80	*	*	*	2	2	2	1	1	1	1
313/00	2	1	2	0	0	0	0	70	*	10	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
401/00	1	1	1	0,2	0,4	20	80	*	1	10	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
490/00	2	1	2	1	0,2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
497/00	1	1	2	0	0,4	*	*	*	*	*	*	0	70	*	2	2	2	2	2	1
529/00	1	1	2	3,2	0,8	0	0	70	1	30	*	5	50	3	1	2	2	2	2	1
542/00	2	1	2	0,6	0,2	30	70	90	*	*	1	20	40	*	1	2	2	2	2	1
611/00	2	1	2	0	0	40	60	*	*	*	*	0	80	2	2	2	2	2	2	1
618/00	1	1	1	0,2	0,4	*	*	20	*	20	*	5	50	*	1	2	2	3	3	1
701/00	1	1	1	0,2	0,4	40	60	30	*	*	*	5	90	*	1	2	2	3	3	2
798/00	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1	1	2	2	2	1
819/00	1	1	2	0,8	0,2	30	70	*	*	*	*	5	40	*	1	2	2	2	2	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
841/00	2	1	2	0	0	*	*	*	*	60	*	5	60	4	2	2	2	1	1	1
872/00	1	1	2	0	0	*	*	*	2	60	*	0	50	4	2	2	2	3	2	1
924/00	2	1	2	0	0	40	60	40	*	*	1	80	40	1	2	2	2	2	2	1
944/00	1	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	40	70	*	1	2	2	2	2	2
957/00	2	1	2	0	0	0	0	*	*	*	*	60	*	*	2	2	2	2	1	1
994/00	1	1	2	1,8	0	20	80	40	*	*	*	*	70	2	2	2	2	2	2	1
996/00	1	2	2	0	0	0	0	90	1	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
1010/00	2	1	2	1,8	1,4	20	80	50	4	*	*	80	*	3	2	2	2	2	2	1
1050/00	1	1	1	3	0,6	30	70	*	*	10	*	0	30	*	2	2	2	3	3	2
1059/00	1	1	1	0,8	0,2	0	0	40	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2	2
1226/00	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	5	20	*	2	2	2	2	2	1
1255/00	1	1	2	0,2	0,2	*	*	*	*	*	*	20	20	*	2	1	2	3	3	1
1269/00	1	1	1	0,2	0	*	*	40	*	*	*	0	80	*	1	2	2	3	3	1
1328/00	1	1	1	0,6	0,8	*	*	80	*	*	*	0	*	*	2	2	2	2	2	2
1357/00	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	0	10	*	2	1	2	2	2	2
1490/00	1	1	2	4,4	0,2	*	*	*	*	*	*	50	50	*	2	2	2	3	3	2
1492/00	1	1	2	0,4	0	*	*	*	*	*	*	30	40	*	1	2	2	3	3	1
1501/00	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	60	70	*	1	2	2	4	2	1
1531/00	1	1	2	0,2	0	*	*	*	*	*	*	40	50	*	2	2	2	3	3	2
1568/00	1	1	2	0,2	0	*	*	*	*	*	*	50	50	*	2	2	2	2	2	1
1611/00	1	1	2	0,2	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	1
1775/00	1	1	2	1,4	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
1776/00	1	1	2	0,2	0,6	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
1861/00	2	2	2	0	0	0	0	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	1	2
1901/00	2	1	2	0,6	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	1
1906/00	2	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	1	1
1941/00	2	1	1	0	0	*	*	*	*	*	*	80	40	2	2	2	1	3	2	1
2165/00	1	1	2	0,4	0,2	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
2220/00	1	1	1	0,6	0,6	*	*	*	*	*	*	*	60	2	1	1	2	2	2	2
2347/00	1	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	4	4	2
2355/00	2	1	2	1	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	1	2	3	1	1
2478/00	1	1	2	0,4	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	3	2	2	2	2	2	2

Tabelle 7.3 : Übersicht über die Ergebnisse der Zusatzuntersuchungen an den felinen

Tgb-Nr.	L.	FeLV	RZ	Mit.	Apop.	CD3	CD45R	PCNA	T.	Bcl-2	MAC	MHCII	CD18	Elas.	N.	B.	V.	EG	LI	S.
2542/00	1	1	1	0,4	0,4	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2
2646/00	2	1	2	0	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	1	1
2654/00	1	1	2	0,6	0	*	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	1	1	2
2713/00	1	1	2	0,6	0	*	*	*	*	*	*	*	*	2	2	2	2	2	2	2
2722/00	1	1	1	1,6	0	*	*	*	*	*	*	*	*	3	2	2	2	2	2	1
T2972/00	1	1	1	*	*	*	*	*	*	*	50	70	*	*	*	*	*	3	2	2
T3357/00	1	1	1	*	*	*	*	*	*	*	5	*	*	*	*	*	*	2	2	2
T3409/00	1	1	1	*	*	*	*	*	*	60	50	80	*	*	*	*	*	2	2	2
T3624/00	1	1	1	*	*	*	*	*	*	*	30	40	*	*	*	*	*	3	2	2
T4384/00	1	1	1	*	*	*	*	*	*	10	10	60	*	*	*	*	*	4	2	2
T4432/00	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	20	70	*	*	*	*	*	2	2	2
T4541/00	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	5	70	*	*	*	*	*	3	3	2

Erläuterung der Abkürzungen: *: nicht untersucht; L.: Lokalisation; RZ: Riesenzellen; T.: TUNEL-Methode; Elas.: Elastica-van Gieson; N.: Nekroseherde; B.: Blutungsherde; V.: Verknöcherungen; EG.: Entzündungsgrad; LI.: Lymphozyteninfiltration; S.: Strukturierung

7.4 Abbildungen

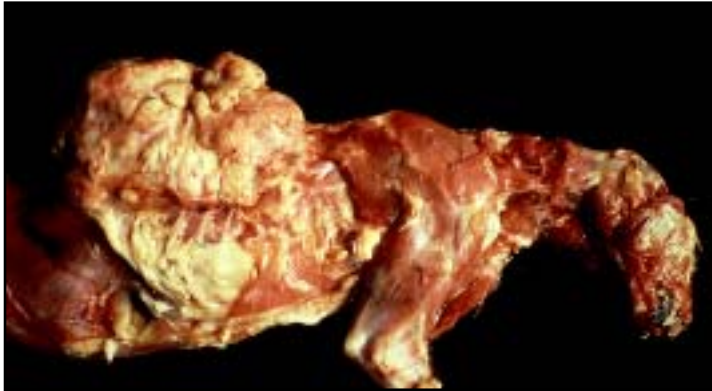


Abb. 1

Abb. 2

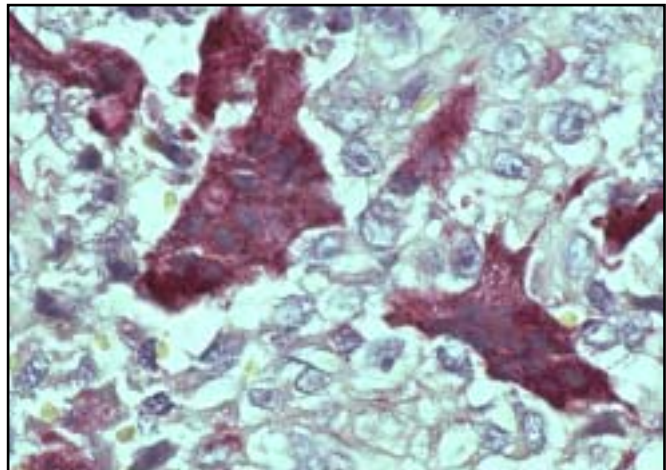
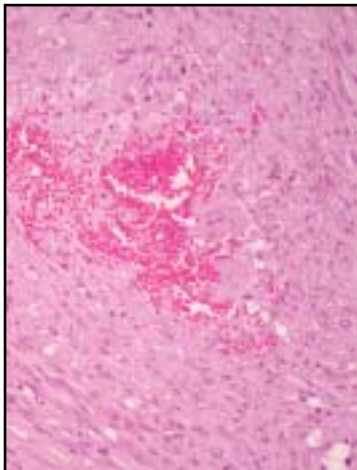
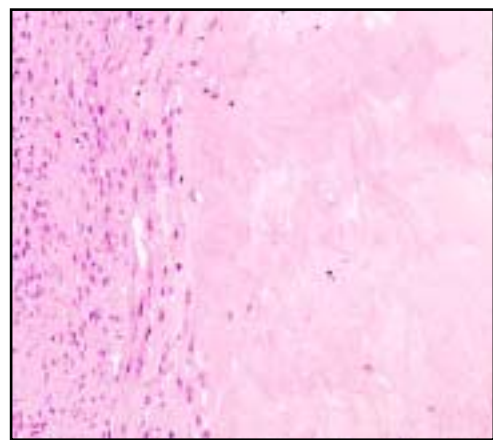
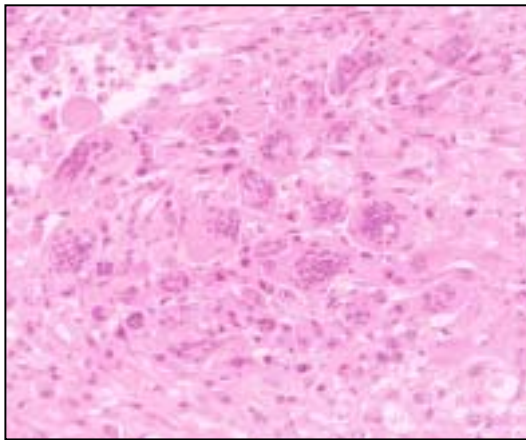
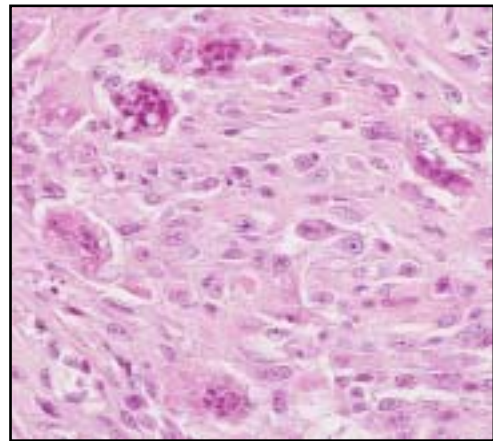
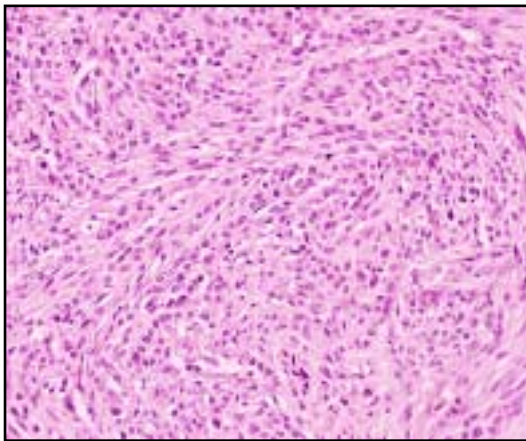
Abb. 3

Abb. 4

Abb. 5

Abb. 6

Abb. 7



- Abb. 1: Experimentell infiziertes Fibrosarkom
- Abb. 2: T3409/00 HE (Objektivvergrößerung: 20x)
- Abb. 3: T5734/98 HE (Objektivvergrößerung: 40x)
- Abb. 4: T9807/98 HE (Objektivvergrößerung: 40x)
- Abb. 5: T9494/98 HE (Objektivvergrößerung: 40x)
- Abb. 6: T9895/98 HE (Objektivvergrößerung: 10x)
- Abb. 7: T5125/99 TRAP (Objektivvergrößerung: 100x)

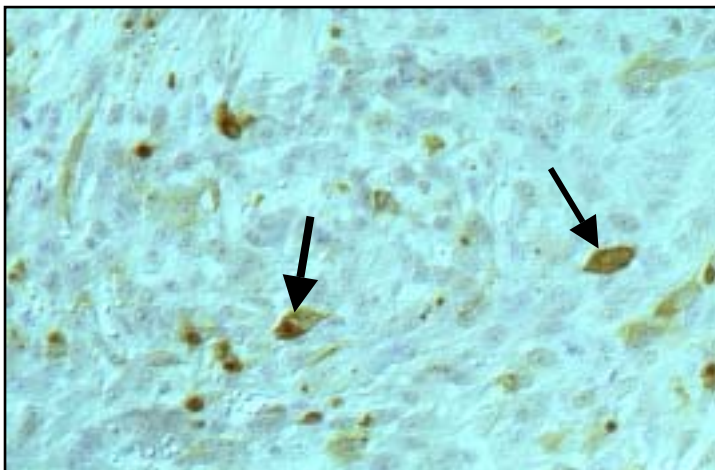
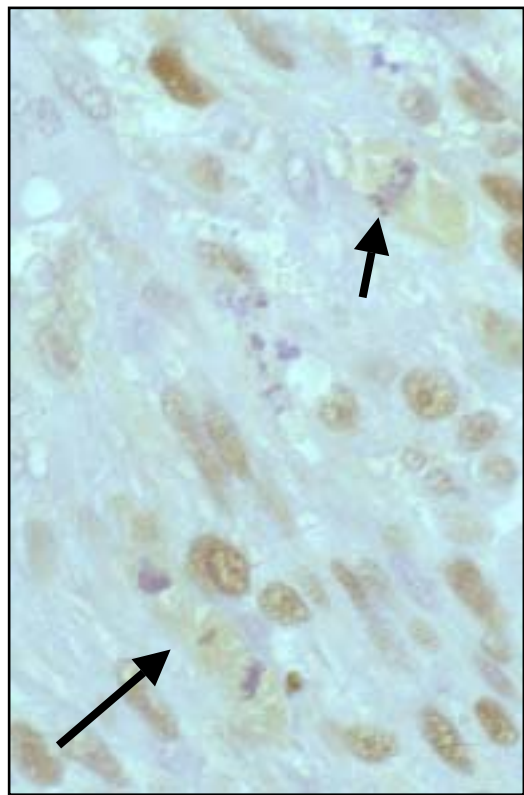
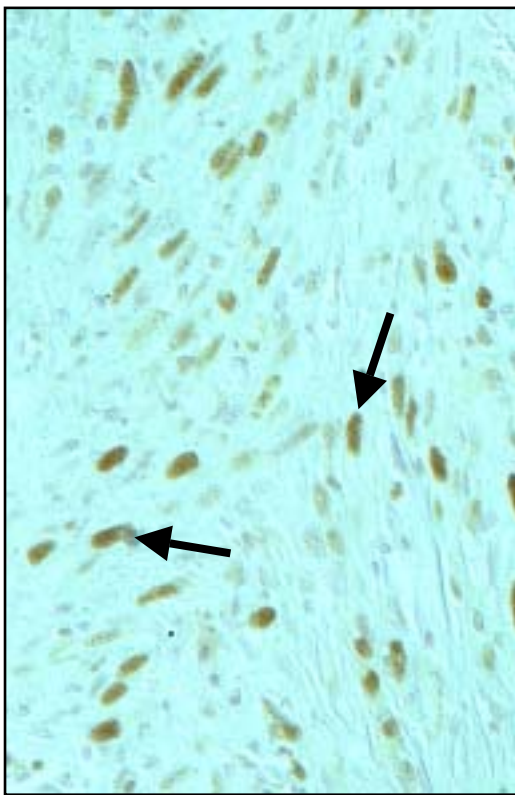
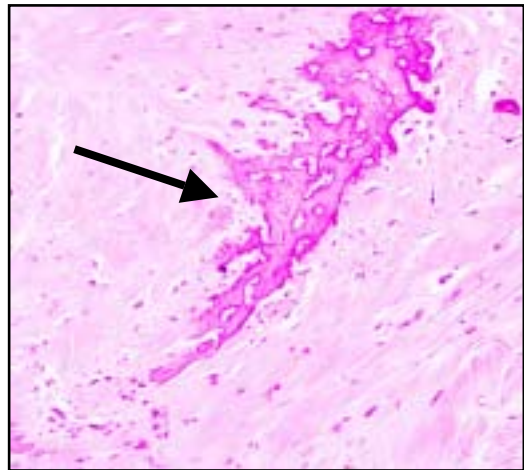
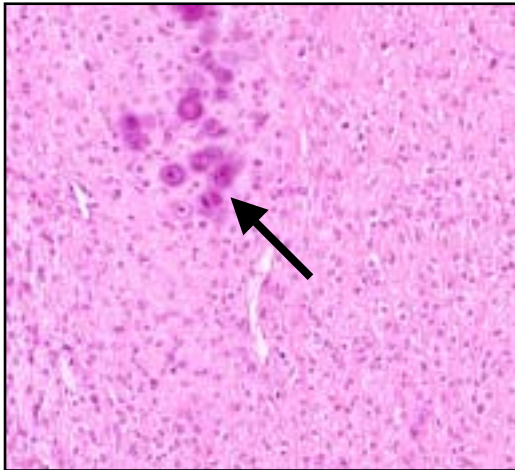


Abb. 8

Abb. 9

Abb. 10

Abb. 11

Abb. 12

-
- Abb. 8: T7855/99 HE (Objektivvergrößerung: 20x)
metaplastische Verknöcherung (Pfeil)
- Abb. 9: T6952/98 HE (Objektivvergrößerung: 20x)
metaplastische Verknöcherung (Pfeil)
- Abb. 10: T4613/99 (Objektivvergrößerung: 40x)
PCNA-Expression in neoplastischen Zellen (Pfeile)
- Abb. 11: T5125/99 (Objektivvergrößerung: 100x)
PCNA-Expression und Mitosefiguren in neoplastischen Zellen (Pfeile)
- Abb. 12: T5363/99 Objektivvergrößerung: 40x)
Darstellung apoptotischer Zellen mit der TUNEL-Methode (Pfeile)

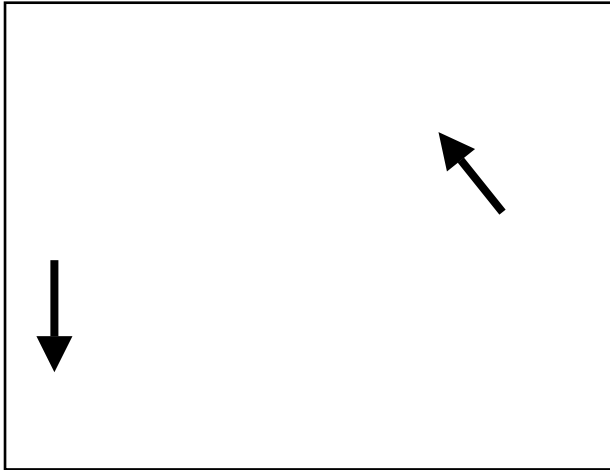


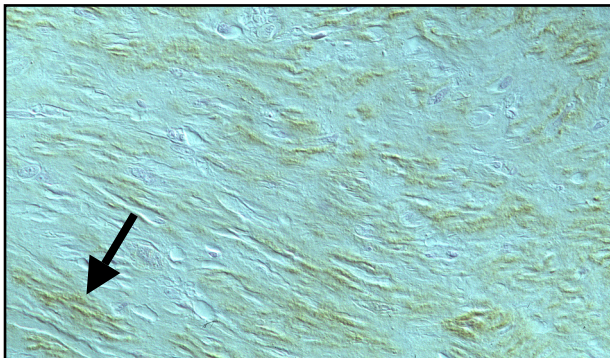
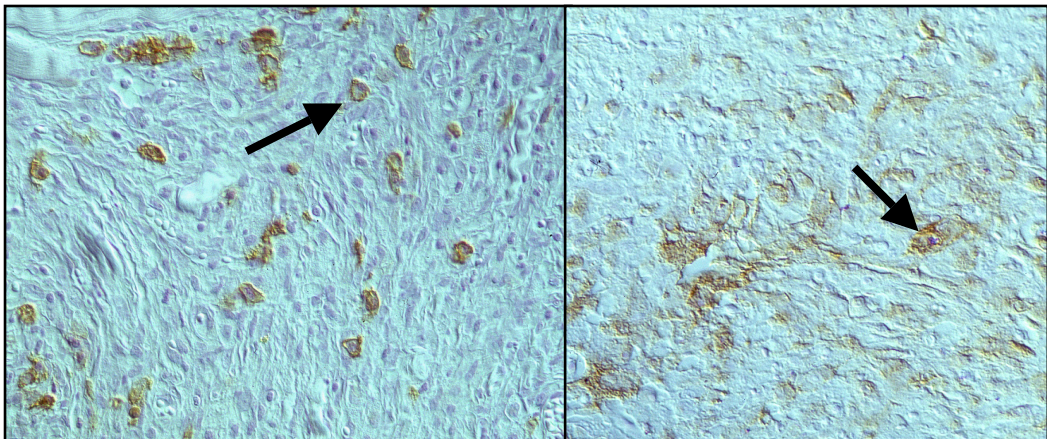
Abb. 13

Abb. 14

Abb. 15

Abb. 16

Abb. 17



- Abb. 13: T3270/98 (Objektivvergrößerung: 100x)
bcl-2-Expression in einem Fibroblasten (Pfeil)
- Abb. 14: T3566/99 (Objektivvergrößerung: 40x)
FeLV-Expression in einer neoplastischen Zelle (Pfeil)
- Abb. 15: T7251/99 (Objektivvergrößerung: 40x)
gp70-Expression in einer neoplastischen Zelle (Pfeil)
- Abb. 16: T1861/00 p27 (Objektivvergrößerung: 40x)
p27-Expression in einer neoplastischen Zelle (Pfeil)
- Abb. 17: T9484/99 (Objektivvergrößerung: 40x)
p15E-Expression in einer neoplastischen Zelle (Pfeil)

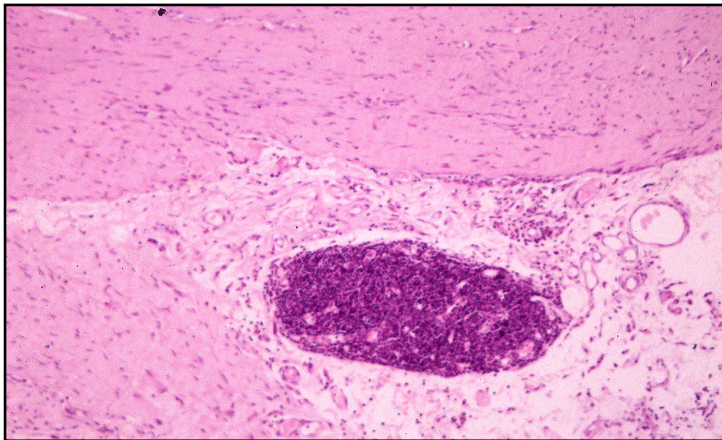
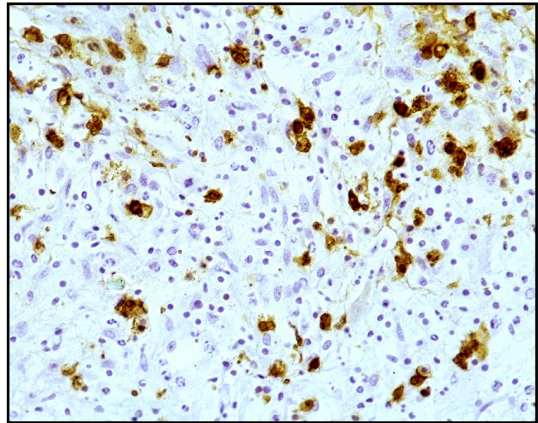
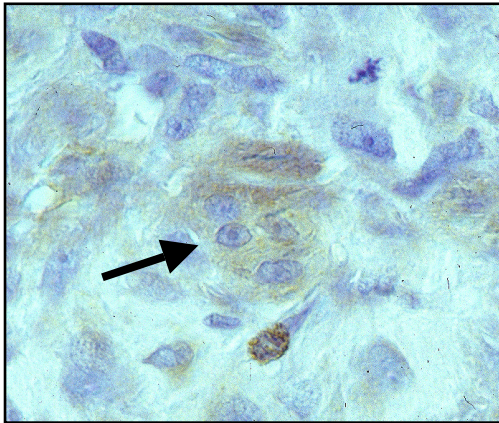
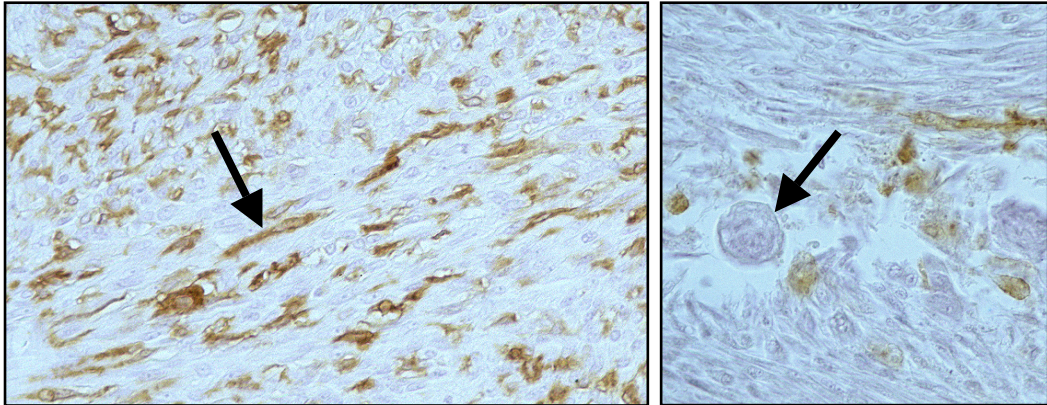
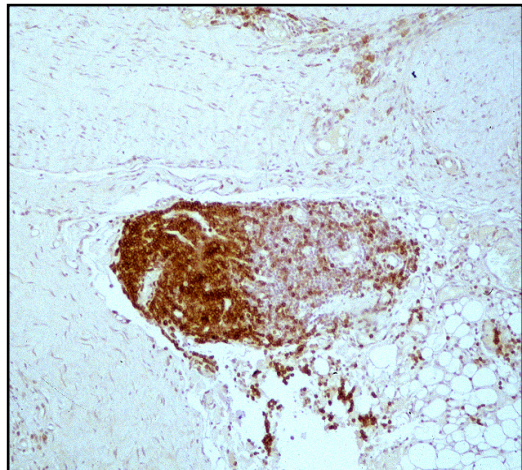
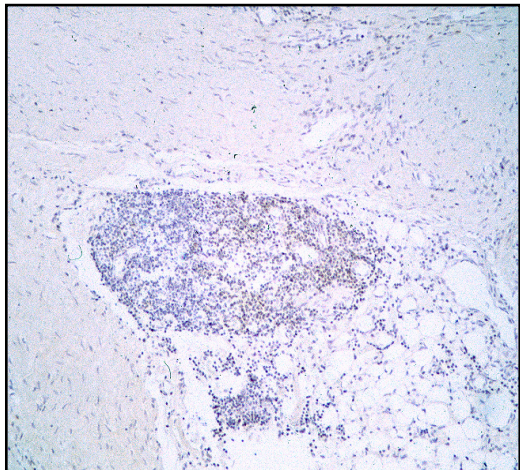


Abb. 18	Abb. 19
Abb. 20	Abb. 21
Abb. 22	
Abb. 23	Abb. 24



-
- Abb. 18: T3629/00 (Objektivvergrößerung: 100x)
MHC II-Expression in einer neoplastischen Zelle (Pfeil)
- Abb. 19: T3409/00 (Objektivvergrößerung: 40x)
MHC II-negative mehrkernige Riesenzelle
- Abb. 20: T5724/99 (Objektivvergrößerung: 100x)
CD18-Expression neoplastischer Zellen (Pfeil)
- Abb. 21: T1861/00 MAC387 (Objektivvergrößerung: 40x)
- Abb. 22: T144/00 HE (Objektivvergrößerung: 10x)
- Abb. 23: T144/00 CD3 (Objektivvergrößerung: 10x)
- Abb. 24: TT144/00 CD45R (Objektivvergrößerung: 10x)

8 Lösungen, Puffer und Bezugsquellen

8.1 Lösungen und Puffer

Tris-buffered-saline (TBS, pH 7,6)

Stammlösung (10x):

60,57 g Tris (hydroxymethyl)-aminomethan

610 ml Aqua dest.

390 ml 1 N HCl (109970; Merck, Darmstadt)

Gebrauchslösung:

100 ml Stammlösung

900 ml 0,8 % NaCl in Aqua dest.

Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl eingestellt.

Phosphate-buffered saline (PBS, pH 7,2 300mOsm)

Stammlösung:

42 g NaCl krist.

9,26 g Na₂HPO x 2 H₂O p.a.

2,15 g KH₂PO₄

Aqua bidest. ad 1000 ml

Gebrauchslösung:

Stammlösung 1:5 in Aqua bidest. verdünnen

Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl eingestellt.

Zitratpuffer (10mM, pH 6,0)

Stammlösung A: 0,1 M Zitronensäure

21,01 g C₆H₈O₇ x H₂O

1000 ml Aqua dest.

Stammlösung B: 0,1 M Natriumzitrat

29,41 g C₆H₅O₇Na₃ x H₂O

1000 ml Aqua dest.

9 ml Stammlösung A und 41 ml Stammlösung B mit 450 ml Aqua dest. Auf 500 ml auffüllen und mischen (Magnetrührer).

Imidazol/HCl-Puffer 0,1M (pH 7,1)

6,81 g Imidazol

Aqua dest. ad 1000 ml.

Zugeben von 500 ml 0,1 M HCl. pH nicht über 7,2! Lösung ca. 1 Woche haltbar.

Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid-Lösungen (DAB)

100 mg DAB in 200 ml 0,1 M Imidazol/HCl-Puffer (pH 7,1) lösen und mischen (Magnetrührer). Filtrieren und unmittelbar vor Gebrauch 70 µl 30% H₂O₂ zugeben.

Papanicolauos Gebrauchslösung

Papanicolauos Hämatoxylin 1b und Aqua dest. Im Verhältnis 1:10 mischen und filtrieren.

TUNEL-Methode zur Darstellung apoptotischer Zellen

PBS für Apoptag® (50mM, pH 7,4)

8g NaCl

0,2g KCl

1,44g Na₂HPO₄

0,24g KH₂PO₄

in 800 ml Aqua bidest. lösen

Einstellen des pH-Wertes auf 7,4 mit 1 M HCl.

8.2 Bezugsquellen der in 8.1 genannten Substanzen

Boehringer Mannheim

Proteinase K, 745723

Cedar Lane Lab. Ltd., Horny, Canada

Ratte anti-Maus CD45R (Klon B220(Ly5); CL8990AP)

Customs Monoclonals Int., Sacramento, Kalifornien, USA

Maus anti-gp70 (KlonC11D82i)

Maus anti-p27 (KlonPF12J-10A)

Maus anti-p15E (KlonPF6J-2A)

Dako Diagnostica GmbH, Hamburg

Kaninchen anti-human CD3 (A0452)

Kaninchen nati-Maus IgG-PO (P0161)

Maus anti-myeloid/histiocyte Antigen (M0704)

Maus anti-PCNA (KlonPC10; M0879)

PAP vom Kaninchen (Z0113)

Schwein anti-Kaninchen IgG (Z0196)

Dianova GmbH, Hamburg

PAP von der Maus (223005025)

Ratte anti-Maus IgG (H&L; 415005100)

Fluka AG, Buchs, Schweiz

3,3'-Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) purum p.a., 32750

Imidazol, 56750

NaCl, 71381

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 93352

Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 93352

3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) purum p.a., 32750

I. Hecht, Kiel-Hasse

Eukitt®

Kreatech Diagnostics, Amsterdam, Niederlande

Target unmasking fluid, SP-0025-TUF

Life Science International, Frankfurt/Main

Coverplates™, 721100013

Menzel Gläser, Braunschweig

Superfrost*/Plus-Objektträger, 041300

E. Merck, Darmstadt

Glycerin (etwa 87%), 4094

Natriumchlorid krist., 6404

Papanicolaous Lösung 1b), 9254

Perhydrol® 30% H₂O₂ p.a. 7210

Novocastra; Newcastle, United Kingdom

Maus anti-human bcl-2 (Klon 100/D5, NCL-bcl-2; 600269)

Carl Roth GmbH&Co., Karlsruhe

Ethanol p.a., 9065

Methanol, 7342

Roti-Histol®, 6640

Xylol, 7913

Sigma Chemie, Deisenhofen

bakterielle Protease Typ XXIV, P8038)

Saure Leukozytenphosphatase, Kit, 387-A

Vector Laboratories, Burlingham, Kalifornien, USA

Kaninchen anti-Ratte IgG, biotyliniert, BA-4000

Pferd anti-Maus IgG, biotyliniert, BA-20000

Vectastatin ABC-Kit, PK-4000M

Vactastatin ABC-Elite-Kit, PK-6100

Ziege anti-Kaninchen IgG, biotyliniert, BA-1000

Vogel, Giessen

TissueTec®, Mod.4765

Vogel-Histo-Comp®, VO-5-1002

Liste der verwendeten Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Komplex
Ag	Antigen
Apop.	Apoptosen
B.	Blutungen
bidest	bidestillata
C	Celsius
DAB	Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid
dest.	destillata
diff.	differenziert
EG:	Entzündungsgrad
Elas.	Elastica-van Gieson
FeLV	Felines Leukämievirus
FeSV	Felines Sarkomvirus
FSA	Fibrosarkom
g.	gut
ggr.	geringgradig
GP	Gewebsprobe
h	Stunde (n)
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGP	Hautgewebsprobe
hgr.	hochgradig
HPF	high power field
I-FSA	Injektionsstellen-assoziiertes Fibrosarkom
Ig	Immunglobulin
IPO	indirekte Peroxidase
L.	Lokalisation
LI	Lymphozyteninfiltrate
M	molar
m	männlich
mgr	mittelgradig

MHC II	major histocompatibility complex class II
Mit.	Mitosen
mk	männlich kastriert
N.	Nekrosen
N	Gesamtzahl
n	Anzahl
nI-FSA	nicht Injektionsstellen-assoziiertes Fibrosarkom
o.b.B.	ohne besonderen Befund
OCL-GC	Osteoklasten-ähnliche Riesenzellen (osteoclast-like giant cells)
PAP	Peroxidase anti-Peroxidase
PBS	Phosphate-buffered saline
p.i.	post infectionem
PCNA	proliferating cell nuclear antigen
PO	Peroxidase
PS	Pferdeserum
®	registered trade mark
RS	Rattenserum
RZ	Riesenzellen
s.	schlecht
S.	Strukturierung
SF	Schnittfläche
SS	Schweineserum
T.	TUNEL
TBS	Tris-buffered saline
TRAP	Tartrat-resistente saure Phosphatase
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
TUF	target unmasking fluid
VB	Vorbehandlung
Verkn.	Verknöcherungen
w	weiblich
wk	weiblich kastriert
ZP	Zitratpuffer

Danken möchte ich

Herrn Prof. Dr. Reinacher für die Überlassung des Themas und die freundliche Aufnahme am Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen ("Machen se mal").

Meiner "Dokortante", Frau Dr. Anja Kipar, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nie in der vorliegenden Form hätte entstehen können. Auch wenn es nun wirklich nicht immer ganz reibungslos ablief denke ich gerne an die Zeit in Raum Nr. 203 zurück.

Weiterhin allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie, die meine Macken jahrelang ertragen mussten und trotzdem immer noch ein nettes Wort für mich übrig haben. Ganz besonders Kernt an dessen Rockzipfel ich meine ersten Immunhisto- und Hallenschritte getan habe.

Herrn Dr. Failing und Herrn Heiter vom Institut für Biomathematik der Justus-Liebig-Universität Giessen für die Hilfe und ihre unerschöpfliche Geduld bei der statistischen Beurteilung und der graphischen Darstellung der Daten.

Meinen Eltern, die niemals Zweifel an meinem Gelingen aufkommen ließen und mich immer unterstützt haben, sowie Tanja, einer großen Schwester wie sie im Bilderbuch steht.

Lui und Vreni für die Bereitstellung des Laptops und der Espressomaschine, zwei ganz wesentlichen Grundbausteinen für eine Promotion.

Nikola und Andrea, die immer ein offenes Ohr für mich hatten und alle Krisen bei dem einen oder anderen Telefonat und/oder Kaltgetränk mit mir durchgestanden haben.

Und natürlich Hans, ohne den ich nicht da wäre wo ich jetzt bin.

Dem Land Hessen für die finanzielle Unterstützung in Form eines zweijährigen Stipendiums für Nachwuchswissenschaftler.

Alles wird gut