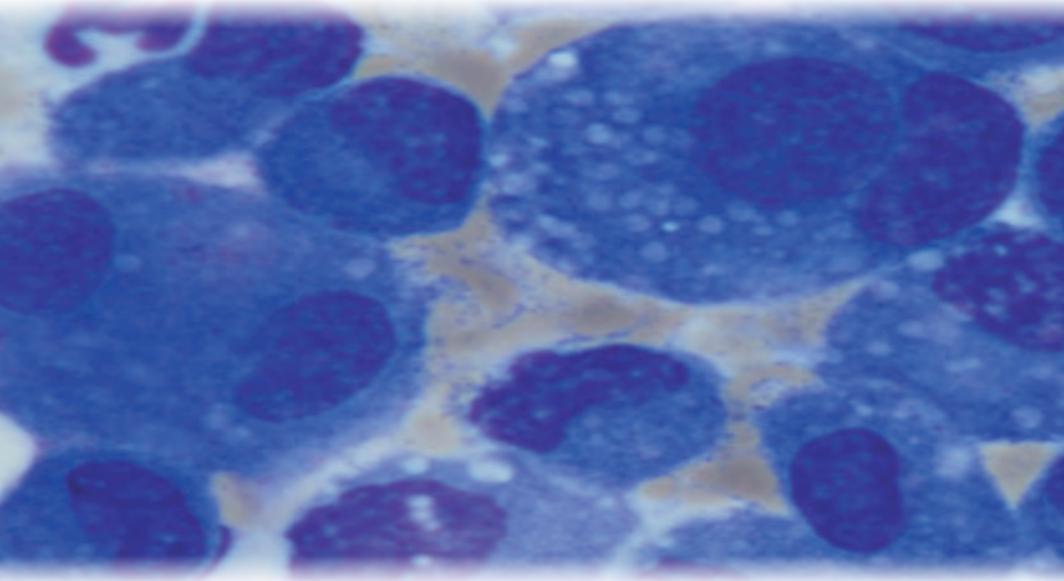


UNTERSUCHUNGEN ZUR HÄUFIGKEIT UND KLINISCHEM  
ERSCHEINUNGSBILD DES HISTIOZYTÄREN SARKOMS  
BEIM BERNER SENNENHUND UNTER BESONDERER  
BERÜCKSICHTIGUNG ZYTOLOGISCHER  
KNOCHENMARKANALYSEN

**CHRISTINA COENEN**



**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.  
beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**



**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 2010

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.

1<sup>st</sup> Edition 2010

© 2010 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen  
Printed in Germany



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN  
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890  
email: [redaktion@doktorverlag.de](mailto:redaktion@doktorverlag.de)

[www.doktorverlag.de](http://www.doktorverlag.de)

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin,  
Klinik für Kleintiere, Klinische Pathophysiologie und Klinische  
Laboratoriumsdiagnostik der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Andreas Moritz

**Untersuchungen zur Häufigkeit und klinischem  
Erscheinungsbild des histiozytären Sarkoms beim  
Berner Sennenhund unter besonderer Berücksichtigung  
zytologischer Knochenmarkanalysen**

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines  
Dr. med. vet.

beim Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

**Christina Coenen**

Tierärztin aus Bonn

Gießen 2009

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität

Dekan: Prof. Dr. Dr. G. Baljer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. A. Moritz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Burkhard

Tag der Disputation: 17.11.2009

„Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Christina Coenen

Gießen 2009

**Meinen Eltern**

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BG	Birbeck´s Granula
BSH	Berner Sennenhund
CD	<i>Cluster of differentiation</i> , Differenzierungsantigen
CLA	kutanes Lymphozyten assoziiertes Antigen
CT	Computertomographie
DC	dendritische Zelle
DHS	disseminiertes histiozytäres Sarkom
DSH	Deutscher Schäferhund
ECVCP	<i>Europeen college of veterinary clinical pathology</i>
GM-CSF	<i>granulocyte-makrophage colony stimulating factor</i> , Granulozyten-Makrophagenkolonie stimulierender Faktor
HHS	hämophagozytäres histiozytäres Sarkom
HS	histiozytäres Sarkom
HWS	Halswirbelsäule
IBD	<i>inflammatory bowel disease</i> , entzündliche Darmerkrankung
ICAM-1	<i>intercellular adhesion molecule</i> , interzelluläres Adhäsionsmolekül 1 (CD54)
IE	Internationale Einheit
IL	Interleukin
LHS	lokalisiertes histiozytäres Sarkom
NaCl	Natriumchlorid
MHC	<i>major histocompatibility complex</i> , Hauptgewebsverträglichkeitskomplex
M-CSF	<i>monocyte colony stimulating factor</i> Makrophagenkolonie stimulierender Faktor
Thy-1	Thymocyte differentiation antigen 1 (CD 90)
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
TGF- $\beta$	<i>transforming growth factor beta</i> , transformierender Wachstumsfaktor
WHWT	West Highland White Terrier
ZNS	zentrales Nervensystem

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ZIEL DER ARBEIT</b> .....	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT</b> .....	<b>4</b>
<b>3.1</b>	<b>Histiozytäre Zellen</b> .....	<b>4</b>
<b>3.2</b>	<b>Histiozytäre Erkrankungen</b> .....	<b>8</b>
3.2.1	Kutaner Histiozytomkomplex .....	9
3.2.1.1	Kutanes Histiozytom.....	9
3.2.1.2	Metastasiertes Histiozytom.....	9
3.2.1.3	Langerhans' Zell Histiozytose.....	10
3.2.1.4	Immunophänotypisierung .....	11
3.2.1.5	Pathogenese der Regression .....	12
3.2.1.6	Therapie .....	12
3.2.2	Reaktive Histiozytose .....	13
3.2.2.1	Signalement und Klinik .....	13
3.2.2.2	Immunophänotypisierung .....	14
3.2.2.3	Pathogenese .....	14
3.2.2.4	Zytologie und Histologie .....	16
3.2.2.5	Therapie .....	17
3.2.3	Histiozytäres Sarkom.....	18
3.2.3.1	Signalement .....	18
3.2.3.2	Pathogenese .....	20
3.2.3.3	Immunophänotypisierung .....	22
3.2.3.4	Klinik.....	23
3.2.3.5	Blutuntersuchungen.....	24
3.2.3.5.1	Hämatologie .....	24
3.2.3.5.2	Klinische Chemie.....	25
3.2.3.6	Bildgebende Verfahren.....	26
3.2.3.6.1	Röntgen des Thorax.....	26
3.2.3.6.2	Sonographie des Abdomens .....	27
3.2.3.7	Zytologie.....	28
3.2.3.8	Histologie.....	30
3.2.3.9	Prognose und Überlebenszeit .....	31
3.2.3.10	Therapie .....	32
3.2.4	Vererbung histiozytärer Erkrankungen .....	34
<b>3.3</b>	<b>Hämophagozytäres Syndrom</b> .....	<b>36</b>
3.3.1	Pathogenese .....	37

<b>3.4</b>	<b>Knochenmarkuntersuchung als Diagnostikum .....</b>	<b>38</b>
3.4.1	Indikationen .....	38
3.4.2	Knochenmarkuntersuchungen bei histiozytären Erkrankungen.....	39
3.4.2.1	Histiozytäres Sarkom.....	39
3.4.2.2	Systemische Histiozytose .....	41
3.4.2.3	Hämophagozytäres Syndrom .....	41
<b>4</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen.....</b>	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Klinische und weiterführende Untersuchungen von Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.....</b>	<b>46</b>
4.2.1	Zytologische Differenzierung der histiozytären Zellen .....	46
<b>4.3</b>	<b>Knochenmarkuntersuchungen bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.....</b>	<b>48</b>
4.3.1	Probanden.....	48
4.3.2	Knochenmarkentnahme und Probenverarbeitung .....	48
4.3.3	Erstellung der Myelogramme.....	49
<b>4.4</b>	<b>Statistische Auswertung.....</b>	<b>52</b>
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>53</b>
<b>5.1</b>	<b>Retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen.....</b>	<b>53</b>
5.1.1	Diagnosegruppe Tumoren (185/708 = 26,1%) .....	56
5.1.1.1	Hämatopoetische Tumoren (123/708 = 17,4%).....	56
5.1.1.1.1	Histiozytäres Sarkom.....	57
5.1.1.2	Andere Tumoren (62/708 = 8,8%) .....	58
5.1.1.2.1	Lungentumoren (22/708 = 3,1%).....	59
5.1.1.2.2	Leber- und Milztumoren (11/708 = 1,6%) .....	59
5.1.1.2.3	Blasentumoren (8/708 = 1,1%).....	59
5.1.1.2.4	restliche Tumoren (21/708 = 3,0%) .....	59
5.1.1.3	Signalement der Hunde mit histiozytärem Sarkom.....	61
<b>5.2</b>	<b>Klinische und weiterführende Untersuchungen von Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.....</b>	<b>63</b>
5.2.1	Signalement .....	63
5.2.2	Anamnese .....	64
5.2.3	Klinische Untersuchung.....	65
5.2.3.1	Allgemeine klinische Untersuchung.....	65
5.2.3.2	Spezielle klinische Untersuchung.....	66
5.2.4	Weiterführende Untersuchungen.....	71
5.2.4.1	Blutuntersuchungen.....	71
5.2.4.1.1	Hämatologie .....	71
5.2.4.1.2	Klinische Chemie.....	73

5.2.4.2	Bildgebung .....	77
5.2.4.2.1	Röntgen des Thorax .....	77
5.2.4.2.2	Sonographie des Abdomens .....	81
5.2.4.3	Zytologie .....	85
5.2.4.3.1	Lunge .....	87
5.2.4.3.2	Leber .....	87
5.2.4.3.3	Milz .....	88
5.2.4.3.4	Lymphknoten .....	89
5.2.4.3.5	Haut .....	89
5.2.4.3.6	Knochenmark .....	90
5.2.4.3.7	Sonstiges .....	90
5.2.5	Sektion .....	95
5.2.5.1	Übersicht .....	95
5.2.5.2	Milz .....	96
5.2.5.3	Leber .....	97
5.2.5.4	Lymphknoten .....	97
5.2.5.5	Lunge .....	98
5.2.5.6	Knochenmark .....	98
5.2.5.7	Niere .....	101
5.2.5.8	Haut .....	101
5.2.5.9	Sonstiges .....	101
<b>5.3</b>	<b>Zytologische Knochenmarkuntersuchungen</b> .....	<b>102</b>
5.3.1	Morphologische Auswertung der histiozytären Zellen .....	102
5.3.1.1	Beagle .....	102
5.3.1.2	Berner Sennenhunde .....	102
5.3.2	Myelogramme .....	104
5.3.2.1	Überprüfung auf Normalverteilung .....	104
5.3.2.2	Vergleich der Zellreihen zwischen den Hundegruppen .....	104
5.3.2.2.1	Mittelwertsabweichungen .....	104
5.3.2.2.2	Abweichung der Varianzen .....	106
5.3.2.2.3	Histiozytäre Zellen im Myelogramm .....	107
5.3.2.2.4	Zeitabhängige Auszählung .....	108
5.3.2.2.5	Monozytäre Vorläuferzellen .....	108
5.3.2.3	Vergleich zwischen Knochenmarks- und hämatologischen Befunden .....	109
5.3.2.3.1	Monopoese und Monozyten im peripheren Blut .....	109
5.3.2.3.2	Histiozytäre Zellen und Monozyten im Blut .....	109
5.3.2.3.3	Myelopoese .....	110
5.3.2.3.4	Erythropoese .....	110

5.3.2.3.5	M/E-Verhältnis .....	111
5.3.2.3.6	Vergleich zwischen M/E-Verhältnis und hämatologischen Befunden.....	112
5.3.2.3.7	Megakaryopoese .....	114
<b>6</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>115</b>
<b>6.1</b>	<b>Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms.....</b>	<b>115</b>
<b>6.2</b>	<b>Klinische Auswertung der Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom .....</b>	<b>121</b>
6.2.1	Signalement .....	121
6.2.2	Überlebenszeit nach Diagnosestellung .....	121
6.2.3	Anamnese .....	122
6.2.4	Klinische Untersuchung.....	122
6.2.5	Blutuntersuchungen.....	124
6.2.5.1	Erythrozyten .....	125
6.2.5.2	Thrombozyten .....	126
6.2.5.3	Blutbildveränderungen im Hinblick auf ein zugrunde liegendes hämophagozytäres histiozytäres Sarkom .....	128
6.2.6	Bildgebende Verfahren.....	132
6.2.6.1	Röntgen des Thorax.....	132
6.2.6.2	Sonographie des Abdomens .....	132
6.2.6.3	Vergleich der Veränderungen.....	133
6.2.7	Zytologie.....	136
6.2.7.1	Zytologische Diagnosestellung.....	136
6.2.7.2	Differenzierung zwischen hämophagozytären histiozytären Sarkom und histiozytärem Sarkom.....	138
6.2.8	Differenzierung zwischen reaktiver Histiozytose und histiozytärem Sarkom.....	143
<b>6.3</b>	<b>Auswertung Knochenmarkpunktion.....</b>	<b>144</b>
6.3.1	Histiozytäre Zellen im Knochenmark .....	145
6.3.1.1	Vorkommenshäufigkeit von histiozytären Tumorzellen.....	145
6.3.1.2	Anteil der histiozytären Tumorzellen.....	146
6.3.1.3	Auszählungsmethoden der histiozytären Tumorzellen .....	147
6.3.1.4	Morphologie der histiozytären Tumorzellen.....	148
6.3.2	Differenzierung hämophagozytäres histiozytäres Sarkom zu histiozytärem Sarkom.....	149
6.3.3	Veränderungen anderer Zellreihen.....	149
6.3.3.1	Monopoese.....	150
6.3.3.2	Monopoese im allgemeinen Literaturvergleich .....	152
6.3.4	Vergleich Knochenmark und Hämatologie .....	154

<b>7</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>155</b>
<b>8</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>157</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>159</b>
<b>9.1</b>	<b>Anhang Diagnosegruppen.....</b>	<b>159</b>
<b>9.2</b>	<b>Anhang Signalement.....</b>	<b>163</b>
<b>9.3</b>	<b>Anhang Hämatologie.....</b>	<b>164</b>
<b>9.4</b>	<b>Anhang Blutchemie.....</b>	<b>165</b>
<b>9.5</b>	<b>Anhang Myelogramme .....</b>	<b>166</b>
<b>9.6</b>	<b>Anhang Statistik Myelogramme .....</b>	<b>171</b>
<b>10</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>172</b>
<b>11</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>177</b>

# 1 EINLEITUNG

Der Berner Sennenhund hat mit 6,8 Jahren (Eichelberg and Seine 1996) eine kurze Lebenserwartung. Inwieweit die Tatsache, dass Berner Sennenhunde im Vergleich zu anderen Hunderassen ein erhöhtes Tumorrisiko aufweisen (Eichelberg und Seine 1996; Bonnett, Egenvall et al. 1997; Bomhardt 2001), die bei der kurzen Lebenserwartung eine Rolle spielt, ist unklar. Eine besondere Bedeutung unter den Tumoren des Berner Sennenhundes hat das histiozytäre Sarkom, an dem der Berner Sennenhund 225-mal häufiger erkrankt als jede andere Hunderasse (Shaiken, Evans et al. 1991). Ein genetischer Hintergrund konnte dabei bewiesen werden (Moore 1984; Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986; Padgett, Madewell et al. 1995; Voegeli, Welle et al. 2006). Die absolute Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms innerhalb der Population der Berner Sennenhunde wurde bisher jedoch nur unzureichend untersucht (Padgett und Madewell et al. 1995). Neben einer genetischen Prädisposition für das histiozytäre Sarkom neigen die BSH aber auch zur Entwicklung anderer Tumoren wie Lymphomen, Mastzelltumoren und Fibrosarkomen (Bomhardt 2001) und zur Entwicklung einer familiären membranproliferativen Glomerulonephritis (Reusch, Hörauf et al. 1994; Vaden 2005), zu deren Häufigkeit innerhalb der Rasse ebenfalls bisher, soweit bekannt, keine Studien vorliegen.

Das histiozytäre Sarkom ist ein Tumor, der zur Gruppe der histiozytären Erkrankungen gehört. Histiozyten selber stellen eine Untergruppe der Leukozyten dar und entstehen aus einer gemeinsamen pluripotenden CD34+ Knochenmarkstammzelle. Unter dem Einfluß von Zytokinen differenzieren sie sich in Monozyten und Makrophagen oder dendritische Zellen (Fulmer and Mauldin 2007).

Wie jede Zelle im Körper können auch histiozytäre Zellen entarten oder durch eine fehlgeleitete Immunantwort proliferieren. Nachdem in den 70er Jahren das erste Mal ein histiozytärer Tumor beim Hund beschrieben wurde (Schalm 1978), unterscheidet man in der aktuellen Nomenklatur 3 Gruppen von histiozytären Erkrankungen (Affolter and Moore 2002) beim Hund: den kutanen Histiozytomkomplex, die reaktive Histiozytose (kutane Histiozytose und systemische Histiozytose) und das histiozytäre Sarkom mit einer lokalisierten und einer disseminierten Form (Moore and Affolter 2002), wobei der Berner Sennenhund, wie bereits erwähnt, für die systemische

Histiozytose und das histiozytäre Sarkom eine genetische Prädisposition aufweist (Padgett, Madewell et al. 1995; Voegeli, Welle et al. 2006).

Da es sich beim histiozytären Sarkom um einen hämatopoetischen Tumor handelt, kann prinzipiell fast jedes Organ des Körpers betroffen sein und somit je nach Lokalisation ein sehr unterschiedliches klinisches Erscheinungsbild hervorgerufen werden. Typische Tumorlokalisationen bei der disseminierten Form der Erkrankung sind dabei die Lunge, die Leber, die Milz, die Lymphknoten und das Knochenmark (Affolter and Moore 2002). Der Krankheitsverlauf ist sehr aggressiv und mit einer schlechten Prognose für den Hund verbunden. Angaben zur Überlebenszeit finden sich lückenhaft in wenigen Studien (Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006).

Bei der systemischen Histiozytose handelt es sich um eine durch eine Immundysregulation hervorgerufene reaktive Erkrankung (Affolter and Moore 2000), die durch einen langsameren klinischen Verlauf gekennzeichnet ist. Im amerikanischen Raum wird sie als eine beim Berner Sennenhund nicht selten vorkommende Erkrankung beschrieben (Affolter and Moore 2000), während in einer einzigen bisher zu diesem Thema veröffentlichten europäischen Studie von VOEGELI et. al (2006) die systemische Histiozytose selten vorkam. Im Gegensatz zum disseminierten histiozytären Sarkom gibt es hier Therapiemöglichkeiten, bei denen eine Überlebenszeit von 6-18 Monaten erreicht werden kann.

Zur sicheren Unterscheidung des histiozytären Sarkoms und der systemischen Histiozytose, sowie zur Abgrenzung dieser Erkrankungen zu anderen hämatopoetischen Tumoren (z.B. Lymphom), ist eine zytologische oder histologische Untersuchung von tumorös verändertem Gewebe notwendig, wobei die Immunhistologie den „golden standard“ darstellt (Affolter and Moore 2002). Je nach Lokalisation des Tumors (z.B. Lunge, Wirbelsäule) ist eine Probenentnahme jedoch oft mit hohem Aufwand und Komplikationen für den Patienten verbunden.

In der bisher veröffentlichten Literatur fand sich bei 55% aller Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom neben einer Tumordinfiltration verschiedener Organe auch eine histologisch nachweisbare Tumormetastasierung ins Knochenmark (Affolter and Moore 2002). Entsprechende Daten zytologischer Knochenmarkuntersuchungen bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom fehlen bisher.

## 2 ZIEL DER ARBEIT

Ziel dieser Arbeit war zunächst die retrospektive Auswertung der Vorkommenshäufigkeit von verschiedenen Tumoren und im Speziellen des histiozytären Sarkoms innerhalb der in der Giessener Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, seit 1994 vorgestellten Berner Sennenhunde im Vergleich zu anderen bei dieser Rasse auftretenden Erkrankungen.

In einem weiteren Schritt sollten prospektiv alle Berner Sennenhunde mit den rassespezifischen histiozytären Erkrankungen systemische Histiozytose und histiozytäres Sarkom näheren klinischen, hämatologischen und weiterführenden Untersuchungen unterzogen werden, um die Daten mit den bisher in der Literatur veröffentlichten Daten zu vergleichen und zu erweitern. Außerdem sollte untersucht werden, inwieweit eine klinische und zytologische Diagnosestellung ohne anschließende Histologie möglich ist und wie häufig die beiden Erkrankungen im Verhältnis zueinander vorkommen.

Da eine Knochenmarkpunktion am lebenden Hund sehr einfach und nahezu ohne Risiko für den Hund möglich ist (Moritz 1993), umfasste der dritte Bereich der Studie die Analyse von zytologischen Knochenmarkausstrichen bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom. Hierbei sollte untersucht werden, wie häufig eine zytologisch sichtbare Tumordinfiltration des Knochenmarks erfolgt und inwieweit anhand vorhandener histiozytärer Zellen im Knochenmark eine Tumordifferenzierung zur Verbesserung der Diagnostik histiozytärer Erkrankungen erfolgen kann.

## 3 LITERATURÜBERSICHT

### 3.1 Histozytäre Zellen

Der Begriff Histozyt wird unterschiedlich verwendet. Eine Definition von FAVARA et al. (1997) sieht Histozyten als morphologisch und familiär ähnliche Immunzellen, zu denen Makrophagen und dendritische Zellen (beim Hund: Langerhans'sche Zellen = dendritische Zellen in der Epidermis, interstitielle dendritische Zellen, interdigitierende dendritische Zellen) gehören.

Die Histozyten entstammen alle einer gemeinsamen CD34+ Stammzelle (cluster of differentiation, Differenzierungsantigen) im Knochenmark (Abb. 1), aus der sie sich in Makrophagen und verschiedene myeloisch dendritische Zellen differenzieren. Die Differenzierung erfolgt abhängig von verschiedenen Zytokinen. Eine Differenzierung in Makrophagen erfolgt über GM-CSF (Granulozyten-Makrophagenkolonie stimulierender Faktor) und M-CSF (Makrophagenkolonie-stimulierender Faktor), während eine Differenzierung in dendritische Zellen über GM-CSF und TNF- $\alpha$  (Tumornekrosefaktor alpha) stattfindet (Moore and Affolter 2002).

Die Blutmonozyten behalten eine gewisse Entwicklungsplastizität und können sich abhängig vom Zytokin - und Wachstumsfaktormilieu in Makrophagen oder interstitiell dendritische Zellen differenzieren (Moore, Affolter et al. 2006).

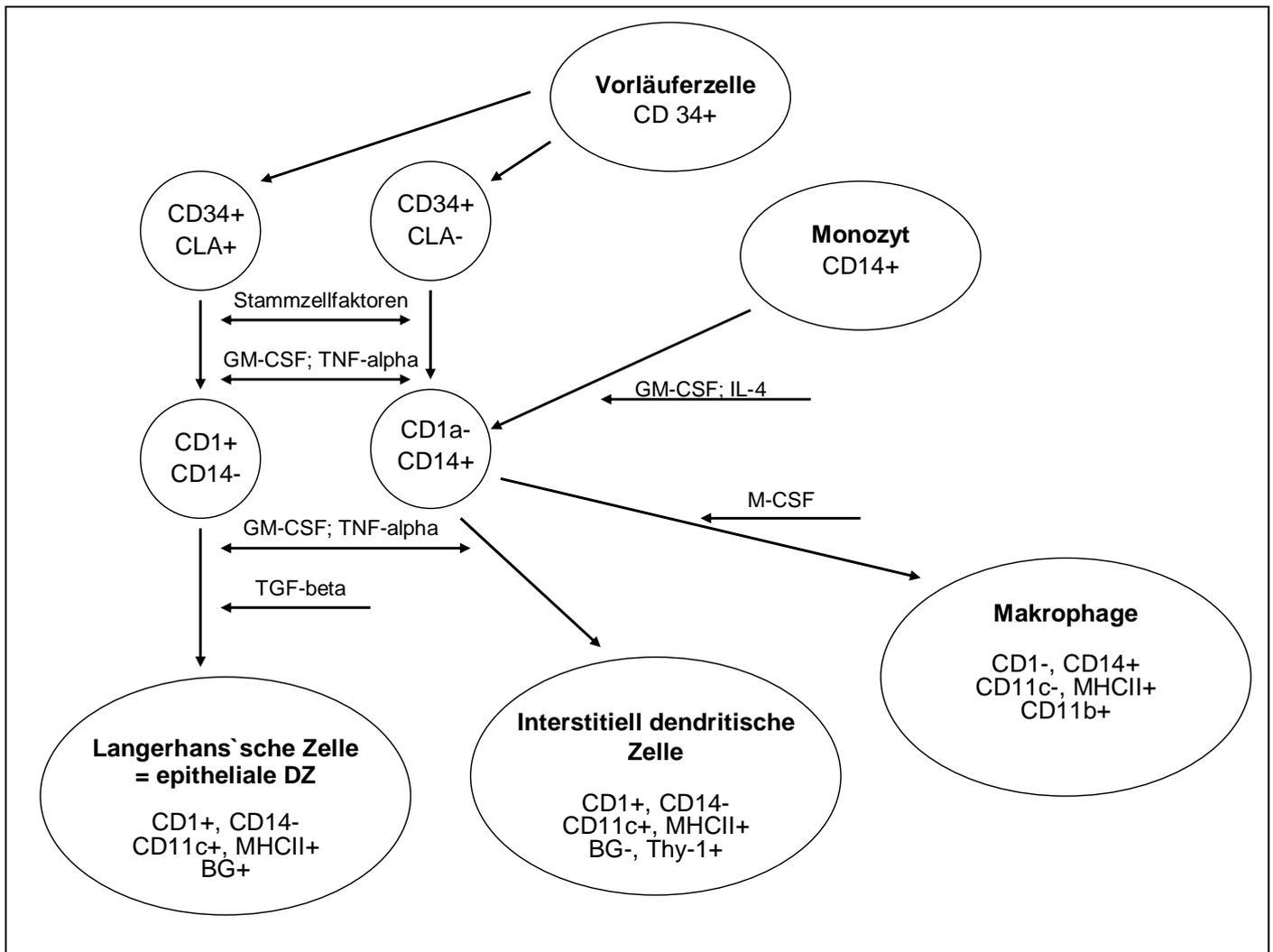


Abb. 1: Ontogenese und phänotypische Charakteristika histiozytärer Zellen beim Hund nach AFFOLTER und MOORE (2002).

DC = Dendritische Zelle; BG = Birbeck's Granula (für Langerhans'sche-Zellen typische tennisschläger-ähnliche Granula); CLA = kutanes-Lymphozyten assoziiertes Antigen; TNF = Tumornekrosefaktor; TGF = transformierender Wachstumsfaktor; MHC = Hauptgewebeverträglichkeitskomplex; GM-CSF= Granulozyten-Makrophagenkolonie stimulierender Faktor; M-CSF = Makrophagenkolonie stimulierender Faktor

Bei dendritischen Zellen handelt es sich um sehr potente antigen-präsentierende Zellen, die für die Induktion einer Immunantwort mit naiven T-Zellen verantwortlich sind (Affolter and Moore 2002). Nach der Bildung im Knochenmark migrieren die unreifen dendritischen Zellen (Langerhans'sche Zellen und interstitiell dendritische Zellen) in verschiedene Organe des Körpers, wo sie in nahezu jedem Organ außer

dem Gehirn, Teilen des Auges und den Hoden gefunden werden können (Tizard 2004). Langerhans'sche Zellen finden sich vor allem in der Epidermis, dem follikulären Epithel und dem Mukosaepithel, interstitiell dendritische Zellen lassen sich in zahlreichen nicht-lymphatischen Organen nachweisen (Affolter and Moore 2002). Sie sterben innerhalb von 2-4 Tagen, falls ein Antigenkontakt ausbleibt (Tizard 2004). Nach einem Antigenkontakt kommt es zur Aktivierung und zur Migration der dendritischen Zellen über das Blut oder die Lymphe in die Lymphknoten oder die Milz (Tizard 2004), wo die Zellen als interdigitierende dendritische Zellen über MHCI, MHCII und CD1-Moleküle Antigene für T-Lymphozyten präsentieren und dadurch eine Immunantwort hervorrufen (Affolter and Moore 2002). Die Expression von CD1 kann nur bei dendritischen Zellen beobachtet werden, wohingegen MHCI und MHCII auf einem weiteren Zellspektrum exprimiert werden (Moore and Affolter 2002).

Weitere Oberflächenmarker, die zur Differenzierung von histiozytären Zellen herangezogen werden können, sind die sogenannten  $\beta$ -2-Integrine (CD11/CD18), die als Adhäsionsmoleküle auf Leukozyten einen wichtigen Leukozytenmarker darstellen. Hierbei wird CD11c vor allem von dendritischen Zellen exprimiert, während CD11b einen Makrophagenmarker darstellt. Im Knochenmark und der Milz wird vor allem CD11d von Makrophagen exprimiert (Moore and Affolter 2002).

Eine Unterscheidung zwischen Langerhans'schen Zellen und interstitiellen dendritischen Zellen kann durch die unterschiedliche Expression von E-Cadherin (Langerhans'sche Zellen) und Thy-1 (interstitielle dendritische Zellen) erfolgen (Moore and Affolter 2002).

Die Nomenklatur beim Menschen variiert bei verschiedenen Autoren. Laut AFFOLTER und MOORE (2002) ist beim Menschen neben Langerhans'schen Zellen und interstitiellen dendritischen Zellen eine dritte Subpopulation von myeloisch dendritischen Zellen bekannt (dendritische Zellen von lymphatischen Organen), die in hohem Maße IL-3 $\alpha$ -Rezeptoren (Interleukin) exprimieren und unmittelbar nach der Bildung im Knochenmark - unabhängig von einem vorherigen Antikörperkontakt - in die T-Zell-Areale von lymphatischen Organen migrieren. In der Publikation von PILERI et al. (2002) werden beim Menschen neben den interstitiell dendritischen Zellen und den Langerhans'schen Zellen, noch die interdigitalen dendritischen Zellen (laut AFFOLTER und MOORE (2002) dendritische Zellen von lymphatischen Organen), die follikulären dendritischen Zellen, die sich in den germinalen Zonen der

Lymphknoten finden, und die indeterminierten („verschleierten“) Zellen, die von Langerhans'schen Zellen oder interstitiell dendritischen Zellen ausgehen und nach Antigenkontakt zu den lymphatischen Organen auswandern, unterschieden. Ein hämatopoetischer Ursprung der follikulären dendritischen Zellen ist jedoch laut FAVARA et al. (1997) nicht bewiesen. Die meisten Hinweise sprechen für das Vorliegen eines mesenchymalen Ursprungs.

Insgesamt zeigen die histiozytären Zellen enge Beziehungen in Morphologie und Funktion, weshalb eine zytomorphologische Unterscheidung oft nicht möglich ist und somit eine Immunphänotypisierung zur Unterscheidung zwischen Makrophagen und dendritischen Zellen notwendig wird (Favara, Feller et al. 1997).

## 3.2 Histozytäre Erkrankungen

Histozytäre Erkrankungen kommen beim Menschen selten vor (Favara, Feller et al. 1997; Pileri, Grogan et al. 2002). VOEGELI et al. (2006) beschreiben das Vorkommen von histozytären Erkrankungen beim Hund jedoch als häufig. In einer Studie von PADGET et al. (1995) waren von 500 histologisch untersuchten Tumoren beim Berner Sennenhund 127 histozytären Ursprungs, was einen Anteil von 25% aller Tumoren in dieser Rasse ausmacht.

Die korrekte Klassifikation histozytärer Erkrankungen wird vor allem beim Menschen (Pileri, Grogan et al. 2002) kontrovers diskutiert. Beim Hund werden 3 Gruppen von histozytären Erkrankungen unterschieden (Affolter and Moore 2002): der kutane Histozytomkomplex, die reaktive Histozytose und das histozytäre Sarkom (Moore and Affolter 2002), welches in einer lokalisierten und einer disseminierten Form auftritt, die früher unter dem Begriff „maligne Histozytose“ bekannt war (Voegeli, Welle et al. 2006). In dieser Arbeit wird im Weiteren der Begriff des disseminierten histozytären Sarkoms (DHS) benutzt. Seit dem Jahr 2006 muß der Klassifikation eine weitere Form des histozytären Sarkoms, das hämophagozytäre histozytäre Sarkom (HHS) hinzugefügt werden (Moore, Affolter et al. 2006).

Eine Gemeinsamkeit der histozytären Erkrankungen beim Hund ist eine Proliferation einer der 3 Zelllinien der myeloisch dendritischen Zellen (interstitiell dendritische Zellen, Langerhans'sche Zellen oder Makrophagen) (Moore, Affolter et al. 2006). Im Folgenden sollen die verschiedenen beim Hund vorkommenden Tumoren histozytären Ursprungs aufgeführt werden.

### 3.2.1 Kutaner Histozytomkomplex

Zum kutanen Histozytomkomplex gehört einerseits das häufig vorkommende kutane Histozytom, welches in seltenen Fällen metastasieren (metastasiertes Histozytom) kann, und andererseits die beim Hund sehr selten auftretende Langerhans' Zell-Histozytose. Alle Formen des kutanen Histozytomkomplexes gehen von Langerhans'schen Zellen aus.

#### 3.2.1.1 Kutanes Histozytom

Das kanine kutane Histozytom ist ein häufiger, in der Regel benigner Hauttumor der Langerhans'schen Zellen (Baines, Bujdoso et al. 2000). Der Tumor tritt meist als einzelner Hauttumor beim jungen Hund auf und ist häufig im Bereich der Extremitäten, der Ohren oder der Schnauze lokalisiert (Nagata, Hirata et al. 2000). Die altersspezifische Vorkommenshäufigkeit des Tumors sinkt deutlich bei Hunden über 3 Jahren, obwohl das kutane Histozytom bei Hunden jeden Alters beobachtet werden kann (Moore, Schrenzel et al. 1996). Eine Rassedisposition für den Berner Sennenhund ist bisher nicht bekannt (Kaim, Moritz et al. 2006). In der Arbeit von KIPAR (1994) waren Boxer und Dackel am häufigsten betroffen.

Klinisch präsentiert sich das kanine kutane Histozytom als schnell wachsender, scharf begrenzter, haarloser, erythematöser und häufig ulzerierter erhabener Knoten. Normalerweise kommt es beim kutanen Histozytom zu einer spontanen Regression (Nagata, Hirata et al. 2000).

#### 3.2.1.2 Metastasiertes Histozytom

In der Literatur sind wenige Fälle beschrieben, in denen es zu einer Metastasierung eines kutanen Histozytoms in die drainierenden Lymphknoten kam (Moore, Schrenzel et al. 1996). Auch das Auftreten multipler Histozytome mit und ohne Lymphknotenbeteiligung ist erwähnt (Moore, Schrenzel et al. 1996; Linek and Mecklenburg 2001)

Bei einigen dieser Hunde kam es zu einer spontanen Regression der Läsionen innerhalb von 3-4 Wochen (Moore and Affolter 2002). Allerdings beschreiben sowohl LINEK und MECKLENBURG (2001) als auch MOORE et al. (1996) Fälle, bei denen die Regression ausblieb und die Hunde eingeschläfert wurden. Ein Hund wurde infolge einer Septikämie, die durch ulzerierte und infizierte Hauttumoren entstanden war, euthanasiert (Moore, Schrenzel et al. 1996).

Auch eine Metastasierung von den Lymphknoten in die Lunge ist bei wenigen Hunden beobachtet worden (Moore and Affolter 2002).

### 3.2.1.3 Langerhans' Zell Histiozytose

Beim Menschen ist die sogenannte Langerhans' Zell Histiozytose beschrieben, bei der es zur Infiltration verschiedener Organe - vor allem Haut, Knochen, Leber, Milz, Lunge und Schilddrüse - mit Langerhans'schen Zellen kommt. Das klinische Spektrum der Erkrankung beim Menschen stellt sich sehr variabel dar und reicht von asymptomatischem Einzelorganbefall bis zu fatalen multisystemischen Erkrankungen. Die Mortalität ist vor allem bei Kindern unter 2 Jahren sehr hoch (Nagata, Hirata et al. 2000).

Auch beim Hund gibt es einen einzelnen Fallbericht über eine Langerhans' Zell Histiozytose. So beschreiben NAGATA et al. (2000) das Auftreten bei einem 8 Monate alten Dackel, der zunächst mit generalisierten, multiplen Knoten und Plaques vorgestellt wurde, nachdem 2 Monaten zuvor ein solitärer Tumor an der Ohrmuschel entfernt worden war. Der Hund zeigte sich zum Zeitpunkt der Vorstellung klinisch gesund, allerdings kam es im Verlauf der Behandlung zur Generalisierung der Erkrankung in Leber und Lymphknoten, und der Hund wurde euthanasiert. MOORE und AFFOLTER (2002) erwähnen unveröffentlichte Daten von 4 Hunden, die die typischen Symptome einer Langerhans' Zell Histiozytose zeigten, und die als Folge der Progression der Erkrankung euthanasiert wurden.

Die Ätiologie und Pathogenese der Langerhans' Zell Histiozytose sind zum momentanen Zeitpunkt noch unklar, allerdings wird eine immunologische Dysfunktion vermutet, die durch ein fehlerhaftes „Down-Regulierungs-Signal“ der Langerhans'schen Zellen entsteht, durch das es zu Akkumulation und/oder

Proliferation von abnormalen Langerhans'schen Zellen kommt (Nagata, Hirata et al. 2000).

Laut MOORE und AFFOLTER (2002) handelt es sich bei Formen des multiplen Histiocytems mit Metastasierung in die Lymphknoten und der Langerhans' Zell Histiocytose wahrscheinlich um 2 Formen der gleichen Erkrankung mit verschiedenem klinischen Bild.

#### 3.2.1.4 Immunophänotypisierung

Mithilfe der Immunohistochemie konnte die Ursprungszelle des Histiocytems, die Langerhans'sche Zelle, eindeutig festgestellt werden. Die Zellen exprimieren CD 1a, CD1c, CD11a, CD11c, MHCI, sowie MHCII und E-Cadherin (Moore, Schrenzel et al. 1996; Baines, Bujdoso et al. 2000; Moore and Affolter 2002). Innerhalb der Leukozyten ist die Expression von E-Cadherin einzigartig bei Langerhans'schen Zellen (Moore and Affolter 2002). Histiocytemen fehlt hingegen die Expression von CD4 und Thy-1, welche bei der reaktiven Histiocytose exprimiert werden.

Dendritische Zellen existieren in 2 Reifungsformen, welche sich über unterschiedliche Oberflächenmarker unterscheiden lassen. Als unreife Zellen kommen sie im Körper in nicht-lymphatischen Organen vor. Nach Antigenaufnahme reifen die Zellen und wandern in die T-Zell-abhängigen Bereiche von sekundären lymphatischen Organen, wo sie naive T-Zellen aktivieren (Baines, Bujdoso et al. 2000).

Anhand von Oberflächenmarkern kann eine Unterscheidung zwischen unreifen und aktivierten Langerhans'schen Zellen erfolgen (Baines, Bujdoso et al. 2000). So exprimieren unreife Langerhans'sche Zellen vor allem viel CD1 und E-Cadherin, und niedrige Level von MHCI und MHCII. Bei der Aktivierung der Zellen kommt es zu einer umgekehrten Runterregulierung von CD1 und E-Cadherin, sowie zu einer Hochregulierung von MHCI und MHCII (Baines, Bujdoso et al. 2000). Außerdem exprimieren aktivierte Langerhans'sche Zellen das intrazelluläre Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1). BAINES et al. (2000) konnten anhand von Immunophänotypisierung neben der Expression von Langerhans'schen typischen Zelloberflächenmarkern eine Expression von CD1b, CD11b, CD44, CD49d und ICAM-1 nachweisen, welche nur von aktivierten Langerhans'schen Zellen exprimiert werden. Weiterhin konnten die

Autoren zeigen, daß die Langerhans'schen Zellen je nach klinischem Stadium des Tumors unterschiedliche Phänotypen und Funktionen zeigen, welche die verschiedenen Stadien der dendritischen Zellreifung widerspiegeln.

### 3.2.1.5 Pathogenese der Regression

Die genauen Mechanismen der Regression beim kaninen Histiocytom waren lange unklar (Moore, Schrenzel et al. 1996). In einer 2006 von KAIM et al. erschienenen Studie wurden die Mechanismen der Tumorregression genauer untersucht. Als grundsätzliche Mechanismen der Tumorregression konnten die Autoren eine zu Beginn stattfindende Infiltration mit CD4-T-Zellen zeigen, die von einem Anstieg an Th1 Zytokinen (IL-2, TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ ) begleitet war, welche wiederum zu einer Anlockung von Antitumor-Effektorzellen wie Makrophagen und CD8-Zellen führte (Kaim, Moritz et al. 2006).

### 3.2.1.6 Therapie

Zum jetzigen Zeitpunkt kann keine Therapie empfohlen werden. Unterstützende Maßnahmen durch Antibiotika, um Septikämien zu vermeiden, oder chirurgische Exstirpation des Tumors sind ausgenommen. Eine immunsuppressive Therapie ist kontraindiziert, da man einer möglichen Immunantwort zur Induktion einer Regression entgegensteuert. Alle bisher bekannten Fälle multipler Histiozytome reagierten nicht auf immunsuppressive Therapie (Linek and Mecklenburg 2001).

## 3.2.2 Reaktive Histiozytose

Zur reaktiven Histiozytose gehören die **kutane und die systemische Histiozytose**, bei denen es sich um reaktive histiozytäre Erkrankungen handelt, die durch Infiltration und Proliferation von dendritischen Zellen charakterisiert sind (Affolter and Moore 2000).

### 3.2.2.1 Signalement und Klinik

Die **kutane Form** die zuerst von CALDERWOOD MAYS und BERGERON 1986 beschrieben wurde, tritt in Form multipler Knoten in der Haut oder seltener in der Unterhaut bei Hunden jeder Rasse im Alter zwischen 2 und 11 Jahren, am häufigsten zwischen 2 und 6 Jahren, auf (Voegeli, Welle et al. 2006). Die Hauptlokalisation der Hauttumoren sind der Kopf, der Hals, die Extremitäten, sowie das Skrotum und selten der Rumpf oder das Abdomen (Affolter and Moore 2000).

Die **systemische Form** der Erkrankung wurde 1984 von MOORE et al. (1984) zuerst bei 6 verwandten Berner Sennenhunden beschrieben, von denen 5 männlich waren. Seitdem ist die Erkrankung auch beim Rottweiler, Golden Retriever und Labrador Retriever sowie bei vielen anderen Rassen beobachtet worden (Affolter and Moore 2000).

Es handelt sich um eine systemische, proliferative Erkrankung, die sich klinisch durch einen wellenförmigen Verlauf auszeichnet (Moore and Affolter 2002). Hauptsächlich betroffene Organe sind Lymphknoten, Augenlider, Skleren, Nasenhöhle, Lunge, Milz und Knochenmark (Affolter and Moore 2000). Bei der systemischen Form steht in der Regel die Hautveränderungen im Vordergrund, die sich als meist schlecht abgrenzbare, knotige Zubildung mit einer Durchmesser von 4 cm darstellt, deren Oberfläche entweder weich und/oder haarlos, ulzeriert und krustig verändert sein kann (Moore 1984).

Die klinischen Symptome bei der systemischen Histiozytose variieren mit dem Schweregrad und der Ausbreitung der Erkrankung und äußern sich in Anorexie, Gewichtsverlust, röchelnder Atmung und Konjunktivitis. Die Hunde zeigen meist

multiple Hautknoten, die über den gesamten Körper verteilt sind, aber besonders häufig im Bereich des Skrotums, des Nasenspiegels und den Augenlidern vorkommen. Eine Ulzeration der Hauttumoren ist häufig. Die peripheren Lymphknoten zeigen meistens eine Vergrößerung (Moore and Affolter 2002).

### 3.2.2.2 Immunophänotypisierung

AFFOLTER und MOORE (2000) konnten mittels Einsatz verschiedener Antikörper den interstitiell dendritischen Ursprung der histiozytären Zellen bei der reaktiven Histiocytose nachweisen. Die Zellen zeigen eine Expression von CD1, CD11c und MHCII, was sie als dendritische Zellen ausweist. Die zusätzliche Expression von Thy-1 (Expression von dermalen dendritischen Zellen) und CD4 (Aktivitätsmarker von dendritischen Zellen) spricht für das Vorliegen von aktivierten dermalen dendritischen Zellen (in der Haut meistens interstitiell dendritische Zellen) und erlaubt eine Unterscheidung zum kutanen Histiocytom, welches kein Thy-1 oder CD4 exprimiert (Moore and Affolter 2002).

In variablem Maße werden bei der reaktiven Histiocytose noch Adhäsionsmoleküle, wie die Integrine CD11b und CD49d, sowie die interzellulären Adhäsionsmoleküle ICAM-1 und ICAM-3 exprimiert (Affolter and Moore 2000).

Der Hauptanteil der Lymphozyten sind CD8+  $\alpha\beta$  T-Zellen, die zum Teil 50 % der Zellen in den veränderten Bereichen ausmachen (Moore and Affolter 2002).

### 3.2.2.3 Pathogenese

Der klinische Verlauf der systemischen Histiocytose mit den immer wiederkehrenden Phasen von klinischer Verbesserung und Verschlechterung (wellenförmiger Verlauf), in Kombination mit den fehlenden Malignitätskriterien der infiltrierten Histiocyten, führte bereits bei Erstbeschreibung der Erkrankung zum Verdacht des Vorliegens einer Erkrankung mit Fehlregulierung des Immunsystems (Moore 1984).

AFFOLTER und MOORE konnten im Jahr 2000 zeigen, dass es sich bei den vorliegenden histiozytären Zellen bei der kutanen und systemischen Histiocytose um aktivierte dermale dendritische Zellen handelte (Expression von CD4), und somit den

Verdacht einer reaktiven Erkrankung untermauern, zumal die Zellen eine unveränderte DNA enthielten.

Ein für die Initiierung des Prozesses auslösendes Antigen wird vermutet, konnte bisher aber noch nicht nachgewiesen werden (Moore and Affolter 2002). In einer Studie von MOORE et al. (1984) konnten weder in der routinemäßigen bakteriellen Kultur noch im Pilznachweis oder einem virologischen Screening Hinweise auf eine infektiöse Ätiologie gefunden werden.

Das zum Teil gute Ansprechen der reaktiven Histiozytose auf eine immunsuppressive Therapie (Cyclosporin A, Lefunomid) und der bisher fehlende Nachweis eines auslösenden infektiösen Agens sprechen wiederum für das Vorliegen einer primären Immundysregulation als Initiator der Erkrankung (Affolter and Moore 2000).

Vermutet wird eine fehlerhafte Immunregulierung im Sinne einer defekten Interaktion zwischen T-Zellen und dendritischen Zellen. Als Endresultat der dysregulierten Interaktion kommt es zu einer chronischen Proliferation von dendritischen Zellen und T-Zellen (Moore and Affolter 2002). Im Gegensatz zum kutanen Histiozytom stellen die T-Zellen bei der reaktiven Histiozytose keinen Indikator einer Regression dar, da sie zu jedem Zeitpunkt der Erkrankung in den Läsionen nachgewiesen werden können. Die T-Zell-Infiltration kann ein sekundäres Phänomen sein, welches durch ein Zytokinmilieu, das T-Zellen anlockt, hervorgerufen wird. Möglich ist aber auch, dass es sich bei den Lymphozyten um die primäre infiltrierende Zellpopulation handelt, welche dann zur Aktivierung und Migration von dendritischen Zellen führt (Affolter and Moore 2000).

An der Differenzierung, Migration und Aktivierung von dendritischen Zellen sind GM-CSF, TNF- $\alpha$  und IL-4 beteiligt. Diese Zytokine werden sowohl von Leukozyten als auch von Nichtleukozyten wie Keratinozyten und dermalen Fibroblasten gebildet und spielen vermutlich eine Schlüsselrolle bei der Entstehung der kaninen reaktiven Histiozytose. Beim Menschen mit Langerhans' Zell Histiozytose konnten hohe Plasmaspiegel an GM-CSF nachgewiesen werden (Affolter and Moore 2000).

Die Immundysregulation ist vermutlich ein Resultat aus einer fehlerhaften Interaktion zwischen dendritischen Zellen und Lymphozyten. Bei der Langerhans' Zell Histiozytose beim Menschen zeigen läsionale dendritische Zellen eine verminderte Antigenpräsentation, welche vermutlich auf eine gestörte Expression und Interaktion dieser Moleküle zurückzuführen ist. Das Ansprechen auf immunsuppressive

Therapie, wie Cyclosporin A und Lefunomid, welche beide einen primär blockierenden Effekt auf T-Lymphozyten haben, lässt eine Schlüsselrolle der T-Lymphozyten vermuten, zumal eine verlängerte Akkumulation von dendritischen Zellen über eine Zytokinproduktion von T-Zellen erklärbar ist (Affolter and Moore 2000).

#### 3.2.2.4 Zytologie und Histologie

Beide Erkrankungen präsentieren sich mit identischen histopathologischen Veränderungen, die sich durch noduläre bis diffuse pleozelluläre Infiltrate aus Histiozyten, Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten auszeichnen (Affolter and Moore 2000).

Es finden sich in den betroffenen Organen 10-20 µm große Histiozyten mit großen Mengen eines basophilen Zytoplasmas und zahlreiche Lymphozyten (bis zu 50%) (Affolter and Moore 2000) sowie vereinzelt eosinophile Granulozyten und neutrophile Granulozyten. Die Nuklei der Histiozyten sind bei der reaktiven Histiozytose rund, zum Teil gekerbt, und die Mehrzahl der Zellen hat kaum sichtbare Nukleoli. Multinukleäre Riesenzellen finden sich in der Regel nur vereinzelt, und der Mitotische Index ist niedrig. Die Infiltration der Gewebe erfolgt meistens angiozentrisch (Moore 1984).

Bei der **kutanen Form** beschränken sich die histiozytären Infiltrate auf die Haut und Unterhaut und dehnen sich nicht über die lokalen drainierenden Lymphknoten aus (Moore and Affolter 2002). Eine Lymphadenopathie wurde bisher nur von MOORE et al. (1996) bei einer kleinen Anzahl von Hunden mit kutaner Histiozytose beschrieben.

Bei der **systemischen Form** finden sich histiozytäre Läsionen in der Haut, der Lunge, der Leber, dem Knochenmark, der Milz, den peripheren und viszeralen Lymphknoten, den Nieren, den Hoden, der nasalen Mukosa und dem Auge, allerdings wird diese ausgedehnte Verteilung oft erst bei der Sektion sichtbar (Moore and Affolter 2002).

Insgesamt unterscheidet sich das histopathologische Muster zwischen kutaner und systemischer Form nicht, allerdings findet sich bei der systemischen Histiozytose eine betontere angiozentrische Infiltration und eine vermehrte Vasoinvasion im Vergleich zur kutanen Form (Affolter and Moore 2000).

### 3.2.2.5 Therapie

Die Behandlungserfolge beim Vorliegen einer **systemischen Histiozytose** sind oft frustrierend, und viele Hunde werden euthanasiert. In der Mehrheit der Fälle zeigt sich eine Behandlung mit Kortikosteroiden als ineffektiv (Affolter and Moore 2000; Affolter and Moore 2002).

Bessere Erfolge hat man in Einzelfällen mit dem Einsatz von Cyclosporin A, Lefunomid und Adriamycin (Affolter and Moore 2000; Affolter and Moore 2002). Eine Behandlung kann jedoch lebenslang notwendig sein. Bei weniger schwerem klinischen Verlauf der Erkrankung (vor allem bei der kutanen Form) kann gegebenenfalls abgewartet werden, ob es zu einer spontanen Regression kommt (Moore and Affolter 2002).

In der Arbeit von AFFOLTER und MOORE (2000) kam es bei 2 von 18 Hunden mit **kutaner Histiozytose** zu einer spontanen Regression, bei einem dritten Hund war eine chirurgische Entfernung kurativ. Von den sieben mit Prednisolon behandelten Hunden, zeigten die meisten eine partielle Verbesserung. Zwei Hunde, von denen einer intraläsionale Kortikosteroidgaben erhielt und ein anderer systemisch mit Lefunomid therapiert wurde, zeigten eine Remission (Affolter and Moore 2000).

### 3.2.3 Histiozytäres Sarkom

Beim histiozytären Sarkom (HS) handelt es sich um eine seltene, sehr maligne Neoplasie. Die Einteilung des histiozytären Sarkoms erfolgt nach der Art der Ausprägung in eine **lokalierte (LHS)** und eine **disseminierte (DHS) Form** und nach der Art des Zellursprungs (interstitiell dendritische Zelle oder Makrophage). Während der Tumor beim lokalisierten und disseminierten histiozytären Sarkom von interstitiell dendritische Zellen ausgeht (Affolter and Moore 2002), ist die Ursprungszelle des von MOORE et al. (2006) beschriebenen **hämophagozytären histiozytären Sarkoms (HHS)** der Makrophage.

#### 3.2.3.1 Signalement

Das Vorkommen eines histiozytären Sarkoms beim Hund wurde zum ersten Mal 1978 von SCHALM bei einem Pudel unter dem Namen histiozytäre medulläre Retikulose beschrieben. Ein Jahr später wurde die Erkrankung bei einem Zwergschnauzer publiziert (Scott, Miller et al. 1979). Mitte der 80er Jahre erfolgten dann 3 Veröffentlichungen, in denen mehrere Hunde mit **disseminiertem histiozytärem Sarkom** beschrieben wurden (Wellman, Davenport et al. 1985; Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986). 1986 kam erstmalig eine Rassehäufung der Erkrankung bei 13 Berner Sennenhunden zur Diskussion (Moore and Rosin 1986). Seitdem ist diese Neoplasie bei zahlreichen Rassen beschrieben worden, wobei neben Berner Sennenhunden (Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986; Shaiken, Evans et al. 1991; Ramsey, McKay et al. 1996; Affolter and Moore 2002; Schäffer, Quintanilla-Martinez et al. 2003; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Moore, Affolter et al. 2006; Voegeli, Welle et al. 2006) auch Rottweiler (Shaiken, Evans et al. 1991; Waters, Morrison et al. 1994; Affolter and Moore 2002; Thio, Hilbe et al. 2006) und Retriever, wie der Golden Retriever (Shaiken, Evans et al. 1991; Waters, Morrison et al. 1994; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Moore, Affolter et al. 2006) sowie der Flat Coated Retriever (Brown, Thrall et al. 1994; Affolter and Moore 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004) überrepräsentiert sind.

Aber auch beim Dobermann (Shaiken, Evans et al. 1991; Brown, Thrall et al. 1994), Pointer (Shaiken, Evans et al. 1991; Waters, Morrison et al. 1994; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), Bluthund, Scottish Terrier (Shaiken, Evans et al. 1991), Deutschen Schäferhund (Shaiken, Evans et al. 1991; Kohn, Arnold et al. 1993), Schnauzer (Waters, Morrison et al. 1994; Moore, Affolter et al. 2006), beim Shar Pei, Basset, Springer Spaniel (Affolter and Moore 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), beim Beagle, Samoyeden (Affolter and Moore 2002), beim Australian Shepherd, beim Sibirian Husky (Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), dem Bernhardiner und der Bulldogge (Kohn, Arnold et al. 1993) sowie schließlich bei verschiedenen Mischlingen (Shaiken, Evans et al. 1991; Brown, Thrall et al. 1994; Waters, Morrison et al. 1994; Affolter and Moore 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Moore, Affolter et al. 2006) ist das Vorkommen eines histiozytären Sarkoms beschrieben worden.

In einer Studie von SHAIKEN et al. (1991) wurde in einem Zeitraum von 6 Jahren bei 41 Hunden ein **disseminiertes histiozytäres Sarkom** diagnostiziert. 22% der erkrankten Hunde waren Berner Sennenhunde (BSH) und 17% Golden Retriever und Rottweiler. Die Autoren errechneten anhand ihres Patientengutes, das BSH 225-mal, Rottweiler 26-mal und Golden Retriever 3,7-mal häufiger an einem disseminierten histiozytären Sarkom erkranken als Hunde anderer Rassen. Hunde kleinwüchsiger Rassen scheinen weitaus seltener an einem disseminierten histiozytären Sarkom zu erkranken, da lediglich 5 der 63 bis 1993 beschriebenen Fälle und nur ein Hund (1/26) in einer Studie von KOHN et al. (1993) einer kleinen Rasse angehörten.

Meistens wird die Diagnose dieses Tumors im Alter zwischen 6 und 8,5 Jahren gestellt (Voegeli, Welle et al. 2006). In den ersten Veröffentlichungen wurde eine Geschlechtsdisposition für männliche Hunde beobachtet (Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986; Shaiken, Evans et al. 1991), die sich in späteren Veröffentlichungen jedoch nicht bestätigte (Brown, Thrall et al. 1994; Waters, Morrison et al. 1994; Ramsey, McKay et al. 1996; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Affolter and Moore 2006).

Neben dem Hund gibt es auch Berichte über das Vorkommen eines disseminierten histiozytären Sarkoms bei Katze, Pferd und Rind (Schäffer, Quintanilla-Martinez et al. 2003; Affolter and Moore 2006).

Ähnliche Rassedispositionen wie beim disseminierten histiozytären Sarkom gelten auch bei der **lokalisierten Form** der Tumorerkrankung. Allerdings ist der Rottweiler in beiden größeren Arbeiten häufiger betroffen als der Berner Sennenhund (Affolter and Moore 2002; Craig, Julian et al. 2002). In der Arbeit von AFFOLTER und MOORE (2002) waren 26,9% (5/19) der erkrankten Hunde Rottweiler, 15,8% (3/19) Berner Sennenhunde und Golden Retriever, sowie jeweils 10,5 % (2/19) Labrador Retriever und Flat Coated Retriever. Bei CRAIG et. al (2002) gehörten sogar 61% der Hunde mit lokalisiertem histiozytärem Sarkom der Rasse des Rottweilers an, nur jeweils einer der 18 Hunde war ein Golden Retriever und ein Berner Sennenhund.

In einer neueren Studie von MOORE et al. (2006) konnte eine Variante des disseminierten histiozytären Sarkoms, das sogenannte **hämophagozytäre histiozytäre Sarkom**, beschrieben werden, bei der die Ursprungszellen des Tumors Makrophagen und nicht myeloisch dendritische Zellen sind (Affolter and Moore 2002). Auch hier zeigte sich der Berner Sennenhund mit 35,3 % (6/17) aller erkrankten Hunde überrepräsentiert. Weitere Prädispositionen scheinen auch für Golden Retriever (4/17 = 23,5%), Rottweiler (3/17 = 17,6) und für Labrador Retriever (2/17 = 11,8%) zu gelten. Wie beim histiozytären Sarkom dendritischen Ursprungs zeigte sich auch bei der hämophagozytären Variante keine Geschlechtsdisposition. Das Alter der Hunde zum Zeitpunkt der Diagnosestellung war mit 2,5 bis 13 Jahren weit gestreut.

### 3.2.3.2 Pathogenese

Das **lokalisierte histiozytäre Sarkom** entwickelt sich von einem einzelnen Organ aus, wo es lokal invasiv wächst und von hier zu den drainierenden Lymphknoten metastasiert. Meistens kommt der Tumor in der Unterhaut (besonders an den Extremitäten) vor. Es sind aber auch andere primäre Organe wie Milz, Leber, Lunge, Knochen, Gehirn und Nasen- bzw. Mundhöhle betroffen (Moore and Affolter 2002). Eine weitere häufige Lokalisation des lokalisierten histiozytären Sarkoms sind die Gelenke. In einer Studie von CRAIG et al. (Craig, Julian et al. 2002)2002) waren 51,4% aller synovialen Tumoren histiozytären Ursprungs (CD18 positiv).

Kommt es zu einer Ausbreitung in andere Organe außer den drainierenden Lymphknoten, spricht man vom **disseminierten histiozytären Sarkom** (Moore and Affolter 2002), welches sich in zahlreichen inneren Organen (Tabelle 1) findet (Affolter and Moore 2002). Der wirkliche Ursprungsort des disseminierten histiozytären Sarkoms ist schwer zu ermitteln, da die Läsionen oft in inneren Organen bestehen, und bei Auftreten von klinischen Symptomen meist schon eine fortgeschrittene Erkrankung besteht (Moore and Affolter 2002).

Primäre Läsionen des histiozytären Sarkoms sind Milz, Lymphknoten, Lunge, Knochenmark, Haut und Unterhaut (vor allem der Extremitäten) und periartikuläres Gewebe der Gliedmaßen. Sekundäre Orte sind weit gestreut, beinhalten aber oft die Leber und die Lunge (Milz als Primärorgan) oder die hilären Lymphknoten (Lunge als Primärorgan) (Moore and Affolter 2002).

Tab. 1: Häufigkeit der Gewebeteilnahme bei 19 Hunden mit lokalisiertem histiozytärem Sarkom (LSH) und 20 Hunden mit disseminiertem histiozytärem Sarkom (DHS) (Moore and Affolter 2002).

Gewebe	LHS	DHS
Milz	1	16
Leber	1	11
Knochenmark	1	11
Lunge	1	10
Lymphknoten		
hilär		5
peripher	3	12
abdominal		6
Unterhaut und Skelettmuskel	13	7
Nieren		6
Myokard		2
Maulhöhle	1	1
Nasenhöhle	1	
Gehirn	1	1
Prostata		1
Nebennieren		1
Hoden		1

Unklar ist bis zum heutigen Zeitpunkt, ob das disseminierte histiozytäre Sarkom als primäre multizentrische Neoplasie auftritt, was dann den Begriff maligne Histiocytose rechtfertigen würde, oder ob die disseminierte Form eine terminale Form des

lokalisierten histiozytären Sarkoms darstellt (Affolter and Moore 2002). Für die 2. Hypothese sprechen die Daten von CRAIG et al. (Craig, Julian et al. 2002), bei denen 91% der Hunde mit lokalisiertem histiozytärem Sarkom an den Gelenken eine schnelle Metastasierung in innere Organe zeigten (vor allem Lunge, Lymphknoten, Leber).

Die beim **hämophagozytären histiozytären Sarkom** am häufigsten involvierten Organe sind die Milz, die Leber, das Knochenmark und die Lunge. Den Ursprung nimmt der Tumor dabei gleichzeitig in der roten Pulpa der Milz und dem Knochenmark und metastasiert von hier intravaskulär in die Leber und die Lunge. Anders als beim disseminierten histiozytären Sarkom kommt es dabei typischerweise (Leber und Lunge) nicht zur makroskopisch sichtbaren Ausbildung von Tumorknoten, obwohl histologisch eine hochgradige Infiltration der Organe mit Tumorzellen auffällt (Moore, Affolter et al. 2006).

### 3.2.3.3 Immunophänotypisierung

Als erste Marker zur Abgrenzung histiozytärer Tumoren von anderen Erkrankungen wurden Lysozym und  $\alpha$ 1-Antitrypsin eingesetzt, welche beide immunhistochemische Marker des mononukleären Phagozytosesystems darstellen (Moore and Rosin 1986). Lysozym konnte dabei bei allen Hunden und  $\alpha$ 1-Antitrypsin in der Hälfte der Fälle nachgewiesen werden.  $\alpha$ 1-Antitrypsin ist dabei ein wenig spezifischer Marker für histiozytäre Zellen und wurde auch schon in anderen Neoplasien beschrieben (Moore and Rosin 1986). Beim histiozytären Sarkom zeigten vor allem gut differenzierte Zellen eine Expression von Lysozym, während schlecht differenzierte Zellen kein Lysozym enthielten (Moore 1986).

Eine genaue Differenzierung der Zellen des **histiozytären Sarkoms** erfolgte 2002 durch AFFOLTER und MOORE (2002) (siehe Tabelle 4). Der leukozytäre Ursprung der Tumorzellen konnte zunächst mittels eines Nachweises von CD45 und CD11a/CD18 bewiesen werden. Anhand der Expression von CD1 und MHCII (Adhäsionsmoleküle) und CD11c und ICAM-1 (interzelluläres Adhäsionsmolekül 1) konnte der myeloisch dendritische Ursprung der Zellen nachgewiesen werden. Die genaue Untergruppe der myeloisch dendritischen Zelle ist jedoch derzeit noch nicht ermittelt worden, wobei vermutet wird, dass es sich um interstitiell dendritische Zellen

in nicht-lymphatischen Organen und interdigitierende dendritische Zellen in lymphatischen Organen handeln könnte (Affolter and Moore 2002).

2006 wurde erstmals das **hämophagozytäre histiozytäre Sarkom** beschrieben - eine Untergruppe des histiozytären Sarkoms - bei der die Ursprungszelle Makrophagen und nicht myeloisch dendritische Zellen sind (Moore, Affolter et al. 2006). Die Zellen exprimieren CD11d, ein  $\beta$ 2-Integrin, welches in der roten Pulpa der Milz von Makrophagen und T-Zellen exprimiert wird und die Unterscheidung zu CD11c und CD1c positiven interstitiellen dendritischen Zellen erlaubt (Moore, Affolter et al. 2006).

Tab. 2: Phänotyp von dendritischen antigenpräsentierenden Zellen beim lokalisierten und disseminiertem histiozytären Sarkom an gefrorenen (n=31) und Formalin-fixierten (n=8) Gewebeschnitten (Affolter und Moore 2002).

Antigen	gefroren	Formalin fixiert
CD1a	24	na*
CD1b, CD1c	31	na
CD3	0	0
CD4/CD8	0	na
TCR $\alpha\beta$ /TCR $\gamma\delta$	0	na
CD18	31	8
CD11a	31	na
CD11b	26	na
CD11c	31	na
CD21	0	na
CD44	31	na
CD45	31	na
CD45RA	11	2
CD49d	15	na
CD50 (ICAM-3)	23	na
CD54 (ICAM-1)	31	
CD79a	0	
CD90 (Thy-1)	8	0
MHCII	31	

\*na= not available

### 3.2.3.4 Klinik

Beim **lokalisierten histiozytären Sarkom** sind die Symptome abhängig von der Lokalisation des jeweiligen Auftretens der Erkrankung (Voegeli, Welle et al. 2006).

Die klinischen Symptome beim **disseminierten histiozytären Sarkom** sind meistens unspezifisch und richten sich nach den betroffenen Organen. Beim disseminierten

histiozytären Sarkom werden Fieber, Lethargie, Schwäche, Anorexie, Gewichtsverlust, Dyspnoe und z.T. Husten, generalisierte Lymphknotenvergrößerung, sowie Hepato- und Splenomegalie beschrieben (Voegeli, Welle et al. 2006). KOHN et al. (1993) berichten weiterhin über das Vorkommen von blassen Schleimhäuten, Vomitus, abnormalen Lungengeräuschen, Ikterus, Hypothermie, Polyurie/Polydipsie, Tachypnoe, Diarrhoe, Aszites sowie dem Vorliegen einer perianalen Masse und einer Muskelatrophie.

Ein Teil der Hunde zeigt auch neurologische Probleme (Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986; Waters, Morrison et al. 1994; Ramsey, McKay et al. 1996; Affolter and Moore 2002; Voegeli, Welle et al. 2006).

Bei der klinischen Untersuchung der 17 Hunde mit **hämophagozytärem histiozytärem Sarkom** fielen vor allem unspezifische Symptome wie Lethargie, Inappetenz, Gewichtsverlust, blasse Schleimhäute und in 2 Fällen (11,8%) ein Ikterus auf.

### 3.2.3.5 Blutuntersuchungen

#### 3.2.3.5.1 Hämatologie

Hämatologische Veränderungen sind im Rahmen eines **disseminierten histiozytären Sarkoms** häufig (Schalm 1978; Scott, Miller et al. 1979; Moore and Rosin 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006; Skorupski, Clifford et al. 2007).

KOHN et al. beschrieben 1993 das Vorliegen einer Anämie bei 15 (65,2%) von 23 untersuchten Hunden mit histiozytärem Sarkom, bei denen die schweren Formen (Hämatokritwert < 0,29 l/l) alle regenerativ waren, was auch mit den Untersuchungen aus anderen Studien übereinstimmt (Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006). Bei 5/23 (21,7%) der von KOHN et al. (1993) beschriebenen Hunde und bei 3/4 (75%) der von DOBSON et al. (2006) veröffentlichten Fälle wurde ein Coombs-Test durchgeführt, der bei allen Patienten negativ verlief (Kohn, Arnold et al. 1993; Dobson, Villiers et al. 2006). Eine Immunhämolyse scheint für die Entstehung der Anämie somit nicht von Bedeutung zu sein. Vielmehr wird die Anämie durch eine pathologische Hämophagozytose hervorgerufen, die vermutlich über eine Zytokinproduktion durch die Tumorzellen getriggert wird (Kohn, Arnold et al. 1993; Dobson, Villiers et al. 2006)

In der 2006 erschienen Erstbeschreibung des **histiozytären hämophagozytären Sarkoms** zeigten 94% der untersuchten Hunde (16/17) eine regenerative Anämie. Als wahrscheinlichste Anämieursache vermuten die Autoren die durch die neoplastischen Makrophagen hervorgerufene Erythrophagozytose in Milz, Leber, Lunge und Knochenmark. Hinweise auf eine Myelophthase fanden sich im untersuchten Knochenmark nicht (Moore, Affolter et al. 2006). Neben einer Anämie wurde bei 88% der Hunde mit HHS eine Thrombozytopenie (Moore, Affolter et al. 2006) diagnostiziert. Die Pathogenese der Thrombozytopenie ist vermutlich multifaktoriell bedingt. Einerseits vermuten die Autoren eine Phagozytose von Thrombozyten durch neoplastische Makrophagen, andererseits einen vermehrten Verbrauch durch eine oft parallel bestehende Koagulopathie. Zusätzlich zeigten sich in betroffenen Organen Thrombosen (Moore, Affolter et al. 2006).

Auch bei Hunden mit disseminiertem histiozytärem Sarkom konnte eine Thrombozytopenie bei allen untersuchten Hunden (Dobson, Villiers et al. 2006) beziehungsweise bei 6 von 23 (26%) Hunden (Kohn, Arnold et al. 1993) nachgewiesen werden.

In der Studie von KOHN et al. (1993) zeigten 6 von 26 Hunden mit DHS eine Leukozytose von > 20.000 Leukozyten/ $\mu$ l. Bei MOORE et al. (2006) konnte bei 7 von 17 Hunden mit hämophagozytärem histiozytärem Sarkom eine Leukozytose nachgewiesen werden.

### 3.2.3.5.2 Klinische Chemie

Die häufigsten in den klinisch-chemischen Serumuntersuchungen festgestellten Veränderungen bei Hunden mit **disseminiertem histiozytärem Sarkom** waren ein Anstieg der Leberenzymaktivitäten im Blutplasma sowie erhöhte Plasma-Harnstoff- und -Kreatininwerte. Dies ging meist mit einer Infiltration der entsprechenden Organe einher (Kohn, Arnold et al. 1993).

Eine bei 4 von 26 Hunden beobachtete Hypoalbuminämie erklärt KOHN et al. (1993) mit einer möglichen Leberfunktionsstörung. DOBSON et al. (Dobson, Villiers et al. 2006)(2006), die bei 3 von 4 Hunden eine Hypoalbuminämie beobachten konnten, postulieren eine Phagozytose von Albumin und Immunglobulinen durch die neoplastischen Zellen, wie es beim Menschen mit hämophagozytärem Syndrom und Hypoglobulinämie beschrieben ist.

MOORE et al. (2006) konnten bei 94% der Hunde mit **hämophagozytärem histiozytärem Sarkom** eine Hypoalbuminämie feststellen. Weiterhin war dieser

Studie zufolge auch eine Hypocholesterinämie bei 69% der Hunde nachweisbar, die zusammen mit der Hypoalbuminämie eine Abgrenzung zu einer immunvermittelten Anämie ermöglichen kann. Eine mögliche, mit Hypoalbuminämie und Hypocholesterinämie einhergehende Leberfunktionsstörung hielten die Autoren aber für unwahrscheinlich, da Harnstoff- und Glukose-Konzentrationen im Referenzbereich lagen. Beim Menschen traten Hypoalbuminämie und Hypocholesterinämie oft zusammen mit einer zugrunde liegenden Entzündung auf, da es sich bei beiden um „Negativ-Akute-Phase-Reaktanden“ handelt (Moore, Affolter et al. 2006). Für eine verringerte Lebersynthese von Albumin und Cholesterin werden Erhöhungen der pro-inflammatorischen Zytokine Interleukin 6 (IL-6) und Tumor-Nekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) verantwortlich gemacht. Beim hämophagozytären histiozytären Sarkom können Erhöhungen von IL-6 und TNF- $\alpha$  eine Rolle in der Pathogenese der Hypoalbuminämie und Hypocholesterinämie spielen, da Makrophagen diese Zytokine in hohem Maße enthalten (Moore, Affolter et al. 2006). Die beim disseminierten histiozytären Sarkom (myeloisch dendritischer Zellursprung) vorkommende Hypoalbuminämie zeigt einen signifikant höheren mittleren Serumwert als beim hämophagozytären histiozytären Sarkom. Diese kann zusammen mit der in der Regel beim disseminierten histiozytären Sarkom nicht vorkommenden Hypocholesterinämie zur Differenzierung der beiden histiozytären Tumoren herangezogen werden (Moore, Affolter et al. 2006).

### 3.2.3.6 Bildgebende Verfahren

Eine gute Möglichkeit zur Identifizierung der Lokalisation möglicher Tumordinfiltrate stellen bildgebende Verfahren dar.

#### 3.2.3.6.1 Röntgen des Thorax

Beim **disseminierten histiozytären Sarkom** sind Veränderungen in der Lunge häufig nachweisbar (Voegeli, Welle et al. 2006). So diagnostizierten SHAIKEN et al. (1991) bei 8 von 14 Hunden mit histiozytärem Sarkom Veränderungen in der Lunge, von denen 5 röntgenologische Veränderungen des Lungenparenchyms und 6 Veränderungen der thorakalen Lymphknoten zeigten. In der Studie von KOHN et al. (1993) konnten bei 16 von 20 angefertigten Röntgenbildern Veränderungen nachgewiesen werden, welche im Detail in Tabelle 3 aufgeführt sind. Das

Erscheinungsbild und die Häufigkeit der einzelnen Röntgenbildveränderungen stimmte dabei mit den in vorherigen Studien beobachteten Veränderungen überein (Rosin, Moore et al. 1986; Shaiken, Evans et al. 1991; Schmidt, Rutteman et al. 1992).

Tab. 3: Röntgenbefunde des Thorax von 20 Hunden mit maligner Histiozytose (Kohn, Arnold et al. 1993).

Befunde	Anzahl
Pulmonale Massen	9 (45%)
kraniale mediastinale Massen	8 (40%)
hiläre Massen	6 (30%)
vergrößerte Sternallymphknoten	5 (25%)
Pleuraerguß	3 (15%)
ohne Besonderheit	4 (20%)

### 3.2.3.6.2 Sonographie des Abdomens

In Untersuchungen von CRUZ-ARÁMBULO et al. (2004) und RAMIREZ et al. (2002) wurden sonographische Untersuchungen des Abdomens von jeweils 18 bzw. 16 Hunden mit **disseminiertem histiozytärem Sarkom** durchgeführt. In beiden Studien zeigte sich die Milz mit 83% (15/18) (Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004) bzw. mit 80% (12/15) (Ramirez, Douglass et al. 2002) als das häufigste betroffene Organ. In beiden Studien stellten sich die Milzveränderungen als gut umschriebene hypoechogene Knoten dar.

Die Leber war sonographisch das zweithäufigste betroffene Organ (Ramirez, Douglass et al. 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004). Bei CRUZ-ARÁMBULO et al. (2004) zeigten sich bei 56% (9/16) der Hunde multiple hypoechogene Knoten mit gut umschriebenen Grenzen in der Leber, wohingegen die bei RAMIREZ et al. (2002) beschriebenen Leberveränderungen sowohl durch hypoechogene, hyperechogene und gemischte hypo- und hyperechogene Knoten charakterisiert waren.

Die hypoechogenen Knoten in Leber und Milz zeigten ein identisches sonographisches Bild, wie es auch bei anderen benignen und malignen Erkrankungen, wie z.B. anderen Neoplasien, knotiger Hyperplasie/extramedullärer Hämatopoese, chronischen Hämatomen, Infarkten oder Abszessen (Ramirez, Douglass et al. 2002) beobachtet werden konnte.

Andere sonographisch veränderte Organe waren in beiden Studien vergrößerte Lymphknoten (16/34) und renale Zubildungen (6/34) (Ramirez, Douglass et al. 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), sowie eine Zubildung in der Magenwand bei einem Hund (Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004) und Veränderungen der Nebennieren bei 2 Hunden (Ramirez, Douglass et al. 2002). Bei jeweils einem Hund konnte eine Beteiligung des Pankreas, der Ovarien und des Colons festgestellt werden (Ramirez, Douglass et al. 2002).

CRUZ-ARAMBULO et al. (2004) schlussfolgerten, dass sich die sonographischen Veränderungen alleine nicht zur Diagnose eines histiozytären Sarkoms eignen. Vielmehr müssen die Veränderungen mit der Krankheitsgeschichte, dem Signalement, den klinischen und labordiagnostischen Veränderungen und der Histopathologie korreliert werden, um eine sichere Diagnosestellung zu ermöglichen.

Bildgebende Befunde wurden bei den Hunden mit hämophagozytärem histiozytären Sarkom nicht erhoben.

### 3.2.3.7 Zytologie

Zwischen den Tumorzellen bestehen beim lokalisierten histiozytären Sarkom und dem disseminierten histiozytären Sarkom weder phänotypische noch histologische Unterschiede, auch wenn sich die Tumoren anhand ihres klinischen Verhaltens unterscheiden (Affolter and Moore 2002).

Das **histiozytäre Sarkom** zeichnet sich durch die Infiltration von großen, pleomorphen, einzelnen histiozytären Zellen und multinukleären Riesenzellen (30-100 µm (Moore and Rosin 1986)) mit deutlichen zellulären Atypien aus. Die Zellen zeigen mittlere bis große Mengen eines leicht basophilen Zytoplasmas, welches häufig vakuolisiert ist. Die Kerne sind rund bis oval oder nierenförmig und enthalten deutliche Nukleoli (Brown, Thrall et al. 1994). Insgesamt finden sich ausgeprägte Anisozytose, Anisokaryose und ein variables Kern-Zytoplasmaverhältnis, sowie in allen Präparaten zwei- bis mehrkernige Zellen (Kohn, Arnold et al. 1993).

Während BROWN et al. (1994) das Vorhandensein von Mitosen als selten beschreibt, fanden sich laut MOORE und ROSIN (1986) in den untersuchten Organen häufig bizarre mitotische Formen und ein hoher mitotischer Index. In einer

neueren Studie von AFFOLTER und MOORE von 2002 wird der mitotische Index als variabel beschrieben.

Eine Phagozytose von Erythrozyten, neutrophilen Granulozyten und anderen Tumorzellen wurde in der Studie von MOORE und ROSIN (1986) als häufig beschrieben und konnte auch in 4 von 7 Fällen bei BROWN et al. (1994) festgestellt werden. In der Studie von AFFOLTER und MOORE (2002) wird eine Phagozytose als selten beschrieben.

Die neue Variante des histiozytären Sarkoms, das **hämophagozytäre histiozytäre Sarkom**, fiel zytologisch durch eine deutliche Erythrophagozytose der Histiozyten in Milz, Leber, Knochenmark und Lunge bei allen berichteten Fällen (Moore, Affolter et al. 2006) auf. In dieser Studie enthielten die Histiozyten außerdem häufig intrazytoplasmatisches Hämosiderin und phagozytierte Granulozyten. Die Autoren fanden jedoch auch Fälle mit gemischten histiozytären Tumoren, bei denen ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom im Zusammenhang mit einem histiozytären Sarkom (dendritische Zelle) vorkam (Moore, Affolter et al. 2006).

Die Morphologie der histiozytären Zellen variierte dabei: es fand sich eine Mischung aus physiologisch aussehenden Makrophagen und zytologisch atypischen Makrophagen mit hyperchromatischen Nuklei, Anisozytose, Anisokaryose und einer Karyomegalie. Zum Teil konnten auch multinukleäre Riesenzellen nachgewiesen werden. Insgesamt waren die zytologischen Atypien in der Milz im Vergleich zum Knochenmark stärker ausgeprägt.

Da bei den älteren Studien noch keine Immuntypisierung der histiozytären Tumorzellen zur Unterscheidung zwischen Makrophagen und dendritischen Zellen vorgenommen werden konnte, bleibt offen, inwieweit es sich bei den Tumoren mit beschriebener Zytophagie um die hämophagozytierende Variante handelt.

Eine zytologische Differenzierung benigner und maligner histiozytärer proliferativer Erkrankungen ist schwierig. Zu den malignen Erkrankungen gehören neben dem disseminierten histiozytären Sarkom die monozytäre und myelomonozytäre Leukämie, das histiozytäre Lymphom und die lymphomatoide Granulomatose. Zu den benignen proliferativen histiozytären Erkrankungen gehören die Knochenmarknekrose, die granulomatöse Entzündung und das reaktive hämophagozytäre Syndrom (Weiss 2001). AFFOLTER und MOORE (2002) beschreiben außerdem eine zum Teil schwierige zytologische Differenzierung zu

anderen Spindel-Zell-Tumoren oder Rundzellsarkomen, weshalb laut der Literatur zur Diagnosestellung eine Immunophänotypisierung notwendig ist.

### 3.2.3.8 Histologie

Wie bereits bei der zytologischen Untersuchung erwähnt, unterscheidet sich auch in der histologischen Untersuchung das lokalisierte **histiozytäre Sarkom** vom disseminierten histiozytären Sarkom nur durch die Lokalisation und die Anzahl der Tumoren, die Morphologie der Zellen ist jedoch identisch (Affolter and Moore 2002).

In der Histologie finden sich multiple, teilweise konfluierende, schlecht abgrenzbare, lokal invasive Knoten, die aus pleomorphen Histiozyten mit viel Zytoplasma bestehen und von physiologischem Gewebe umgeben sind. Einige Tumorknoten enthalten große pleomorphe Rundzellen mit großen Zytoplasmamengen, in anderen Arealen dominieren eher plumpe Spindelzellen mit langen Zytoplasmaausläufern. Oft kommen beide Zelltypen in einer Tumorerkrankung vor (Affolter and Morre 2002). Die Zellen zeigen teilweise eine Phagozytose von Erythrozyten, neutrophilen Granulozyten und Zellfragmenten. Dazwischen liegen mehrkernige Riesenzellen. In größeren Neoplasien finden sich oft Nekrosen und Hämorrhagien (Moore and Rosin 1986; Shaiken, Evans et al. 1991; Brown, Thrall et al. 1994; Ramsey, McKay et al. 1996; Weiss 2001; Affolter and Moore 2002; Ramirez, Douglass et al. 2002).

Die Angaben verschiedener Autoren zum Mitoseindex sind - wie in Abschnitt 3.2.3.7 zur Zytologie beschrieben – unterschiedlich.

Beim **hämophagozytären histiozytären Sarkom** konnte histologisch bei allen untersuchten Hunden eine Infiltration der Milz (17), der Leber (15) und der Lunge (9) nachgewiesen werden. Das Knochenmark war bei 90,9% der untersuchten Hunde (10/11) und die intrathorakalen bzw. intraabdominalen Lymphknoten bei 45,4 % (5/11) der Tiere mit histiozytären Tumorzellen infiltriert. Bei allen Hunden fand sich ein charakteristisches Verteilungsmuster der Tumorzellen: Ausgangspunkt des Tumors waren die rote Pulpa der Milz und das Knochenmark. In der Milz und im Knochenmark fand sich eine diffuse Infiltration mit hämophagozytotisch aktiven histiozytären Zellen (siehe oben), die sich in der Milz meistens als diffuse Splenomegalie und nur selten als knotige Veränderung darstellte. Von der roten Milzpulpa kam es über die Sinusoide der Pulpa zu einer Expansion der Tumorzellen

über die Milzvenen und die Portalvene in die Leber, die ein sinusoidales Verteilungsmuster aufwies. Auch die Leber zeigte in allen Fällen eine hochgradige Infiltration ohne sichtbare Ausbildung von Tumorknoten. Ein ähnliches Verteilungsmuster der intravaskulären Infiltration ohne ausgeprägte Knotenbildung konnte auch in der Lunge beobachtet werden (Affolter and Moore 2002).

### 3.2.3.9 Prognose und Überlebenszeit

Die Angaben zu Überlebenszeiten bei Vorliegen eines **lokalisierten histiozytären Sarkoms** differieren. In der Studie von CRAIG et al. (2002) zeigten 11 Hunde mit lokalisiertem histiozytären Sarkom eine mediane Überlebenszeit von 5,3 Monaten (0-16 Monate). Bei 10 dieser Hunde kam es zu einer Metastasierung in innere Organe, beim 11. Hund erfolgte eine Euthanasie aufgrund eines ausgedehnten lokalen Tumorwachstums. Alle Hunde starben an der Tumorerkrankung oder wurden als Folge der Erkrankung euthanasiert (Craig, Julian et al. 2002). Bei den 19 von AFFOLTER und MOORE (2002) beschriebenen Hunden mit lokalisiertem histiozytärem Sarkom waren die Überlebenszeiten besser. Bei 5 von 13 Hunden mit Tumor am Bein, die eine weite chirurgische Entfernung des Tumors oder eine Amputation der betroffenen Gliedmaße erhielten, zeigte sich kein Rezidiv. Ein Follow-up der anderen 8 Hunde war nicht erhältlich. Ein Hund mit Tumor in der Zunge zeigte sich nach einer Bestrahlungstherapie rezidivfrei.

Der Krankheitsverlauf beim **disseminierten histiozytären Sarkom** ist sehr aggressiv und mit einer sehr schlechten Prognose verbunden. Die Erkrankung schreitet in der Regel sehr schnell fort (Affolter and Moore 2002). Angaben zu Überlebenszeiten finden sich jedoch in nur wenigen Studien. KOHN et al. (1993) beschreiben bei 26 erkrankten Berner Sennenhunden eine Euthanasie von 14 Hunden kurz nach der Diagnosestellung und die von 11 weiteren Hunden auf Wunsch der Besitzer sofort oder innerhalb der nächsten Tage nach Diagnosestellung aufgrund der ungünstigen Befunde. Ein Hund verstarb.

In Untersuchungen von AFFOLTER et al. (2002) wird eine Euthanasie bei Hunden mit DHS ohne Angabe der Überlebenszeit bei 6/20 Hunden und ein natürlicher Tod eines weiteren Hundes angegeben, nachdem die Hunde ein schlechtes Ansprechen auf Chemotherapie gezeigt hatten. 7/20 Hunde in dieser Studie wurden auf Grund

des schlechten Allgemeinbefindens unmittelbar nach Diagnosestellung eingeschläfert (Affolter and Moore 2002). Bei den letzten 6 Hunden waren keine Daten zur Überlebenszeit vorhanden.

Hunde mit **hämophagozytären histiozytärem Sarkom** überlebten zwischen 2-32 Wochen (Median 7,1 Wochen) (Moore, Affolter et al. 2006).

### 3.2.3.10 Therapie

In der Literatur finden sich einzelne Berichte von Therapieversuchen beim histiozytärem Sarkom, keine Angaben über Therapieversuche existieren bei der hämophagozytären Variante.

Sechs von 19 Hunden mit histiozytärem Sarkom wurden in einer Studie von SHAIKEN et al. (1991) mit unterschiedlichen Chemotherapeutika (Prednisolon Monotherapie, Prednisolon und Melphalan, Prednisolon und Cyclophosphamid, Cyclophosphamid und Doxorubizin und Vincristin, Cyclophosphamid und Doxorubizin und Vincristin und Prednisolon) behandelt. Dabei zeigte der mit Melphalan und Prednisolon therapierte Hund röntgenologisch eine Reduktion der Tumorgöße, die anderen Chemotherapieprotokolle erbrachten jedoch keine radiologische Verbesserung der Tumoren.

In einem Fallbericht von einem Hund mit einem kutanen disseminierten histiozytärem Sarkom führte die Behandlung mit Cyclophosphamid, Vincristin, Prednisolon, Mitoxantron, Dacarbazin und Etoposid zu einer temporären Remission (Uno, Momio et al. 1993).

In einer größeren Studie von SKORUPSKI et al. (2007) wurde der Einsatz von CCNU bei 59 an einem histiozytärem Sarkom erkrankten Hunden untersucht. Von 56 Hunden mit makroskopischen Läsionen zeigten 5 eine komplette Remission (100% Reduktion der Tumormasse), 21 eine partielle Remission (50-100% Reduktion), 10 eine Reduktion des Tumolvolumens zwischen 10-50 %, und 20 der Tiere zeigten eine Progression der Erkrankung. Die mittlere Remissionszeit der 26 Hunde mit Ansprechen auf die Therapie lag bei 85 Tagen (29-805 Tage). Diese Hunde überlebten im Mittel 172 Tage, im Gegensatz zu den Nichtrespondern, die nur eine Überlebenszeit von 60 Tagen zeigten. Die mittlere Überlebenszeit aller Hunde lag bei

109 Tagen. Eine vorliegende Thrombozytopenie und Hypoalbuminämie waren mit einer signifikant kürzeren Überlebenszeit verbunden (Skorupski, Clifford et al. 2007). Gute Remissionszeiten und verlängerte Überlebenszeiten sind weiterhin bei 4 Hunden beschrieben worden, die mit der humanen zytotoxischen Zell-Linie TALL-104 behandelt wurden (Visonneau, Cesano et al. 1997). 3/4 Hunde zeigten eine komplette Remission und ein Hund eine partielle Remission der Tumoren unter der Behandlung. Angaben zu Überlebenszeiten liegen nicht vor, da 3 der Hunde zum Zeitpunkt der Veröffentlichung noch am Leben waren (4, 9 und 16 Monate nach Diagnosestellung). Der 4. Hund starb nach 14 Monaten an einer Niereninsuffizienz. In der Sektion fanden sich keine Hinweise auf histiozytäre Tumorzellinfiltrate. Die Diagnosestellung bei diesen Hunden erfolgte anhand von immunhistochemischen Färbungen mit Lysozym,  $\alpha$ 1- Antitrypsin und Cathepsin B, die jedoch keine Unterscheidung zwischen einer systemischen Histiozytose und einem histiozytären Sarkom erlauben. Klinisch zeigten alle Hunde vor allem eine Hautbeteiligung und eine Symptomatik aus klinischer Verbesserung und Verschlechterung, wie sie oft bei der systemischen Histiozytose beschrieben wird, weshalb das tatsächliche Vorliegen eines histiozytären Sarkoms bei diesen Hunden kritisch hinterfragt werden muß.

### 3.2.4 Vererbung histiozytärer Erkrankungen

Bereits bei der ersten Beschreibung des **disseminierten histiozytären Sarkoms** 1986 von ROSIN et al. (1986) und MOORE und ROSIN (1986) wurde ein genetischer Hintergrund vermutet, da von den 11 beschriebenen erkrankten Berner Sennenhunden 9 Hunde miteinander verwandt waren. Die ersten berichteten Fälle beim Berner Sennenhund wurden weiterhin vor allem bei männlichen Tieren beobachtet, die aus blutsverwandten Paarungen hervorgingen (Moore and Rosin 1986; Rosin, Moore et al. 1986). Eine geschlechtsgekoppelte Vererbung konnte jedoch schon in den oben genannten Studien ausgeschlossen werden, da auch bei den untersuchten väterlichen Linien weibliche Hunde erkrankten (Moore and Rosin 1986).

Auch bei der Erstbeschreibung der **systemischen Histiozytose** wurde eine genetische Grundlage vermutet, da 5 der 6 Hunde verwandt waren. Die unvollständig vorliegenden Stammbäume und die geringe Fallzahl ließen jedoch keine sichere Bestimmung des Erbgangs zu (Moore 1984).

In einer größeren Studie von 1995 untersuchten PADGETT et al. (1995) die genetischen Grundlagen von 127 an einer Histiozytose erkrankten Berner Sennenhunden. In dieser Publikation erfolgte jedoch keine Unterscheidung zwischen dem Vorliegen einer systemischen Histiozytose und eines disseminierten histiozytären Sarkoms. Im Rahmen dieser Studie konnte zunächst eine hohe Inzidenz der Histiozytose mit 25,4% an allen anderen Tumoren bei dieser Rasse beschrieben werden. Das Geschlechterverhältnis zeigte sich ausgeglichen, weshalb auch hier ein geschlechtsgebundener Erbgang ausgeschlossen werden konnte. Die Tatsache, dass phänotypisch normale Elterntiere zum Teil kranken Nachwuchs bekamen, erlaubte den Ausschluss eines dominanten Erbgangs. Innerhalb dieser Studie wurde eine Heritabilität von 0,298 für die Histiozytose beim Berner Sennenhund errechnet, die laut der Autoren ausreicht, um durch züchterische Maßnahmen eine Verringerung der Erkrankung innerhalb der Rasse erreichen zu können.

Bis heute ist die genaue Typisierung des Erbgangs nicht möglich. In der neuesten Studie von VOEGELI et al. von 2006 wurden bei 54 Berner Sennenhunden (51 mit disseminiertem histiozytärem Sarkom und 3 mit systemischer Histiozytose) ausführliche Datenanalysen durchgeführt, bei denen 5 genetische Modelle verglichen

wurden. Alle Analysen ergaben eindeutig, dass das **histiozytäre Sarkom** beim Berner Sennenhund eine genetische Komponente aufweist. Eine nähere Charakterisierung des Vererbungsmodus war jedoch nicht möglich. Den Grund dafür sieht der Autor in der zu geringen Anzahl an Tieren mit gesicherter Diagnose (51 Hunde) im Vergleich zur analysierten Verwandtschaft von 563 Tieren, bei denen nicht bekannt war, ob sie auch erkrankt waren.

Eine mögliche Ursache der Krankheitsentstehung des histiozytären Sarkoms beim Berner Sennenhund suchen SOLLER et al. (2006) bei den sogenannten SNPs (single nucleotide polymorphism) in den Nukleotidsequenzen bestimmter Gene, die die Zytokine IL-1 und TNF $\alpha$  exprimieren. Diesen Zytokinen wird eine entscheidende Rolle bei der Entstehung verschiedener Tumoren als „autokrinen Wachstumsfaktoren“ zugeschrieben. Die Autoren konnten einige SNPs innerhalb der zytokin-induzierenden mRNA von Berner Sennenhunden entdecken, die eine Mutation mit Folge einer Aminosäuresequenzänderung im zu exprimierenden Protein nach sich zogen. Inwieweit diese Mutationen eine Rolle bei der Krankheitsentstehung des histiozytären Sarkoms bedeuten, konnten die Autoren jedoch noch nicht klären.

### 3.3 Hämophagozytäres Syndrom

Bei einem hämophagozytären Syndrom handelt es sich um eine benigne Proliferation aktivierter Makrophagen in verschiedenen Organen (vor allem Knochenmark und Milz), die mit multiplen Zytopenien im peripheren Blut einhergeht (Weiss 2007). Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen histiozytären Erkrankungen gibt es beim hämophagozytären Syndrom des Hundes eine zugrundeliegende Ursache, die die Erkrankung auslöst.

Hämophagozytäre Syndrome sind in der Literatur bisher beim Menschen, Hund und der Katze beschrieben worden (Walton, Modiano et al. 1996; Favara, Feller et al. 1997; Weiss 2001; Weiss 2002; Weiss 2007). Die Diagnose eines hämophagozytären Syndroms beim Hund kann gestellt werden, wenn neben Bilytopenien oder Panzytopenien im peripheren Blut mehr als 2% hämophagozytotisch aktive Makrophagen im Knochenmark nachweisbar sind (Walton, Modiano et al. 1996; Weiss 2002; Weiss 2007).

Beim **Menschen** unterscheidet man das primäre hämophagozytäre Syndrom, bei dem es sich um eine familiäre Erkrankung handelt, und das sekundäre hämophagozytäre Syndrom (Makrophagenaktivierungs-Syndrom), welches durch verschiedene zugrunde liegende Erkrankungen ausgelöst werden kann (Favara, Feller et al. 1997). Hämophagozytose in Knochenmark, Milz, Lymphknoten und anderen Organen alleine ist dabei nicht diagnostisch für ein hämophagozytäres Syndrom, sondern muß in Kombination mit Fieber unbekannter Genese, Splenomegalie, Zytopenien, Hypofibrinogenämie oder Hypertriglyceridämie auftreten (Favara, Feller et al. 1997).

In bisher beim **Hund** veröffentlichten Studien wurden ebenfalls verschiedene, ein hämophagozytäres Syndrom auslösende Erkrankungen beschrieben (Walton, Modiano et al. 1996; Weiss 2001; Weiss 2002; Weiss 2007). Eine familiäre Form ist bisher nicht bekannt.

In der größten und neuesten Studie zum hämophagozytären Syndrom beim Hund beschreibt WEISS 2007 in einer retrospektiven Arbeit 24 Hunde mit dieser

Erkrankung, die die Kriterien einer Bizytopenie oder Panzytopenie in Kombination mit mehr als 2% hämophagozytotisch aktiven Makrophagen erfüllten.

Bei den verschiedenen Rassen, die in dieser Studie vorgestellt wurden, zeigte sich der Tibet Terrier überrepräsentiert. Fälle von Berner Sennenhunden mit hämophagozytärem Syndrom sind weder in dieser noch in vorherigen Studien beschrieben (Walton, Modiano et al. 1996; Weiss 2001; Weiss 2002; Weiss 2007). Die Hunde in der Studie von WEISS (Weiss 2007) zeigten als häufigste klinische Symptome Fieber (10/24), Ikterus (9/24), eine Splenomegalie (7/24) und Hepatomegalie (5/24) sowie Diarrhoe (4/24). Als Auslöser wurden folgende Erkrankungen diagnostiziert: immunvermittelte Erkrankungen (9/24), infektiöse Erkrankungen (5/24), myelodysplastisch-neoplastische Veränderungen (5/24), idiopatische Form ohne erkennbaren Auslöser (5/24). Die Prognose der Hunde war insgesamt schlecht. Nur 6/24 Tiere waren 1 Monat nach Diagnosestellung noch am leben. Insgesamt zeigten die Hunde, die eine zugrunde liegende behandelbare Infektion hatten, die beste Prognose (3/5).

### 3.3.1 Pathogenese

Die Pathogenese des hämophagozytären Syndroms ist noch nicht vollständig geklärt. Das beim Menschen beschriebene primäre hämophagozytäre Syndrom unterliegt einem autosomal rezessiven Erbgang, bei der eine Mutation im Perforin-Gen vorliegt. Perforin unterdrückt unter anderem die Aktivität von natürlichen Killerzellen. Bei einer Mutation dieses Gens führt die fehlende Unterdrückung der natürlichen Killerzellen zu einem Kontrollverlust über das zelluläre Immunsystem. Die Folge ist eine Überproduktion von Th-1 Zytokinen (INF- $\gamma$ , IL-12 und IL-18), die wiederum zu einer Proliferation und Aktivierung von Makrophagen führt (Larroche and Mouthon 2004).

## 3.4 Knochenmarkuntersuchung als Diagnostikum

Knochenmarkuntersuchungen haben in der Veterinärmedizin zur Abklärung diagnostischer, prognostischer und therapeutischer Fragestellungen im Zusammenhang mit verschiedenen Erkrankungen wie z.B. hämatopoetischen Neoplasien immer mehr an Bedeutung gewonnen (Moritz 2005).

Die zytologische Diagnostik nach Knochenmarkaspiration zeichnet sich im Vergleich zur histopathologischen Untersuchung einer Stanzbiopsie durch eine einfachere Technik, eine raschere Verfügbarkeit auswertbarer Präparate und eine bessere Beurteilung der Zellmorphologie aus. Der wesentliche Nachteil besteht in der fehlenden Beurteilbarkeit der Knochenmarkarchitektur und einer eingeschränkten Aussage zur Zellularität sowie möglicherweise in einer geringeren Sensitivität bei der Erfassung von lokalen Prozessen wie Granulomen oder Knochenmarkmetastasen (Mischke 2003).

### 3.4.1 Indikationen

Die Indikationen einer Knochenmarkuntersuchung sind vielfältig: Neben der näheren Klassifizierung von hämatologischen Erkrankungen, vor allem beim Vorliegen von nicht-regenerativen Anämien, persistierenden Thrombopenien und Neutropenien, hilft die Knochenmarkuntersuchung bei der Abschätzung einer möglichen Knochenmarkbeteiligung bestimmter Neoplasien, wie dem Lymphom, dem Mastzelltumor oder auch histiozytären Tumoren, sowie der Identifizierung einiger infektiöser Erreger (z.B. Leishmanien) und zur näheren Abklärung bei Patienten mit Hyperglobulinämie (Multiples Myelom, Lymphom, Ehrlichiose, Leishmaniose) (Cowell, Tyler et al. 1999).

Eine Beurteilung des Knochenmarkes erfolgt dabei in der Regel durch die lichtmikroskopische Untersuchung von zytologischen oder histologischen Präparaten (Weiss, Blauvelt et al. 2000).

### 3.4.2 Knochenmarkuntersuchungen bei histiozytären Erkrankungen

Da es sich bei histiozytären Erkrankungen um hämatopoetische Erkrankungen (Erkrankungen der Blutzellen) handelt, ist eine Knochenmarkbeteiligung möglich. Am häufigsten findet sich in der Literatur eine Infiltration des Knochenmarks beim histiozytären Sarkom (Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006).

#### 3.4.2.1 Histiozytäres Sarkom

In der Literatur wird eine Knochenmarkbeteiligung bei Hunden mit histiozytärem Sarkom in einigen Studien anhand von Einzelfallberichten oder bei kleineren Gruppen von Tieren beschrieben (Wellman, Davenport et al. 1985; Kohn, Arnold et al. 1993; Newlands, Houston et al. 1994; Waters, Morrison et al. 1994; Carioto 1997; Weiss 2001; Affolter and Moore 2002; Weiss 2002; Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006; Weiss 2006). Während in 5 der erwähnten Studien lediglich bei einem oder zwei Hunden eine Knochenmarkuntersuchung durchgeführt wurde (Wellman, Davenport et al. 1985; Newlands, Houston et al. 1994; Carioto 1997; Weiss 2001; Dobson, Villiers et al. 2006), konnte bei den 4 anderen Arbeiten (Kohn, Arnold et al. 1993; Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006; Weiss 2006) das Knochenmark von mehr als 10 Hunden im Hinblick auf eine mögliche Tumorzellinfiltration untersucht werden. In drei dieser größeren Veröffentlichungen wurde dabei bei 31% (Kohn, Arnold et al. 1993), 55% (Affolter and Moore 2002) bzw. 91% (Moore, Affolter et al. 2006) der Hunde in der Sektion eine Tumordinfiltration in das Knochenmark nachgewiesen.

Die Befunde bisher publizierter Arbeiten zur Knochenmarkinfiltration beim histiozytären Sarkom sind in der Tabelle 4 aufgelistet.

Tab. 4: Literaturübersicht aller Studien, die Knochenmarkuntersuchungen bei Hunden mit histiozytärem Sarkom durchgeführt haben.

<b>Autor</b>	<b>Hunde mit KM- Unters.</b>	<b>Hunde mit Tumorzellen im KM</b>	<b>Anteil Tumorzellen/ Vorläuferzellen</b>	<b>Morphologische Beschreibung der Zellen</b>
<b>Wellmann et al. 1985</b>	2 Hunde (Zytologie)	2 Hunde (100%)	Zahlreiche Tumorzellen	große, atypische histiozytäre Zellen mit Erythrophagie
<b>Kohn et al. 1993</b>	2 Hunde (Zytologie) 22 Hunde (Sektion)	Zytologie: 1 Hund (50%) Sektion: 7 Hunde (31%)	k.A.	Zytologie bei einem Hund: atypische histiozytäre Zellen mit Erythrophagie
<b>Newland et al. 1994</b>	1 Hund (Zytologie)	1 Hund (100%)	k.A.	Unreaktive, große Rundzellen mit Vakuolen, keine zytomorphologische Diagnosestellung möglich
<b>Carioto 1997</b>	1 Hund (Biopsie)	1 Hund (100%)	k.A.	Große, makrophagen-ähnliche Zellen, vakuolisiertes Zytoplasma
<b>Weiss 2001</b>	2 Hunde (Zytologie)	2 Hunde (100%)	> 30%	1. Hund: atypische, große Makrophagen mit Nukleoli, vereinzelt Riesenzellen 2. Hund: Dominierend reife Makrophagen, nur 6 % atypische Zellen, keine Riesenzellen Beide Hunde mit Phagozytose von Erythrozyten und myeloischen Vorläuferzellen
<b>Affolter et al. 2002</b>	20 Hunde (Sektion)	11 Hunde (55%)	k.A.	k.A.
<b>Dobson et al. 2006</b>	2 Hunde (Zytologie) davon einer mit Sektion	Zytologie: 1 Hund (50%) Sektion: 1 Hund (100%)	k.A.	k.A. Ein Hund mit zyto. KM-Untersuchung ohne Tumorzellen, dafür mit Tumorzellen im KM in der Sektion
<b>Weiss 2006</b>	11 Hunde (Zytologie)	11 Hunde	> 30%	Variable Malignitätskriterien, alle Hunde mit Zytophagie, aber nur 3 Hunde mit ausgeprägter Zytophagie
<b>Moore et al. 2006</b>	11 Hunde (Sektion)	10 Hunde (91%)	k.A.	Variable Malignitätskriterien: gut differenzierte HZ bis hin zu HZ mit Anisozytose, Anisokaryose und Karyomegalie, oft vakuolisiertes Zytoplasma, zahlreiche Zellen mit Erythrophagie, unregelmäßiges Vorkommen von Riesenzellen

KM: Knochenmark; k.A.: keine Angabe; HZ: histiozytäre Zelle; zyto.: zytologisch

Die einzige Studie, die bisher zytologische Knochenmarkuntersuchungen bei mehr als 2 Hunden mit histiozytärem Sarkom beschreibt, wurde von Weiss 2006 veröffentlicht und untersuchte retrospektiv alle in 8 Jahren in einer Klinik angefertigten 717 Knochenmarkproben im Hinblick auf eine Klassifizierung von Knochenmarkerkrankungen im Allgemeinen. Unter diesen 717 Proben waren 11 Hunde, die an einem histiozytärem Sarkom erkrankt waren. Studien, die die Häufigkeit einer zytologisch nachweisbaren Tumorinfiltration des Knochenmarkes von Hunden mit histiozytärem Sarkom beschreiben, existieren nach Wissen des Autors bisher nicht.

### 3.4.2.2 Systemische Histiozytose

Eine Infiltration des Knochenmarks mit Langerhans'schen Zellen ist bei der systemischen Histiozytose nur selten beschrieben. Bei der Erstbeschreibung der Erkrankung konnte makroskopisch keine Knochenmarkbeteiligung nachgewiesen werden, allerdings fanden sich, bei einer nicht angegebenen Anzahl von Hunden, histologisch kleine, zufällig verteilte, multifokale histiozytäre Aggregate im Knochenmark, welche kaum wahrnehmbar mit dem umgebenden hämatopoetischen Gewebe verschmolzen waren (Moore 1984).

In einer Einzelfallbeschreibung eines Berner Sennenhundes mit systemischer Histiozytose konnte bei Untersuchung des Knochenmarkes in der Sektion kein Nachweis einer Infiltration mit histiozytären Zellen gemacht werden (Brearley, Dunn et al. 1994).

Die letzte größere Studie mit 26 an systemischer Histiozytose erkrankten Hunden beschreibt eine Knochenmarkbeteiligung bei 3 Hunden (Affolter and Moore 2000).

Anhand dieser Daten ist ersichtlich, dass eine Knochenmarkbeteiligung bei der systemischen Histiozytose möglich ist, allerdings nur in wenigen Fällen beobachtet werden kann.

### 3.4.2.3 Hämophagozytäres Syndrom

Die zytologische Abgrenzung des hämophagozytären Syndroms zu anderen mit Proliferation von Makrophagen oder dendritischen Zellen einhergehenden

Erkrankungen, wie dem histiozytären Sarkom, der reaktiven Histiozytose, einer granulomatösen Entzündung, einer Knochenmarknekrose oder einer monozytären bzw. myelomonozytären Leukämie kann schwierig sein (Weiss 2007).

In der Studie von WEISS (2007)(Weiss 2007) zeigten die Hunde mit hämophagozytärem Syndrom 3-22% Makrophagen im Knochenmark, was laut dem Autor ein mögliches Differenzierungskriterium zu einem histiozytären Sarkom sein kann, bei dem sich oft mehr als 30% Tumorzellen finden. In einer vorherigen Studie von WEISS (2002) beschreibt der Autor eine rein zytologische Unterscheidung zu einem histiozytären Sarkom anhand der Morphologie der Histiozyten als schwierig, da sich sowohl bei den Hunden mit disseminiertem histiozytärem Sarkom als auch bei Hunden mit hämophagozytärem Syndrom große atypische Makrophagen fanden. Allerdings wurde das Vorhandensein von Riesenzellen in keiner der benignen hämophagozytären Erkrankungen beobachtet, weshalb mehrkernige histiozytäre Riesenzellen als guter Indikator für Malignität dienen können, auch wenn nicht alle Hunde mit histiozytärem Sarkom Riesenzellen aufweisen (Weiss 2002). Mittels Immunophänotypisierung ist eine sichere Unterscheidung jedoch möglich (Weiss 2007).

Eine Abgrenzung zu einer Knochenmarknekrose, die oft mit Ansammlungen von Makrophagen einhergeht, kann laut WEISS (2007) nur durch eine Knochenmarkbiopsie erfolgen, während die Zytologie nur Hinweise auf eine Nekrose geben kann. Auch bei granulomatösen Entzündungen, die vor allem im Rahmen von Systemmykosen auftreten kommt es zur Makrophagenakkumulation. In diesen Fällen sind die Makrophagen jedoch nur selten phagozytotisch aktiv und können so von einem hämophagozytärem Syndrom unterschieden werden (Weiss 2007).

Bei einer monozytären oder myelomonozytären Leukämie findet sich ein hyperzelluläres Knochenmark mit mehr als 30% Blasten, was ebenfalls eine Differenzierung zum hämophagozytärem Syndrom möglich macht (Weiss 2007).

Erschwert wird die Klassifikation und Differenzierung der hämophagozytären Erkrankungen noch durch das neu beschriebene Auftreten der hämophagozytären Form des disseminierten histiozytären Sarkoms (Moore, Affolter et al. 2006).

## 4 MATERIAL UND METHODEN

Im Rahmen der Arbeit wurden die folgenden 3 Teilbereiche untersucht.

- 1) Zunächst erfolgte eine retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen der in den letzten 13 Jahren in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin (vormalig Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I) vorgestellten Berner Sennenhunde.
- 2) Im zweiten Schritt wurden die Befunde der Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom, die in der Zeit vom 01.12.2004 bis 31.05.2007 in der Klinik für Kleintiere vorgestellt wurden, prospektiv klinisch aufgearbeitet.
- 3) Der letzte ebenfalls prospektive Teil der Arbeit umfasste genaue zytologische Knochenmarkuntersuchungen mittels Erstellung von Myelogrammen der vorgestellten Berner Sennenhunde im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe.

## 4.1 Retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen

Die retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen der Berner Sennenhunde, die in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin (bis 01.04.2005 Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik I) vorgestellt wurden, umfasste den Zeitraum vom 01.03.1994 bis zum 30.06.2007. Die Auswertung erfolgte vom 01.03.1994 bis zum 07.11.2005 mit dem für Veterinärkliniken konzipierten Patientendokumentations-Programm Viehdoc (Wolf 2001) (Werner Müller, Köln und Dr. Ulrich Steinstraß, Witten, Deutschland) und ab dem 01.12.2005 mit dem Programm EasyVet (VetZ, Veterinärmedizinisches Dienstleistungszentrum GmbH, Hannover, Deutschland).

Die im Zeitraum vom 07.11.2005 bis zum 01.12.2005 untersuchten Hunde konnten nicht einbezogen werden, da in diesem Zeitraum die Daten aus dem Programm Viehdoc nicht abrufbar waren.

In die Auswertung wurden alle Berner Sennenhunde aufgenommen, deren Vorstellungsgrund retrospektiv zugänglich war. Den einzigen Ausschlußgrund stellte eine nicht sicher gestellte Diagnose dar.

Die Auswertung umfasste neben der gestellten Diagnose auch Daten zum Signalement der Berner Sennenhunde (Alter, Geschlecht).

Eine Sortierung der verschiedenen Erkrankungen nach den im Viehdoc vorgegebenen Diagnosegruppen ermöglichte ein automatisches Abfragen der Einzeldiagnosen. Um eine bessere Standardisierung zu gewährleisten, wurden die Diagnosen der unter EasyVet erfassten Berner Sennenhunde darauffolgend denselben Diagnosegruppen zugeordnet.

Folgende Diagnosegruppen sind im Programm Viehdoc festgelegt:

1. Abdomen
2. Atmungstrakt
3. Autoimmunerkrankungen
4. Bewegungsapparat
5. Blutbildende Organe
6. Endokrinologie
7. Genitaltrakt
8. Haut und Haare

9. Herz-Kreislauf
10. Infektionskrankheiten
11. Lebererkrankungen
12. Magen-Darmtrakt
13. Missbildungen
14. Nierenerkrankungen
15. Oberer Digestionstrakt
16. Oberer Respirationstrakt
17. Sinnesorgane
18. Sonstige
19. Tumoren
20. Vergiftungen
21. ZNS

Die Auflistung aller Neoplasien erfolgte unabhängig vom betroffenen Organsystem unter der Diagnosegruppe der Tumoren. Insgesamt wurde die Auswertung in der Tumorgruppe detaillierter vorgenommen als die Auswertung der anderen Diagnosegruppen, bei denen die vorgegebene Diagnose übernommen wurde. Bei einer eindeutigen Diagnosedstellung in der Gruppe der Tumoren konnte die Diagnose für die Auswertung übernommen werden. Wenn die Diagnose unklar und/oder ungenau war, (z.B. „Lungentumor“) erfolgte eine detaillierte Betrachtung der Krankengeschichte und der weiterführenden Untersuchungen. Teilweise wurden die in Viehdoc und EasyVet festgehaltenen Diagnosen - falls erhältlich - durch Sektionsbefunde oder histologische Untersuchungen ergänzt. Wenn in der vorgegebenen Diagnose der Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom gestellt worden war oder die Krankengeschichte verdächtig für ein histiozytäres Sarkom erschien, erfolgte eine erneute Beurteilung der Röntgenbilder und anderer erhältlicher weiterführender Untersuchungsbefunde.

Die Diagnose eines histiozytären Sarkoms stand fest, wenn mittels histologischer oder zytologischer Untersuchung der Tumor bestätigt wurde. Der Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom bestand entweder bei typischen Thoraxröntgenbildern oder bei sonographisch festgestellten miliaren inhomogenen Herden in Leber und Milz oder bei verdächtigen zytologischen Befunden in Kombination mit den oben aufgeführten radiologischen Veränderungen.

## 4.2 Klinische und weiterführende Untersuchungen von Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom

Im Zeitraum vom 01.12.2004 bis zum 31.05.2007 wurden die Untersuchungsbefunde der in der Klinik für Kleintiere vorgestellten Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom detailliert aufgearbeitet. Die Diagnose galt als sicher, wenn die Hunde entweder ein typisches klinisches Bild in Kombination mit charakteristischen zytologischen Veränderungen (große, pleomorphe histiozytären Zellen in Kombination mit multinukleären Riesenzellen mit deutlichen zellulären Atypien) in den veränderten Organen zeigten, oder wenn in der Sektion die Diagnose histiozytäres Sarkom gestellt worden war. Soweit möglich erfolgte bei den Hunden mit klinisch und zytologisch gestellter Diagnose eine Diagnosebestätigung durch eine Sektion oder eine histologische Untersuchung. 26 Hunde konnten so in die Studie einbezogen werden.

Die Untersuchungen der Hunde wurde durch die Mitarbeiter der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, durchgeführt. Die zytologische Diagnosestellung erfolgte vom Zentrallabor der Klinik unter der fachlichen Betreuung durch Dr. med. vet. Natali Bauer (Diplomate ECVCP). Von allen erkrankten Hunden wurden eine Blutuntersuchung und soweit möglich Röntgenbilder des Thorax und des Abdomens sowie eine sonographische Untersuchung des Abdomens angefertigt.

### 4.2.1 Zytologische Differenzierung der histiozytären Zellen

Alle zytologischen Präparate, die durch eine Tumorf infiltration gekennzeichnet waren, wurden nach Bekanntwerden des hämophagozytären histiozytären Sarkoms von MOORE et al. (2006) (Ursprungszelle: Makrophage) erneut zytomorphologisch beurteilt. Insgesamt zeigten die histiozytären Tumorzellen eine große Variation der Zellmorphologie, auch innerhalb eines einzelnen Präparates. Zur Vereinfachung wurden die Zellen in 3 morphologische Gruppen unterteilt: Zu Gruppe 1 wurden die Zellen sortiert, die die morphologischen Kriterien für atypische dendritische Zellen (histiozytäres Sarkom) aufwiesen. Hierbei handelte es sich um phagozytotisch inaktive histiozytäre Zellen mit einer hochgradigen Anisozytose und Anisokaryose,

einem hohem Kern-Zytoplasma-Verhältnis, einer feinretikulierten Chromatinstruktur, deutlichen Nukleoli und zum Teil feinen hell umschriebenen Vakuolen. Teilweise waren die Zellen zwei- oder mehrkernig und/oder lagen als histiozytäre Riesenzellen vor (siehe Bild 3 bei 5.2.4.3.7). In wenigen anderen Präparaten wiesen die histiozytären Zellen ein niedrigeres Kern-Zytoplasma-Verhältnis auf, stellten sich weitgehend gut differenziert dar und zeigten eine Phagozytose von Erythrozyten, Leukozyten und Detritus, so dass hier die morphologischen Kriterien von Markophagen (hämphagozytäres histiozytäres Sarkoms) erfüllt waren (siehe Bild 4). In die dritte Gruppe fielen die Ausstriche, die keine klare Zuordnung zu den beiden oben genannten Formen ermöglichten: Entweder fanden sich kleine histiozytäre Zellen mit einer nur geringen Phagozytoseaktivität ohne die typischen Malignitätskriterien (3a) oder auf den Ausstrichen konnten Mischformen der Gruppe 1 und 2 (d.h. atypische inaktive histiozytäre Zellen inklusive Riesenzellen in Kombination mit einigen bis zahlreichen gut differenzierte phagozytotisch aktiven Zellen) nachgewiesen werden (3b) (siehe Bild 5).

## 4.3 Knochenmarkuntersuchungen bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom

Soweit der Besitzer mit einer Bestimmung des Tumorstadiums (Staging) einverstanden war, wurden von allen Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom, die im Zeitraum vom 01.12.2004 bis zum 31.05.2007 einen Vorstellungstermin in unserer Klinik hatten, Knochenmarkaspirationen durchgeführt. Als Vergleichsgruppe dienten Knochenmarkuntersuchungen von gesunden Beagle Hunden.

### 4.3.1 Probanden

In die Auswertung der Knochenmarkanalysen flossen 23 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom ein, bei denen im oben genannten Zeitraum eine Knochenmarkprobe gewonnen und ausgewertet werden konnte.

Als Kontrollgruppe dienten die Knochenmarkausstriche von 10 gesunden Beagle-Hunden (4 mk, 6 wk) mit einem medianen Alter von 1,5 Jahren (1-5 Jahre).

### 4.3.2 Knochenmarkentnahme und Probenverarbeitung

Die Entnahme des Knochenmarkes wurde sowohl bei den Berner Sennenhunden als auch bei den Beagle-Hunden entweder am Humerus (Fossa trochanterica) oder am Tuber Sacrale (Spina iliaca dorsalis cranialis) durchgeführt. Die Punktion erfolgte dabei entweder am stehenden Tier (Punktion des Tuber sacrale) oder in linker Seitenlage (Punktion Humerus). Nach einer Rasur und Desinfektion der Punktionsstelle, wurde eine Anästhesie der Haut, der Unterhaut und vor allem des schmerzempfindlichen Periosts mit 0,5 -1 ml Lidocain (Xylocain®, Astra Zeneca GmbH, Wedel) vorgenommen. Die Aspiration selber verlief nach bekanntem Vorgehen (Mischke 2003; Moritz 2005) mit einer Spinalkanüle (Spinocan®, Braun, Melsungen) mit 18 Gauge und 88 mm.

Es wurden ca. 0,5 ml Knochenmark in eine heparinisierte Spritze entnommen. Hierzu wurde der Konus einer 2 ml Spritze mit einer verdünnten Heparinlösung (Heparin-Natrium-25000®, Ratiopharm, Ulm) (1000 IE auf 5 ml NaCl) gefüllt und mit dieser Spritze die Aspiration des Knochenmarks vorgenommen. Es erfolgte eine Anfertigung von mindestens 3 Knochenmark-ausstrichen mittels „Tropfen-Auseinanderzieh-Technik“ (drop-squash-Technik) (Mylonakis, Day et al. 2005), bei der ein Tropfen Knochenmark auf einen steil aufgestellten Objektträger getropft wurde. Durch Auflegen und vorsichtiges Wegziehen eines 2. Objektträgers in umgekehrter Richtung kamen die Markbröckel dünn ausgebreitet im Zentrum des Objektträgers zu liegen, während sich das Markblut in der Peripherie befand. Der Anpressdruck der beiden Objektträger blieb dabei nur auf die Adhäsion zwischen den beiden Objektträgern beschränkt.

Die so angefertigten Ausstriche wurden nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt.

### 4.3.3 Erstellung der Myelogramme

Zur Erstellung der Myelogramme wurden 1000 Vorläuferzellen in der 1000-fachen Vergrößerung mit Ölimmersion auf dem Ausstrich ausgezählt. Wie in der Literatur beschrieben (Moritz 1993), erfolgte nach Auszählung eine prozentuale Aufzählung der verschiedenen Vorläuferzellen.

Die Zählung der Megakaryopoese (Megakaryozyten, Promegakaryozyten, Megakaryoblasten) konnte in der 100-fachen Vergrößerung durchgeführt werden. Vor der Zählung wurde mit einem wasserfesten Stift eine Markierung der Knochenmarkbröckel-enthaltenden Felder vorgenommen und innerhalb dieses Bereiches die Auszählung der Megakaryopoese vorgenommen (Mischke, Busse et al. 2002). Es erfolgte dann - soweit genug Bröckel-enthaltende Sichtfelder (> 25) vorhanden waren - eine Zählung der megakaryozytären Vorläuferzellen in 25 Sichtfeldern auf 1-3 Objektträgern. Waren weniger Felder vorhanden, wurde die maximal mögliche Anzahl an Sichtfeldern ausgezählt (Fanden sich makroskopisch keine Bröckel, entfiel die quantitative Beurteilung der Megakaryopoese). Nach der Auszählung wurde die mittlere Anzahl an pro Gesichtsfeld vorhandenen megakaryozytären Vorläuferzellen errechnet. Weiterhin erfolgte eine Differenzierung der Megakaryopoese in 25 Sichtfeldern nach reifen (Megakaryozyten) und unreifen

(Megakaryoblasten und Promegakaryozyten) megakaryozytären Vorläuferzellen und eine anschließende Berechnung des Reifungsindex aus dem Verhältnis von unreifen zu reifen megakaryozytären Vorläuferzellen. Die in den Bröckeln gelegenen Vorläuferzellen, deren Morphologie nicht näher zu klassifizieren war, wurden als unklassifizierbare Vorläufer aus der Differenzierung ausgeschlossen.

Besondere Beachtung innerhalb der Knochenmarksauswertung galt den vorhandenen histiozytären Zellen. So erfolgte bei jedem Hund eine genaue Beschreibung der Morphologie der histiozytären Zellen im Knochenmark. Außerdem wurden neben der prozentualen Auszählung der histiozytären Zellen im Rahmen der Myelogrammauswertung die Knochenmarkausstriche jeden Hundes in der 1000-fachen Vergrößerung für 3 Minuten gemustert und die Anzahl an histiozytären Zellen, die innerhalb dieser Zeit gezählt werden konnte, ausgewertet. Diese zusätzliche Auszählung diente als zweite Absicherung der besseren Auswertbarkeit der Anzahl histiozytärer Zellen, da sich bei einigen Hunden Gruppen an histiozytären Zellen fanden oder fokal erhöhte Anteile an histiozytären Zellen beobachtet werden konnten.

Die histiozytären Zellen wurden morphologisch dabei zunächst in morphologisch typische Makrophagen mit Phagozytose und atypische histiozytäre Zellen ohne oder mit Phagozytose unterteilt. Die morphologischen Kriterien eines physiologischen Makrophagen waren erfüllt, wenn die Zellen neben einer deutlichen Phagozytoseaktivität von Erythrozyten, Leukozyten, Detritus und/oder Hämosiderin eine niedrige Kern-Zytoplasma-Verhältnis und eine regelmäßige Chromatinstruktur ohne Nukleoli aufwiesen. Als pathologisch wurden histiozytäre Zellen angesehen, die keine oder nur eine sehr geringe Phagozytoseaktivität zeigten und/oder eine oder mehrere Malignitätskriterien (siehe unten) für histiozytäre Zellen aufwiesen. Innerhalb der Malignitätskriterien wurde dann noch zwischen unspezifischen Malignitätskriterien, die keine Abgrenzung innerhalb der verschiedenen histiozytären Erkrankungen erlaubten und für ein histiozytäres Sarkom spezifischen Malignitätskriterien unterschieden.

Als nicht pathognomonisch für ein histiozytäres Sarkom galten vor allem histiozytäre Zellen mit einer geringen oder fehlenden Phagozytoseaktivität ohne weitere Malignitätskriterien. Das Vorkommen von großen histiozytären Zellen (> 20µm) mit

einem vakuolisierten Zytoplasma, einer Anisozytose und Anisonukleose, einem variablen Kern-Zytoplasm-Verhältnis und das Vorhandensein von zwei- oder mehrkernigen Zellen sowie sichtbaren Nukleoli galten als hochverdächtig für ein histiozytäres Sarkom. Fanden sich zusätzlich noch mehrere atypische Mitosefiguren und/oder histiozytäre Riesenzellen, konnte anhand des Knochenmarkes alleine die zytologische Diagnose eines histiozytären Sarkoms gestellt werden.

## 4.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS® (statistical package for social sciences), Version 14.0 und mit GraphPad Prism®, Version 4.0, 2003. Zur Ausarbeitung der graphischen Darstellungen diente Microsoft Office Excel 2003.

Die einzelnen Zellreihen der Myelogramme wurden zunächst mittels Kolmogorov Smirnov Test auf Normalverteilung überprüft und danach entweder mithilfe eines t-Testes (normalverteilte Daten) oder Mann-Whitney-U-Testes (keine Normalverteilung) im Hinblick auf Abweichungen der Mittelwerte und der Varianzen verglichen.

## 5 ERGEBNISSE

### 5.1 Retrospektive Auswertung der Erkrankungsursachen

Im Zeitraum vom 01.03.1994 bis zum 07.11.2005 wurden mit dem Programm Viehdoc 36600 Hunde in der Giessener Klinik für Kleintiere, Innere Medizin erfasst. Hiervon waren 17605 Hunde weiblich und 18995 Hunde männlich.

Unter den 10 häufigsten Rassen war der Berner Sennenhund mit 841 Tieren vertreten (siehe Abb.2).

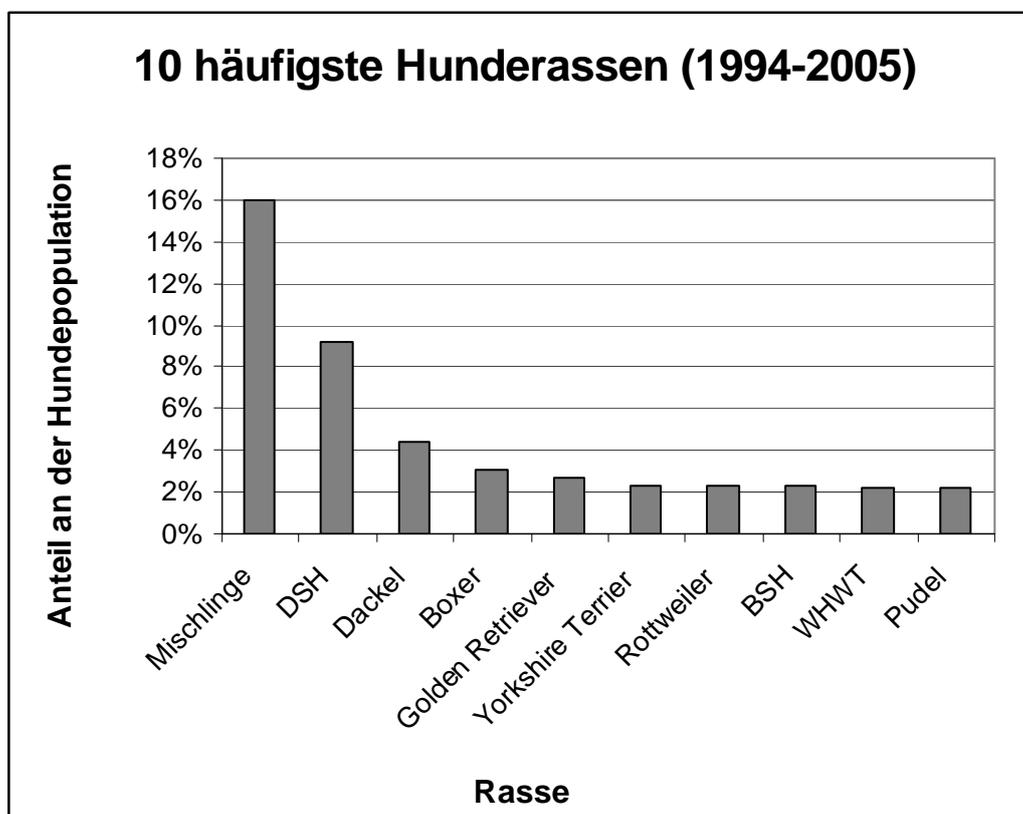


Abb. 2: Die in der Giessener Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, am häufigsten vorgestellten Hunderassen (Zeitraum: 01.03.1994-07.11.2005).

DSH: Deutscher Schäferhund; BSH: Berner Sennenhund; WHWT: West Highland White Terrier

Der Anteil an Berner Sennenhunden an der gesamten vorgestellten Hundepopulation im Zeitraum der Auswertung mit dem System Viehdoc lag dabei bei 2,30 %.

Vollständige Daten zu Signalement und Diagnose konnten im Zeitraum vom 01.03.1994 bis einschließlich Juni 2007 von insgesamt 708 von 841 Berner Sennenhunden gesammelt werden. 616 Hunde wurden dabei mit dem Dokumentationssystem Viehdoc und 92 Hunde mit dem Programm EasyVet ausgewertet.

Bei 700/708 Berner Sennenhunde waren vollständige Daten zum Geburtstag vorhanden, so dass das Alter zum Zeitpunkt der Vorstellung errechnet werden konnte. Das mediane Alter der 700 vorgestellten Berner Sennenhunde lag bei 4,9 Jahren (51 Tage bis 14,7 Jahre). Die Geschlechterverteilung bei Vorstellung zeigte eine leichte Überrepräsentation an Rüden mit 383 Hunden. 325 Tiere waren weiblich. Ein großer Teil der Hunde fiel bei Vorstellung unter die Diagnosegruppe der Tumoren mit 26,1% (185/708) und unter die Gruppe der Nierenerkrankungen mit 18,2% (129/708). Die anderen Vorstellungsursachen sind entsprechend der betroffenen Organsysteme Abb. 3 zu entnehmen.

Als häufigste Einzeldiagnose wurde bei 119/708 (16,8%) Hunden eine Niereninsuffizienz diagnostiziert. Die zweithäufigste Einzeldiagnose stellte das histiozytäre Sarkom mit 8,2% (58/708) dar.

Weitere häufige Diagnosen waren bei 4,1 % der Hunde (29/708) Gastroenteritiden, bei 2,3% (16/708) die Parvovirose, bei 2% (14/708) Anämien unterschiedlicher Genese und bei 1,8% (13/708) Pneumonien.

16/708 (2,3%) Hunde wurden mit einer angeborenen Herzerkrankung (Persistierender Ductus Arteriosus, Subaortenstenose, Ventrikel-Septum-Defekt, Fallotsche Tetralogie) und 4/708 (0,6%) Hunde mit einem angeborenen portosystemischen Lebershunt vorgestellt.

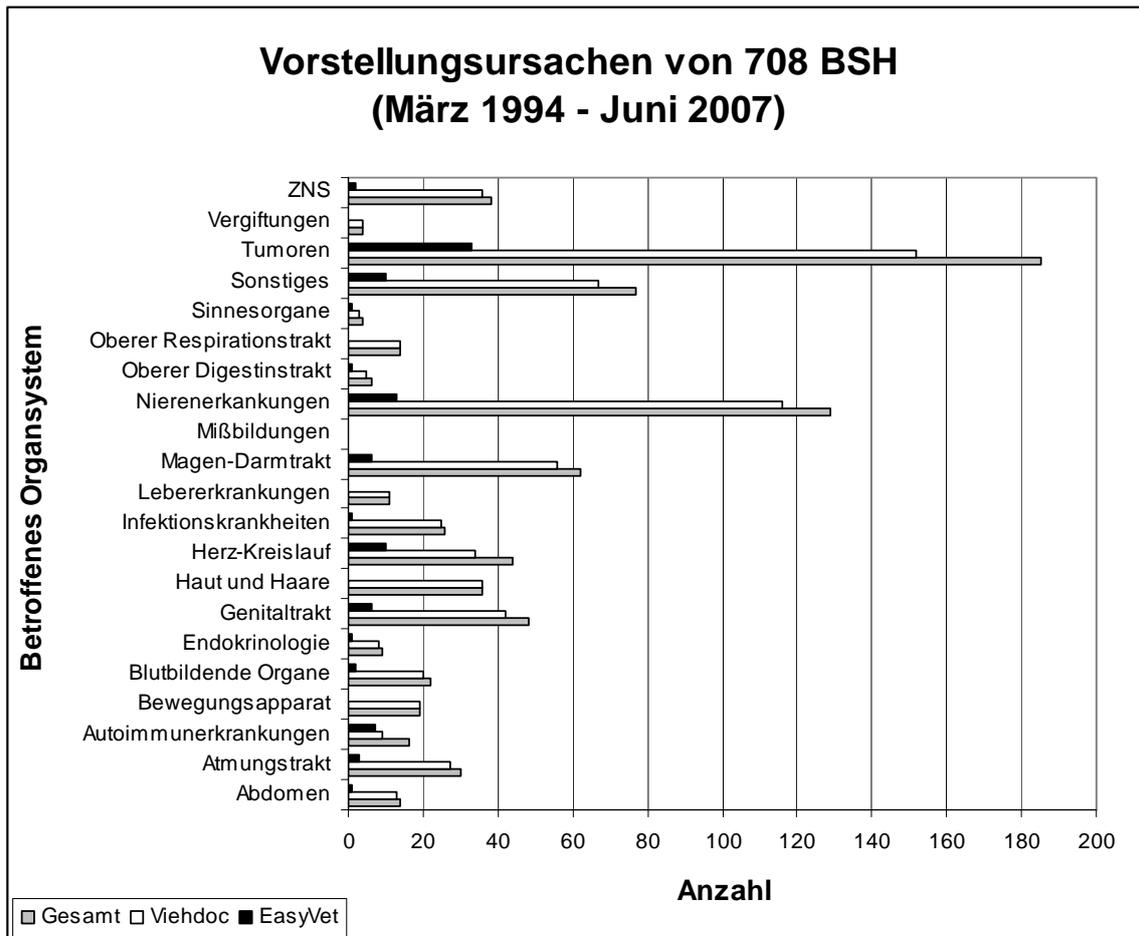


Abb. 3: Anzahl der verschiedenen Erkrankungen von 708 in der Klinik für Kleintiere vorgestellten BSH, nach Diagnosegruppen sortiert. Doppelnennungen sind möglich.

### 5.1.1 Diagnosegruppe Tumoren (185/708 = 26,1%)

Im Rahmen der Arbeit wurden die Tumoren im Detail analysiert. Die Aufzählung der anderen im Auswertungszeitraum gestellten Einzeldiagnosen kann dem Anhang entnommen werden.

Zunächst wurden die Tumoren nach hämatopoetischen und nicht hämatopoetischen Tumoren unterteilt.

#### 5.1.1.1 Hämatopoetische Tumoren (123/708 = 17,4%)

Die hämatopoetischen Tumoren stellten mit 66,5% (123/185) die Mehrheit aller Tumoren dar:

- Histiozytäres Sarkom (58)
- Verdacht auf histiozytäres Sarkom (22)
- Lymphom (20)
- Verdacht auf Lymphom (6)
- Lymphom oder histiozytäres Sarkom (5)
- Mastzelltumor (7)
- Myeloische Leukämie (3)
- Lymphatische Leukämie (1)
- Mastzelltumor und Lymphom (1)

Eine Aufschlüsselung der hämatopoetischen Tumoren nach den beiden unterschiedlichen Programmen ist in der unten aufgeführten Grafik (Abb. 4) dargestellt.

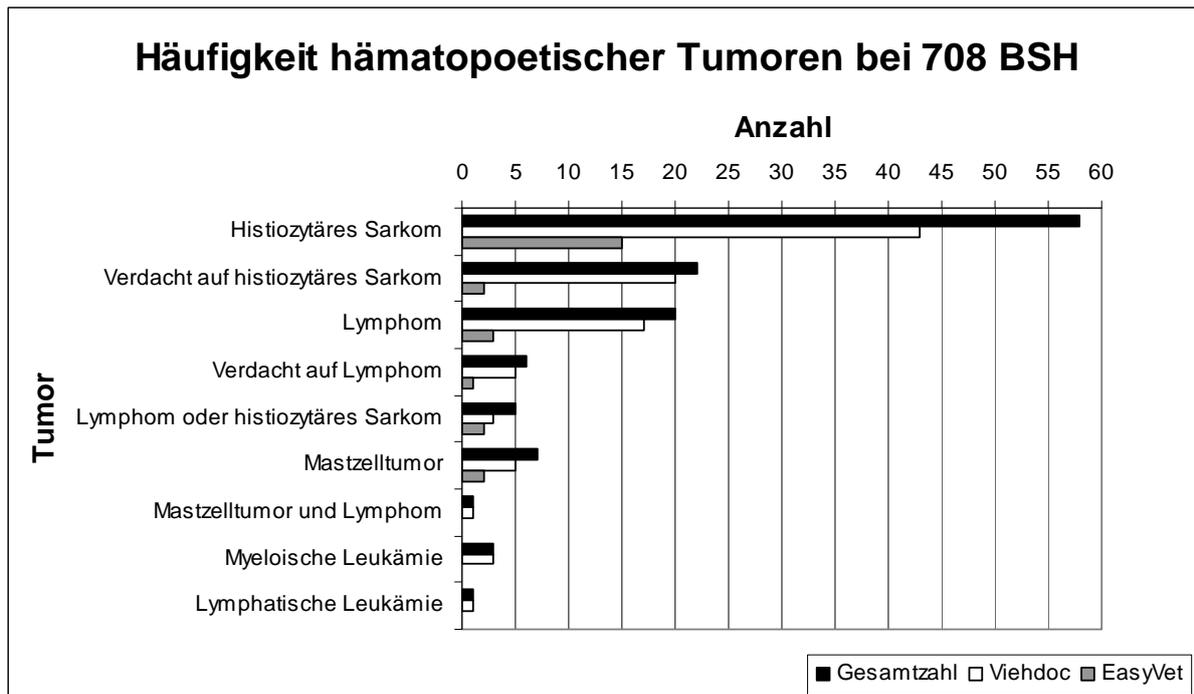


Abb. 4: Detaillierte Darstellung der 123 verschiedenen hämatopoetischen Tumoren bei 708 im Zeitraum vom 01.03.1994 - 31.06.2007 vorgestellten Berner Sennenhunden.

#### 5.1.1.1.1 Histiozytäres Sarkom

Der Anteil des histiozytären Sarkoms an allen Tumoren lag bei 31,4% (58/185). Bei weiteren 11,9 % (22/185) der Hunde mit Tumor bestand der hochgradige Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom, womit 43,2 % (80/185) aller an einem Tumor erkrankten, in unserer Klinik vorgestellten Berner Sennenhunde ein histiozytäres Sarkom bzw. einen Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom zeigten (siehe Abb. 5). Weiterhin fanden sich noch 31/185 (16,8%) weitere Hunde mit Neoplasien in der Lunge sowie in Milz und Leber oder im Abdomen, bei denen ein histiozytäres Sarkom aufgrund der Lokalisation möglich war. Eine nähere Differenzierung dieser Neoplasien war auf Grund fehlender weiterführender Untersuchung nicht möglich (siehe auch 5.1.1.2).

Der Anteil des histiozytären Sarkoms an der Gesamtpopulation vorgestellter Berner Sennenhunde lag dabei bei 8,2 % (58/708) bzw. bei 11,3 % (80/708) unter Einbeziehung der hochgradig tumorverdächtigen Hunde (Tab. 5). Ergänzt man hierzu noch die 31 Berner Sennenhunde mit einem undifferenzierten Tumor, deren Tumorverteilungsmuster für das Vorliegen eines histiozytären Sarkom sprechen könnte, lag der mögliche Tumoranteil sogar bei 15,7% (111/708).

Bei einem Vergleich der unter Viehdoc und der unter EasyVet vorgestellten Berner Sennenhunde (Tab. 5) wurde deutlich, dass die definitive Diagnose eines histiozytären Sarkoms innerhalb der Gruppe der Tumoren im Zeitraum vom 01.12.2005 bis zum 30.06.2007 (Auswertung mit EasyVet) häufiger gestellt wurde (45,5% versus 28,3%) als früher (Zeitraum 01.03.1994 bis 07.11.2005).

Bezieht man die Hunde mit Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom und Hunde mit einem möglichen histiozytäres Sarkom in den Vergleich ein, dann lag der mögliche Anteil des histiozytären Sarkoms an der Gesamtzahl der Tumoren in der Zeit von März 1994 - November 2005 mit 61,8% (94/152) in einem sehr ähnlichen Bereich wie die 66,7% (22/33) in der Zeit von Dezember 2005 bis Juni 2007.

Tab. 5: Prozentuale Anteile der verschiedenen hämatopoetischen Tumoren an allen Tumoren und allen Erkrankungen über die verschiedenen Untersuchungszeiträume.

Hämatopoetischer Tumor	Anteil an allen Tumoren	Anteil an allen Tumoren (Viehdoc)	Anteil an allen Tumoren (Easy Vet)	Anteil an allen Erkrankungen
	März 94- Juni 07	März 94- November 05	Dezember 05- Juni 07	März 94–Juni 07
<b>Histiozytäres Sarkom</b>	31,4% (58/185)	28,3% (43/152)	45,5% (15/33)	8,2% (58/708)
<b>Verdacht auf histiozytäres Sarkom</b>	11,9% (22/185)	13,2% (20/152)	6,1% (2/33)	3,1% (22/708)
<b>Lymphom</b>	10,8% (20/185)	11,2% (17/152)	9,1% (3/33)	2,8% (20/708)
<b>Verdacht auf Lymphom</b>	3,2% (6/185)	3,3% (5/152)	3,0% (1/33)	0,9% (6/708)
<b>Lymphom oder histiozytäres Sarkom</b>	2,7% (5/185)	2,0% (3/152)	6,1% (2/33)	0,7% (5/708)
<b>Mastzelltumor</b>	3,8% (7/185)	3,3% (5/152)	6,1% (2/33)	1,0% (7/708)
<b>Mastzelltumor und Lymphom</b>	0,5% (1/185)	0,7% (1/152)	0%	0,1% (1/708)
<b>Myeloische Leukämie</b>	1,6% (3/185)	2,0% (3/152)	0%	0,4% (3/708)
<b>Lymphatische Leukämie</b>	0,5% (1/185)	0,7% (1/152)	0%	0,1% (1/708)
<b>Gesamt</b>	<b>66,5% (123/185)</b>	<b>64,5% (98/152)</b>	<b>75,8% (25/33)</b>	<b>17,4% (123/708)</b>

#### 5.1.1.2 Andere Tumoren (62/708 = 8,8%)

Die Aufschlüsselung der nicht hämatopoetischen Tumoren, die 33,5 % (62/185) aller Tumoren ausmachten, erfolgte nach Organsystemen (siehe auch Abb. 5). Unter diesen Tumoren sind 31 Fälle besonders hervorzuheben (Viehdoc: 28/185 = 15,1%; EasyVet: 3/185 = 1,6%), bei denen zum Zeitpunkt der Vorstellung keine weitere Tumordifferenzierung durchgeführt worden war und bei denen anhand der Tumorlokalisation ein disseminiertes histiozytäres Sarkom möglich war. Die vorhandenen Daten dieser Hunde reichten jedoch nicht zu einer retrospektiven Diagnosestellung aus. Im Folgenden sind diese Tumoren in Fettdruck hervorgehoben.

#### 5.1.1.2.1 Lungentumoren (22/708 = 3,1%)

- **Undifferenzierte Lungentumorose (13)**
- Lungenkarzinom (3)
- **Lungentumor in Kombination mit abdominalem Tumor (2)**
- Sarkom in der Lunge (2)
- Verdacht auf Lungenkarzinom (1)
- miliare Lungentumorose (1)

#### 5.1.1.2.2 Leber- und Milztumoren (11/708 = 1,6%)

- **undifferenzierte Lebertumorose (6)**
- isolierter Milztumor (3)
- **undifferenzierte Milz- und Lebertumoren (2)**

#### 5.1.1.2.3 Blasentumoren (8/708 = 1,1%)

- undifferenzierter Blasentumor (3)
- Verdacht auf Übergangszellkarzinom in der Blase (3)
- Übergangszellkarzinom in der Blase (1)
- Rhabdomyosarkom in der Blase (1)

#### 5.1.1.2.4 restliche Tumoren (21/708 = 3,0%)

- **Tumorose (5)**
- **undifferenzierter abdominaler Tumor (3)**
- metastasiertes Mammakarzinom (2)
- Verdacht auf Hirntumor (2)
- Sarkom im Abdomen (1)
- Karzinommetastase im Lymphknoten (1)
- metastasiertes Prostatakarzinom (1)
- Verdacht auf Darmtumor (1)
- Tumor im Rückenmark (1)
- Plattenepithelkarzinom in der Nase (1)
- metastasiertes Adenokarzinom (1)
- mesenchymaler Tumor am Bein (1)
- multiple Hauttumoren (1)

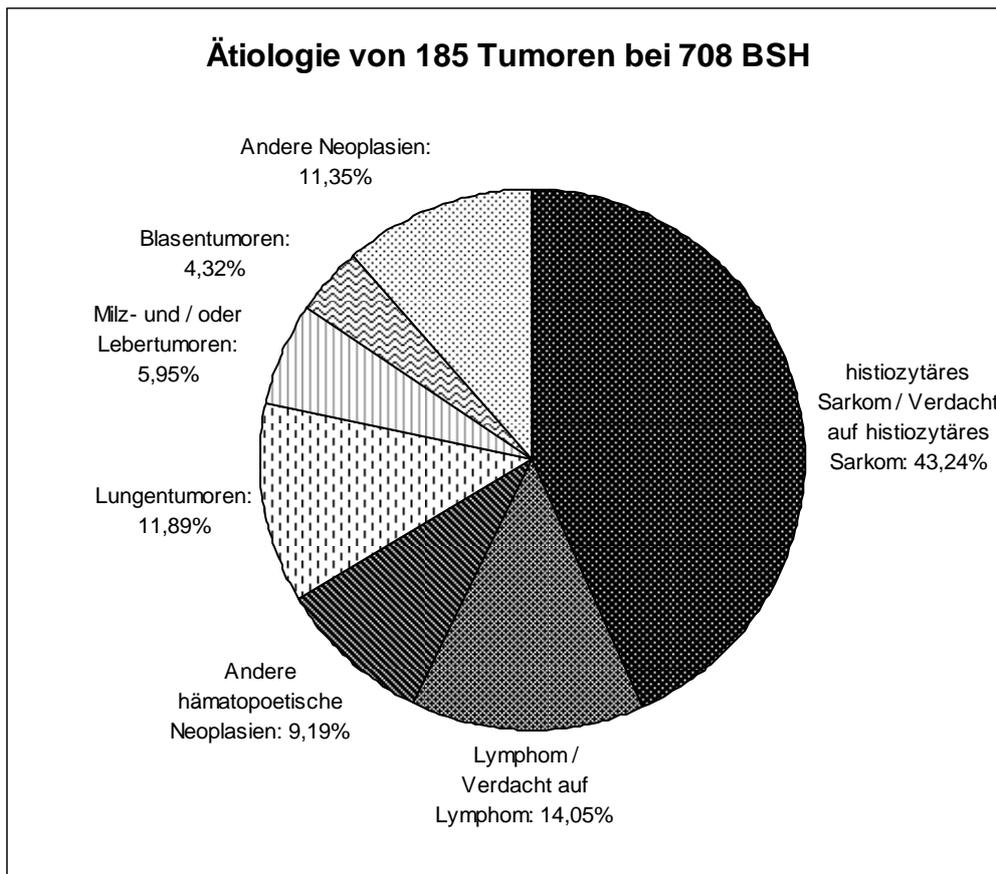


Abb. 5: Prozentuale Verteilung von verschiedenen Tumoren bei 185 Berner Sennenhunden mit Neoplasie.

### 5.1.1.3 Signalement der Hunde mit histiozytärem Sarkom

Das Alter der 58 Berner Sennenhunde die in 13 Jahren in der Klinik für Kleintiere mit histiozytärem Sarkom (Abb. 6) diagnostiziert worden waren, lag im Median bei 6,6 Jahren. Der jüngste Hund mit histiozytärem Sarkom war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 10 Monate, der älteste 14,7 Jahre alt.

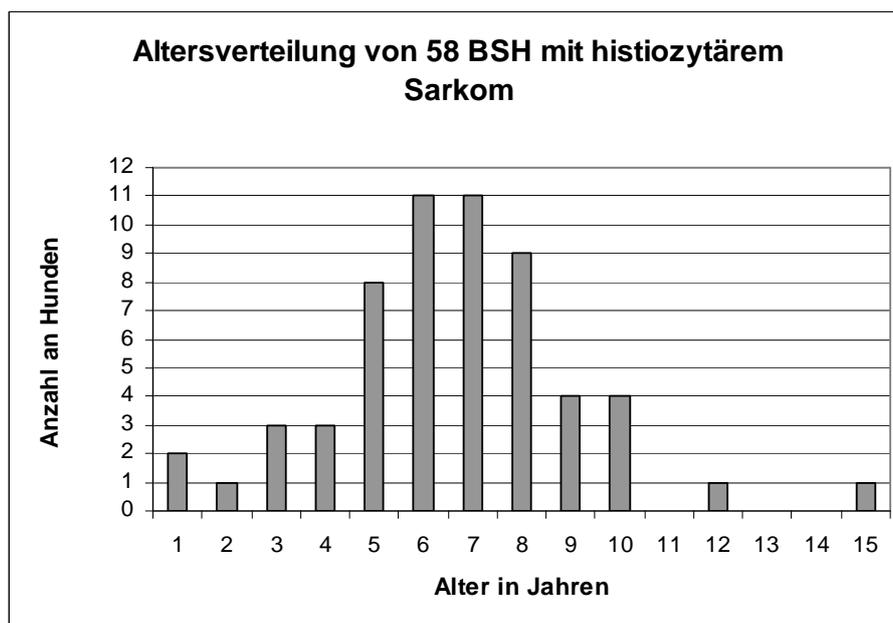


Abb. 6: Altersverteilung von 58 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom die im Zeitraum vom 01.03.1994 bis zum 30.06.2007 an der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin vorgestellt worden waren.

Die Geschlechterverteilung der Hunde mit histiozytärem Sarkom war mit 33 männlichen und 25 weiblichen Hunden geringgradig zugunsten der Rüden verschoben. Da aber auch in der Gesamtpopulation der 708 Berner Sennenhunden die Rüden mit 383 Tieren geringgradig überrepräsentiert waren, konnte wie in Tab. 6 dargestellt ist, keine signifikante Geschlechtsdisposition bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom nachgewiesen werden.

Tab. 6: Kreuztabellarische Darstellung der Geschlechterverteilung aller in der Klinik für Kleintiere vorgestellten 708 Berner Sennenhunde zur Gruppe der 58 Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom.

			Erkrankung		Gesamt
			Kein histiozytäres Sarkom	histiozytäres Sarkom	
Geschlecht	weiblich	Anzahl	<b>300</b>	<b>25</b>	<b>325</b>
		Erwartete Anzahl	298,4	26,6	325,0
		% von Geschlecht	92,3%	7,7%	100,0%
		% von Krank	46,2%	43,1%	45,9%
		% der Gesamtzahl	42,4%	3,5%	45,9%
	männlich	Anzahl	<b>350</b>	<b>33</b>	<b>383</b>
		Erwartete Anzahl	351,6	31,4	383,0
		% von Geschlecht	91,4%	8,6%	100,0%
		% von Krank	53,8%	56,9%	54,1%
		% der Gesamtzahl	49,4%	4,7%	54,1%
Gesamt		Anzahl	<b>650</b>	<b>58</b>	<b>708</b>
		Erwartete Anzahl	650,0	58,0	708,0
		% von Geschlecht	91,8%	8,2%	100,0%
		% von Krank	100,0%	100,0%	100,0%
		% der Gesamtzahl	91,8%	8,2%	100,0%

## 5.2 Klinische und weiterführende Untersuchungen von Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom

Im Untersuchungszeitraum vom 01.12.2004 bis zum 31.05.2007 wurden 26 Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom in unserer Klinik vorgestellt und deren klinische Befunde im Detail ausgewertet.

### 5.2.1 Signalement

Von den 26 vorgestellten Hunden waren 10 Tiere weiblich (38%), 8 weiblich-kastriert (31%), 5 männlich (19%) und 3 männlich-kastriert (12%). Das mediane Alter der Hunde bei Vorstellung lag bei 7,0 Jahren. Der jüngste Hund war zum Zeitpunkt der Diagnosestellung 4,3 Jahre alt, der älteste Hund war 9,9 Jahre alt (siehe Abb. 7).

Die mittlere Überlebenszeit nach Diagnosestellung (24/26) war mit  $33,3 \pm 44,4$  Tagen sehr kurz. Die längste Überlebenszeit zeigte ein Hund mit 194 Tagen. Bei 2 Hunden lagen keine Daten zum Todestag des Hundes vor, weshalb diese Hunde nicht mit in die Berechnung einfließen konnten.

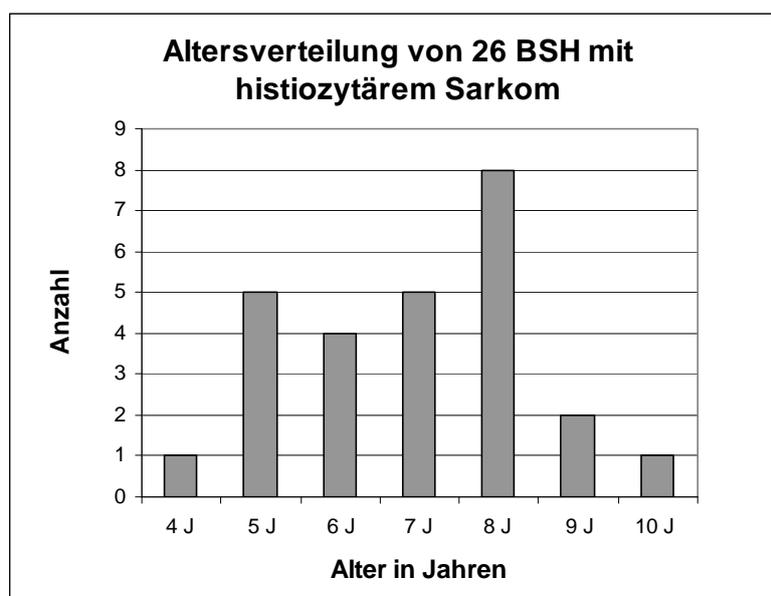


Abb. 7 : Alter von 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.

## 5.2.2 Anamnese

Die Hunde wurden mit unterschiedlichen Leitsymptomen in unserer Klinik vorgestellt (Abb. 8). Die häufigsten Vorstellungsgründe der Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom waren unspezifisch und zeigten sich bei 15/26 (58%) Hunden durch eine Apathie bzw. eine Leistungsinsuffizienz und bei 14/26 (54%) Hunden durch eine Apathie bzw. eine Leistungsinsuffizienz und bei 14/26 (54%) Hunden durch eine Anorexie (Doppelnennungen wurden hierbei vorgenommen).

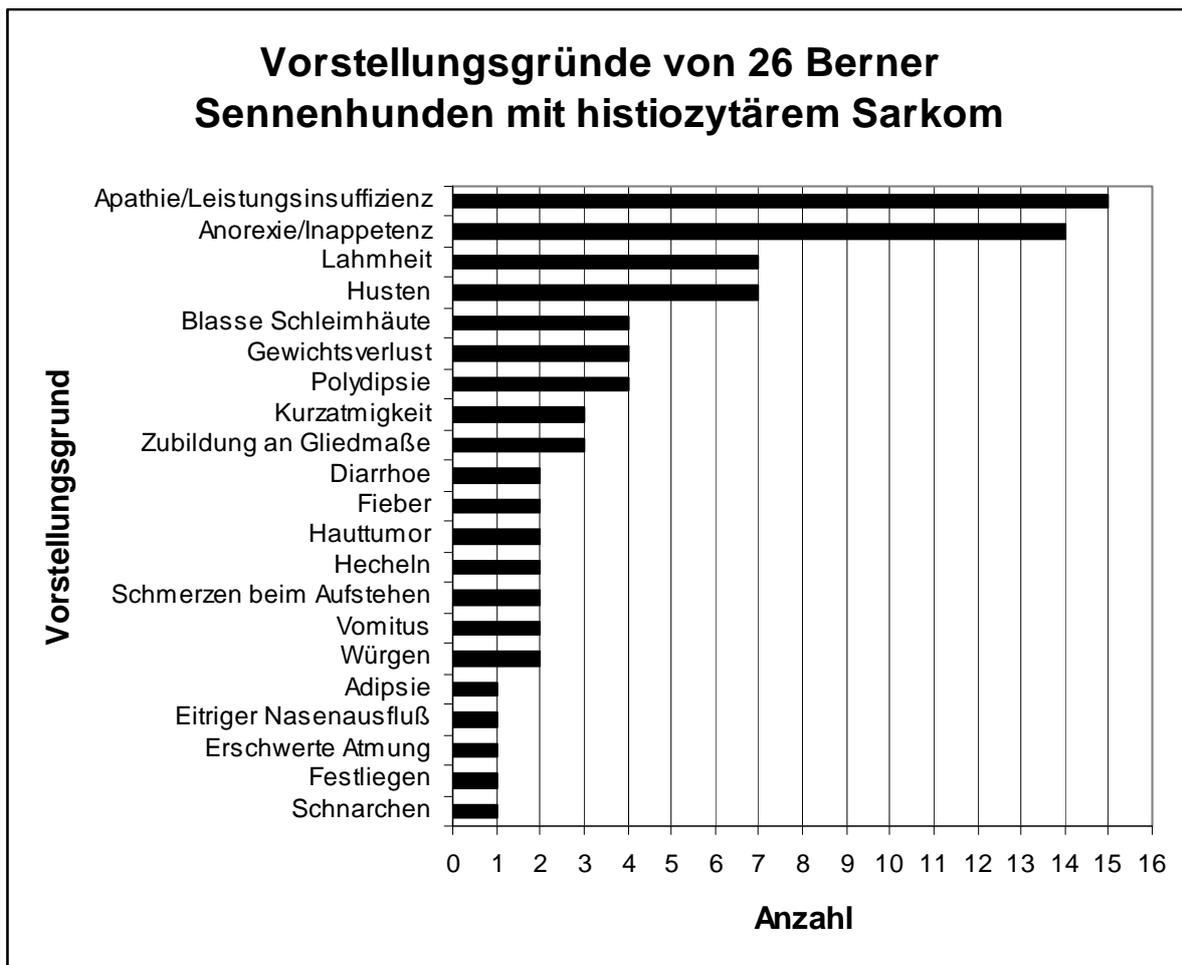


Abb. 8: Vorstellungsgründe von 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom. Doppelnennungen sind möglich.

## 5.2.3 Klinische Untersuchung

### 5.2.3.1 Allgemeine klinische Untersuchung

#### **Haltung:**

Die meisten der Hunde zeigten bei Vorstellung Veränderungen der Haltung und des Allgemeinbefindens.

15/26 (58%) der Tiere waren bei Erstvorstellung matt und/oder hatten eine schlaffe Haltung. Drei weitere Berner Sennenhunde (12%) wurden in Seitenlage vorgestellt.. Ein Hund (4%) fiel durch eine Parese beider Hintergliedmaßen auf.

#### **Allgemeinbefinden:**

17/26 (65%) der vorgestellten BSH zeigten bei der klinischen Untersuchung eine Störung des Allgemeinbefindens. Das Allgemeinbefinden war bei sieben (27%) BSH geringgradig, bei sechs (23%) Hunden mittelgradig, und bei vier (15%) Berner Sennenhunden hochgradig gestört.

Bei sieben Hunden wurden keine Angaben zum Allgemeinbefinden gemacht.

#### **Ernährungszustand:**

11/26 (42%) Tiere fielen durch eine Gewichtsabnahme auf:

Bei drei (12%) Berner Sennenhunden wurde der Ernährungszustand als geringgradig mager, bei sechs (23%) Hunden als mager und bei zwei (8%) Tieren als hochgradig abgemagert beschrieben. Die zwei hochgradig abgemagerten Hunde zeigten zusätzlich einen Muskelatrophie.

Fünf (19%) Hunde wurden mit gutem Ernährungszustand und drei weitere (12%) mit einer Adipositas vorgestellt.

Keine Angaben zum Ernährungszustand erfolgten bei den restlichen sieben Hunden.

#### **Temperatur:**

Die mittlere rektal gemessene Körperinnentemperatur der Hunde zum Zeitpunkt der Erstvorstellung lag bei 38,8 C° (38-39,9 C°). 42% (11/26) der Berner Sennenhunde hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung eine Temperatur über 39 C°. Die Temperatur der anderen Hunde war im Referenzbereich.

### 5.2.3.2 Spezielle klinische Untersuchung

#### **Haare, Haut und Unterhaut:**

7/26 Berner Sennenhunde (27%) hatten zum Zeitpunkt der Vorstellung ein stumpfes Haarkleid bzw. einen verminderten Haarglanz oder zeigten Schuppen. Ein Hund (4%) wies einen aufgehobenen Hautturgor auf.

Eine oder mehrere Hautumfangsvermehrungen fanden sich bei neun (35%) Hunden (siehe Anhang 2). Bei drei (12%) dieser Hunde lag die Zubildung im Bereich der Gliedmaßen, drei (12%) weitere Berner Sennenhunde wiesen mehrere Hautumfangsvermehrungen auf. Bei diesen sechs (23%) Hunden konnte ein histiozytäres Sarkom als Auslöser der Hautzubildung(en) mittels Zytologie nachgewiesen werden. Bei den 3 letzten Hunden (12%) mit vorhandenen Hauttumoren erfolgte keine zytologische Diagnosestellung, weshalb bei diesen Hunden die Ätiologie der Hautzubildungen nicht geklärt werden konnte.

Bei neun Hunden (35%) konnten keine Auffälligkeiten der Haare, Haut oder Unterhaut beobachtet werden.

#### **Schleimhäute:**

Den am häufigsten nachgewiesenen abnormalen Untersuchungsbefund stellten blasse Schleimhäute dar, die bei insgesamt 10/26 (29%) BSH nachweisbar waren.

Pappige Schleimhäute fanden sich bei 15% (4/26) und gerötete Schleimhäute bei 8% (2/26) der Hunde. Jeweils ein Berner Sennenhund wurde mit ikterischen (4%) und mit blaß-zyanotischen (4%) Schleimhäuten vorgestellt. Bei sechs Hunden (23%) waren die Schleimhäute unverändert.

Kein Vermerk zu den Schleimhäuten fand sich bei zwei Tieren.

#### **Lymphknoten:**

Eine Lymphknotenvergrößerung konnte bei 12/26 (46%) Tieren diagnostiziert werden. 11 Hunde (42%) zeigten Lymphknoten von physiologischer Größe. Bei drei Berner Sennenhunden (12%) lag kein gesonderter Vermerk zur Lymphknotengröße vor (Abb. 9).

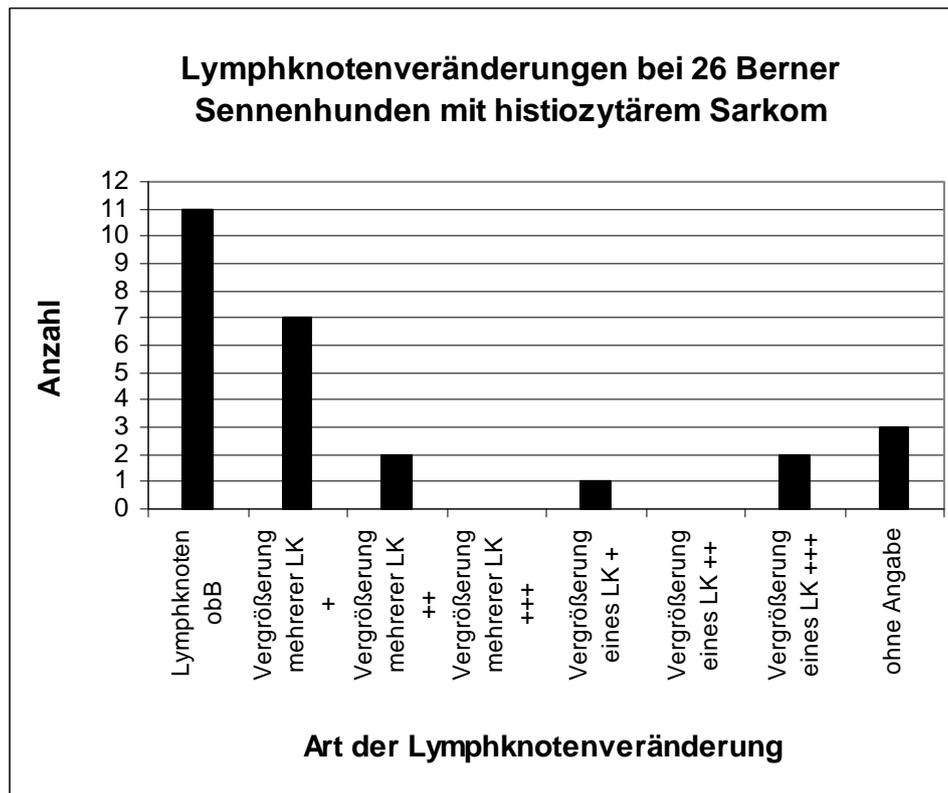


Abb 9: Art der Lymphknotenveränderung bei der klinischen Untersuchung von 26 BSH mit histiozytärem Sarkom.

LK = Lymphknoten, + = geringgradige Vergrößerung, ++ = mittelgradige Vergrößerung, +++ = hochgradige Vergrößerung

### Herz-Kreislauf-Apparat:

Bei 12/26 (46%) der vorgestellten BSH war der Herz-Kreislauf-Apparat unauffällig.

Die häufigste Veränderung im Bereich des Herz-Kreislauf-Apparates war eine Tachykardie mit mehr als 140 Schlägen/Minute bei 31% (8/26) der Hunde.

Bei fünf Hunden (19%) fanden sich bei der Auskultation des Herzens mäßige, leise Herztöne, bei drei anderen Hunden (12%) waren die Herztöne pochend. Weitere zwei Berner Sennenhunde (8%) fielen durch ein systolisches Herzgeräusch Grad III über der Mitralklappe auf.

Veränderungen der Pulsqualität konnten bei neun Hunden (35%) beobachtet werden. Bei fünf Hunden (19%) war der Puls klein und kräftig, wohingegen der Puls bei den vier anderen Tieren (15%) schwach war.

**Atmungsapparat:**

Bei der klinischen Untersuchung des Atmungsapparates zeigte sich bei 5/26 (19%) der Berner Sennenhunde eine vertiefte Atmung oder eine Dyspnoe. Ein anderer Hund (4%) fiel durch eine oberflächliche Atmung auf. Bei 4/26 (15%) weiteren Hunden fand sich spontaner oder leicht auslösbarer Husten.

Der häufigste abnormale Auskultationsbefund war bei 11/26 (42%) Berner Sennenhunden eine bronchovesikulär verschärfte Atmung und bei einem weiteren Hund (4%) ein bronchiales Atemgeräusch.

Weitere Auffälligkeiten im Bereich des Atmungsapparates waren bei einem Hund (4%) ein beidseitiger seromuköser Nasenausfluß und bei einem anderen Hund eine symmetrische Zubildung im Bereich des kranialen Halses (vor allem lateral) in Kombination mit einer schmerzhaften Halsbeweglichkeit.

Bei zwei Hunden (8%) wurde der Atmungsapparat vom Untersucher als unauffällig beschrieben. Sieben Patienten zeigten während der gesamten Untersuchung ein starkes Hecheln (auch bei zugehaltenem Fang), weshalb bei diesen Hunden keine Beurteilung der Lungenauskultation vorgenommen werden konnte.

**Digestionsapparat:**

Die häufigste Veränderung im Bereich des Digestionsapparates war eine zumeist sehr große Zubildung im Bereich des Abdomens, die bei 7/26 (27%) Berner Sennenhunden palpiert werden konnte. Bei fünf Hunden (BSH 5, 9, 18, 19, 26) war keine Organzuordnung der Zubildung möglich, bei den anderen zwei Tieren (BSH 24 und 25) war eine Assoziation zur Milz auszumachen. Eine fragliche Zubildung konnte bei Berner Sennenhund 13 diagnostiziert werden.

Jeweils ein Berner Sennenhund (4%) zeigte eine Splenomegalie (BSH 16) bzw. eine Hepato- und Splenomegalie (BSH 8) ohne palpable Zubildung.

Klinische Hinweise auf einen Aszites (fluktuierendes, birnenförmiges Abdomen) waren bei 2/26 (8%) Hunden feststellbar (BSH 2 und 25).

Die Beurteilung des in Seitenlage befindlichen Hundes (BSH 20) war schwierig und ließ keine Aussage über mögliche Zubildungen im Abdomen zu.

Ein verspanntes oder schmerzhaftes Abdomen fiel bei 3/26 (12%) der Berner Sennenhunde auf.

Unspezifische klinische Symptome wie Zahnstein fanden sich bei 8/26 (31%) Berner Sennenhunden. Von diesen zeigten zusätzlich zwei Hunde einen eitrigen Foetor ex ore und ein Hund eine Gingivitis.

Bei sechs Hunden (23%) stellte sich die Untersuchung des Digestionsapparates unauffällig dar. Nähere Angaben zu den Befunden der klinischen Untersuchung des Digestionstraktes fehlen bei zwei Hunden.

#### **Harnapparat:**

Der Harnapparat war bei 18/26 (69%) Berner Sennenhunden unauffällig, bei fünf Hunden fehlten in der klinischen Untersuchung Angaben zum Harnapparat.

Eine mittelgradig bzw. hochgradig gefüllte Blase fand sich bei jeweils einem Hund.

Bei BSH 20 war wiederum eine detaillierte Beurteilung des Harnapparates auf Grund der Seitenlage schwer möglich.

#### **Geschlechtsapparat:**

13/26 (50%) der Berner Sennenhunde zeigten keine Auffälligkeiten des Geschlechtsapparates, acht Fälle waren ohne Angabe.

Die pathologischen Veränderungen bei den übrigen fünf Hunden standen nicht im Zusammenhang mit der Tumorerkrankung:

#### **Weiterführende Befunde:**

Zusätzliche pathologische Veränderungen, die durch den Tumor ausgelöst waren, wurden bei 2/26 (8%) Hunden festgestellt:

Berner Sennenhund 1 fiel zum Zeitpunkt der Vorstellung durch verzögerte Korrekturreaktionen und eine verzögerte Propriozeption hinten rechts auf. Außerdem war die Wirbelsäulenpalpation am Übergang BWS/LWS ebenso wie am rechten Ellbogengelenk bei Streckung schmerzhaft. Bei der Sektion fanden sich bei diesem Hund Tumormetastasen am 1. und 6. Wirbelkörper, die zu einer Einengung des Rückenmarks führten.

Eine zirkuläre und derbe Verdickung des linken Knies (proximal und distal) und eine daraus resultierende Lahmheit Grad 2-3 konnte bei BSH 22 diagnostiziert werden.

Eine Zusammenfassung der klinischen Veränderungen findet sich in Abb. 10

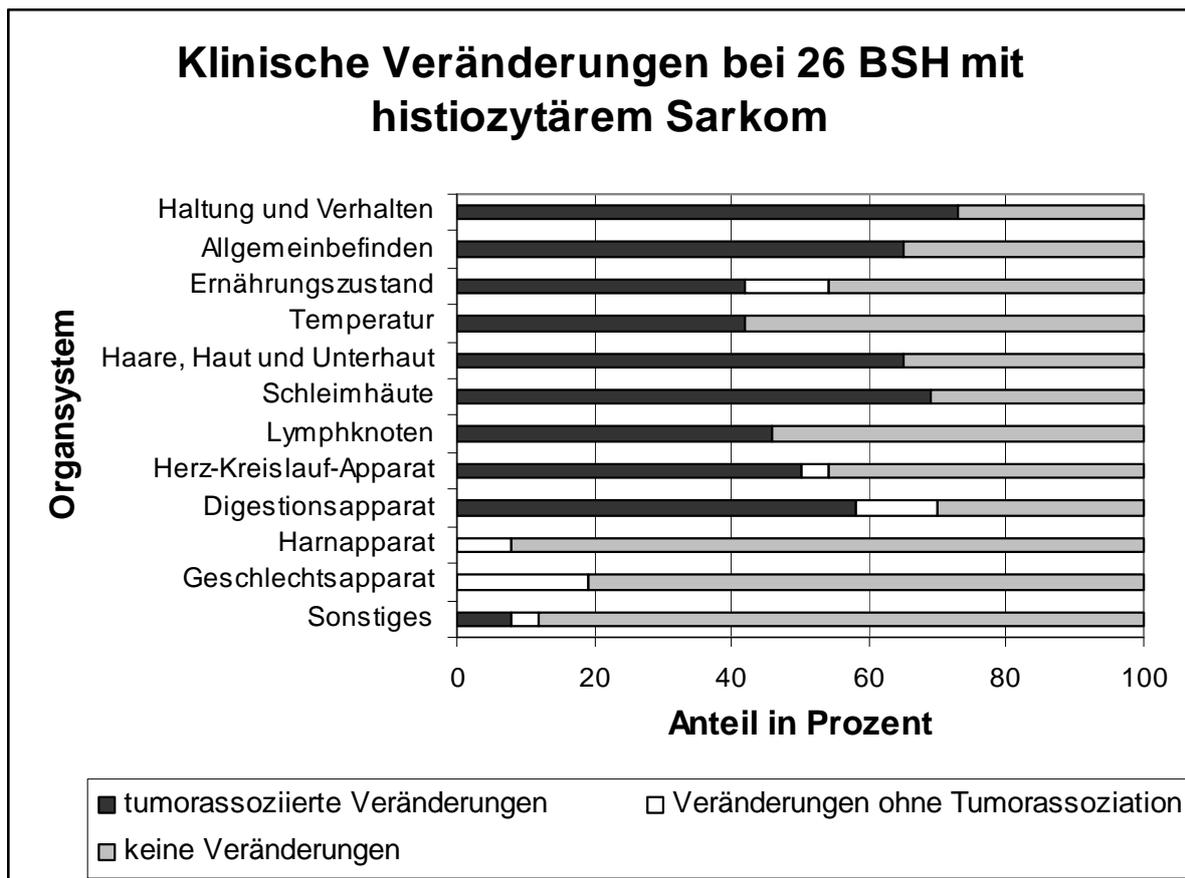


Abb.10: Zusammenfassende Darstellung der klinischen Untersuchung bei 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom. Als tumorassoziierte Veränderungen wurden alle Befunde zusammengefasst, bei denen die Veränderung nachweislich oder sehr wahrscheinlich durch den Tumor ausgelöst worden war. Unter die Veränderungen ohne tumorassoziation fallen z.B. Diagnosen wie Zahnstein oder ein Herzgeräusch über der Mitralklappe.

## 5.2.4 Weiterführende Untersuchungen

### 5.2.4.1 Blutuntersuchungen

Von allen 26 Berner Sennenhunden wurden sowohl hämatologische als auch eine blutchemische Untersuchungen angefertigt. Die im Detail aufgeführten Daten können dem Anhang 3 und 4 entnommen werden.

#### 5.2.4.1.1 Hämatologie

Als häufigste hämatologische Veränderungen fanden sich bei 16 (62%) Hunden eine Anämie, bei 14 Hunden (54%) eine Leukozytose und bei 11 Tieren (42%) eine Thrombozytopenie.

#### **Erythrozyten:**

Die schwere der Anämie bei den 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom ist in Tabelle 7 aufgeführt.

Tab. 7: Einteilung der Anämie nach dem Hämatokrit bei 26 BSH mit histiozytärem Sarkom (nach Mischke 2003).

Schwere der Anämie	Hämatokrit %	Gesamtzahl der Hunde	Prozentualer Anteil der Hunde
physiologisch	> 37%	10/26	38%
geringgradig	30-37 %	7/26	27%
mittelgradig	25-30%	3/26	12%
hochgradig	< 25 %	6/26	23%

Bei 13 Hunden mit Anämie wurde die Retikulozytenzahl bestimmt, die bei 11/13 Hunden (85%) zumeist sehr stark erhöht ( $93,9 \times 10^9/l$  –  $486,5 \times 10^9/l$ ) war, was somit für das Vorliegen einer regenerativen Anämie sprach. Lediglich 2 der Berner Sennenhunde (15%) zeigten mit einer Retikulozytenanzahl von  $14,9$  und  $49,3 \times 10^9/l$  keine Regeneration.

**Thrombozyten:**

Die Thrombozytenzahl war bei 11 (43%) Hunden erniedrigt, wobei sechs dieser Hunde (26%) zusätzlich eine Anämie zeigten. Eine Thrombozytose fiel bei drei Berner Sennenhunden (12%) auf (Tab. 8).

Tab. 8: Thrombozytenveränderungen bei 26 BSH mit histiozytärem Sarkom.

Thrombozytenzahl	Interpretation	Gesamtzahl der Hunde	Prozentualer Anteil der Hunde
150-500 G/l	physiologisch	12/26	46%
100-150 G/l	ggr. Thrombopenie	1/12	4%
50-100 G/l	mgr. Thrombopenie	7/12	26%
< 50 G/l	hgr. Thrombopenie	3/12	12%
> 500 G/l	Thrombozytose	3/12	12%

Ggr.: geringgradig; mgr.: mittelgradig; hgr.: hochgradig

**Leukozyten:**

Eine Leukozytose konnte bei 14 Berner Sennenhunden (54%) beobachtet werden, die bei allen Hunden dominierend durch eine Neutrophilie bedingt war. 11 der 14 Hunde (79%) mit Neutrophilie fielen zusätzlich durch eine Monozytose (siehe auch Anhang 3 und 4) auf.

Die Neutrophilie war bei 10 Hunden (38%) mild ( $< 25 \times 10^9/l$ ), bei einem Patienten (4%) mittelgradig ( $25 - 35 \times 10^9/l$ ) und bei drei Tieren (12%) mit einem Wert über  $35 \times 10^9/l$  hochgradig ausgeprägt. Eine geringgradige Neutropenie fand sich bei einem weiteren Berner Sennenhund.

**Differentialblutbild:**

Die Veränderungen des Differentialblutbildes bei den 26 untersuchten Berner Sennenhunden sind in Tabelle 9 dargestellt.

Auffällig war neben einer bei 62% der Hunde (14/26) bestehenden Neutrophilie, vor allem die bei 14 Tieren festzustellende Monozytose.

Tab. 9: Veränderungen des Differentialblutbildes von 26 BSH mit histiozytärem Sarkom.

Leukozyten	Referenz	Unauffällig	Erhöhung	Erniedrigung
Neutr. Granulozyten	3-11,5 x 10 <sup>9</sup> /l	10/26 (38%)	14/26 (62%)	0/26 (0%)
Lymphozyten	1-3,6 x 10 <sup>9</sup> /l	17/26 (65%)	2/26 (8%)	7/26 (27%)
Monozyten	0,04-1,35 x 10 <sup>9</sup> /l	14/26 (54%)	12/26 (46%)	0/26 (0%)
Eos. Granulozyten	0,0-1,25 x 10 <sup>9</sup> /l	21/21 (100%)	0/21 (0%)	0/21 (0%)

Neutr. Granulozyten = neutrophile Granulozyten; Eos. Granulozyten = eosinophile Granulozyten

#### 5.2.4.1.2 Klinische Chemie

Die häufigsten im Rahmen dieser Studie festgestellten blutchemischen Veränderungen waren eine Hypoalbuminämie bei 19 (73%), eine Erhöhung der Alkalischen Phosphatase bei 18 (69%) und eine Hyperbilirubinämie bei 13 (50%) der 26 Hunde (Anhang 4).

Im Folgenden soll auf die einzelnen Organparameter eingegangen werden.

#### **Nierenparameter (Harnstoff, Kreatinin, Phosphat):**

Als Azotämie wird die Erhöhung von Harnstoff und/oder Kreatinin im Serum bezeichnet. 13 (50%) der Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom zeigten zum Zeitpunkt der Vorstellung eine zumeist geringgradige Azotämie. Bei fünf der Hunde (19%) lag eine gleichzeitige Erhöhung von Harnstoff und Kreatinin vor. Die anderen acht Tiere fielen durch eine isolierte Harnstoff- (7/26) bzw. eine isolierte Kreatininerhöhung (1/26) auf.

Eine Hyperphosphatämie konnte bei 8/23 Berner Sennenhunden (35%) diagnostiziert werden, wobei nur vier dieser Hunde gleichzeitig eine Azotämie zeigten.

#### **Elektrolyte (Natrium, Chlorid, Kalium, Kalzium):**

Die Veränderungen von Natrium, Chlorid und Kalium waren bei allen Hunden geringgradig und ohne klinische Bedeutung.

Vier von 25 Berner Sennenhunden (16%), bei denen eine Messung des ionisierten Kalziums erfolgte, fielen durch eine geringgradige Hyperkalzämie und sechs Hunde

(24%) durch eine geringgradige Hypokalzämie auf. Bei den restlichen 15 Berner Sennenhunden lag das ionisierte Kalzium im Referenzbereich.

Eine Auflistung der verschiedenen Elektrolytveränderungen findet sich im Detail in Tabelle 10. Im Untersuchungszeitraum änderten sich die Geräte zur Messung des ionisierten Kalziums und mit den Geräten der Referenzbereich des Kalziums, weshalb in der Tabelle das Kalzium für die beiden Messmethoden gesondert aufgeführt ist.

Tab. 10: Elektrolytveränderungen bei 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.

Elektrolyte	Referenz	Unauffällig	Erhöhung	Erniedrigung
Natrium	141-152 mmol/l	19/26 (73%)	4/26 (15%)	3/26 (12%)
Chlorid	100-120 mmol/l	23/26 (88%)	3/26 (12%)	0/26 (0%)
Kalium	3,6-5,3 mmol/l	25/26 (96%)	0/26 (0%)	1/26 (4%)
Kalzium (Ca <sup>++</sup> ) AVL	1,32-1,51 mmol/l	11/19 (58%)	2/19 (10%)	6/19 (32%)
Kalzium (Ca <sup>++</sup> ) Nova	1,16-1,31 mmol/l	4/6 (67%)	2/6 (33%)	0/6 (0%)
Kalzium gesamt		15/25 (60%)	4/25 (16%)	6/25 (24%)

### Protein:

Die häufigste Veränderung im Bereich des Proteinstoffwechsels war, wie bereits oben erwähnt, eine Hypoalbuminämie bei 19 Tieren (73%). Der errechnete mittlere Wert des Albumins der 26 Berner Sennenhunde lag mit 24,0 g/l ± 3,7 (17,7 g/l - 31,2 g/l) unterhalb des Referenzwertes (26,0 g/l - 33,0 g/l). Eine Hyperalbuminämie konnte bei keinem Berner Sennenhund beobachtet werden.

Bei jeweils sieben (27%) Hunden fanden sich eine Hypoglobulinämie und eine Hyperglobulinämie. Der mittlere Wert des Globulins war mit 36,0 g/l ± 10,8 (16,1 g/l – 54,0 g/l) innerhalb des Referenzbereiches (27,0 g/l - 44,0 g/l) des Globulins.

Eine Erniedrigung des Totalproteins fiel bei neun Hunden (35%) auf und wurde in sieben Fällen durch eine Kombination aus Hypoalbuminämie und Hypoglobulinämie, bzw. bei zwei Hunden durch eine alleinige Hypoalbuminämie verursacht. Wie beim Globulin lag der mittlere Wert des Totalproteins mit 59,2 g/l ± 12,6 g/l (54,0 g/l – 71,0 g/l) innerhalb des Referenzbereiches.

**Fettstoffwechsel:**

Eine Hypocholesterinämie und eine Hypercholesterinämie konnte jeweils bei fünf (19%) BSH beobachtet werden. Alle fünf Hunde mit Hypocholesterinämie zeigten gleichzeitig eine Hypoalbuminämie.

Die Triglyceridplasmakonzentrationen lagen bei allen Hunden innerhalb des Referenzbereiches.

**Leber:**

Im Rahmen der Untersuchungen wurden neben dem Harnstoff und dem Albumin (siehe oben) sowie dem Bilirubin als Leberfunktionsparameter die Leberenzyme AP (Alkalische Phosphatase), ALT (Alanin-Amino-Transferase) und die GLDH (Glutamat- Dehydrogenase) bestimmt.

23 Hunde (88%) fielen durch eine Erhöhung mindestens eines Leberenzymes oder des Bilirubins auf. Die häufigste Veränderung war dabei eine Erhöhung der Alkalischen Phosphatase bei 18 Hunden (69%), gefolgt von einer Erhöhung des Bilirubins bei 13 Tieren (50%). Die ALT zeigte bei 11 Hunden (42%) und die GLDH bei acht Berner Sennenhunden (31%) einen Anstieg über den Referenzbereich. Sechs der 18 Hunde mit einer AP-Erhöpfung fielen durch einen isolierten AP-Anstieg auf

Betrachtet man die Mittelwerte bzw. Medianwerte der verschiedenen Parameter, fällt ein deutlich über dem Referenzbereich ( $< 97 \text{ mmol/l}$ ) liegender Mittelwert der Alkalischen Phosphatase mit  $289,9 \text{ mmol/l} \pm 313,6$  ( $27 \text{ mmol/l} - 1334 \text{ mmol/l}$ ) und ein mit  $3,5 \text{ } \mu\text{mol/l}$  ( $1 \text{ } \mu\text{mol/l} - 73,97 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) geringgradig über dem Referenzbereich liegender Medianwert des Bilirubins ( $< 3,4 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ) auf. Der Medianwert der ALT und der Mittelwert der GLDH lagen innerhalb der Referenzwerte des jeweiligen Parameters.

Die Art der Leberwertveränderungen ist in Abbildung 11 dargestellt.

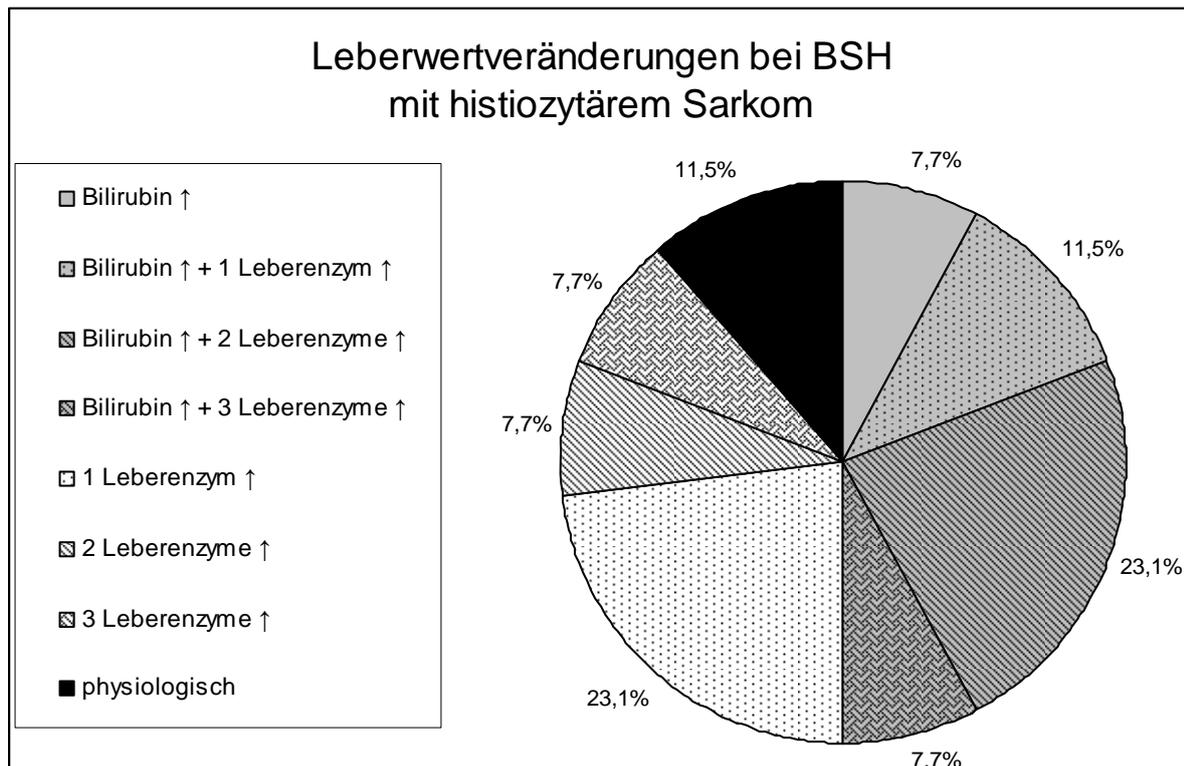


Abb. 11: Art der Leberwertveränderung bei 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom. Von der graphischen Darstellung ausgenommen sind das Albumin und der Harnstoff (siehe oben).

### Glukose:

Lediglich bei einem Hund (4%) fand sich eine klinisch relevante Hypoglykämie mit einem Glukosewert von 1,79 mmol/l (Referenz: 3,66-6,31 mmol/l). Dieser Hund war zum Zeitpunkt der Blutentnahme von hochgradig gestörtem Allgemeinbefinden und wurde in Seitenlage vorgestellt.

Die bei drei Hunden aufgefallene geringstgradige Hyperglykämie war ebenso wie die bei zwei weiteren Tieren beobachtete geringstgradige Hypoglykämie klinisch irrelevant und unspezifisch.

## 5.2.4.2 Bildgebung

### 5.2.4.2.1 Röntgen des Thorax

Röntgenbilder des Thorax wurden bei 23/26 (88%) Hunden angefertigt. Bei einem Hund lagen computertomographische (CT) Bilder des Thorax vor und bei zwei Hunden konnte wegen des schlechten Allgemeinbefindens der Hunde keine röntgenologische Untersuchung des Thorax durchgeführt werden.

Bei 18/24 (75%) Hunden zeigten sich Veränderungen im Thoraxröntgen bzw. in der CT-Untersuchung. Von diesen 18 Hunden fielen bei 12/24 (50%) Tieren eine oder mehrere Zubildungen (11 x Röntgen, 1 x CT) im Bereich der Lunge oder der thorakalen Lymphknoten auf (Tabelle 11 und 12). Zwei weitere Hunde (8%) hatten einen röntgenologisch nachweisbaren mittelgradigen bis hochgradigen Thoraxerguß. In einer darauffolgenden sonographischen Untersuchung des Thorax konnten bei beiden Hunden solide, große, inhomogene Zubildungen im Thorax nachgewiesen werden.

Die letzten vier (17%) Hunde zeigten eine interstitielle Lungenzeichnung. Bei einem dieser vier Hunde (BSH 24) wurde eine Sektion durchgeführt, bei der sich weder makroskopisch noch histologisch Hinweise auf eine Tumordinfiltration der Lunge zeigten.

Tab. 11: Röntgenologische Lungenveränderungen bei 24 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.

<b>Lungenveränderung</b>	<b>Anzahl an Hunden</b>	<b>prozentualer Anteil</b>
1 isolierte Zubildung	4/24	16,7%
mehrere Zubildungen	4/24	16,7%
multiple Rundherde	1/24	4,2%
Lymphknotenvergrößerung	3/24	12,5%
Thoraxerguß	2/24	8,3%
Interstitielle Zeichnung	4/24	16,7%
unauffällig	6/24	25%

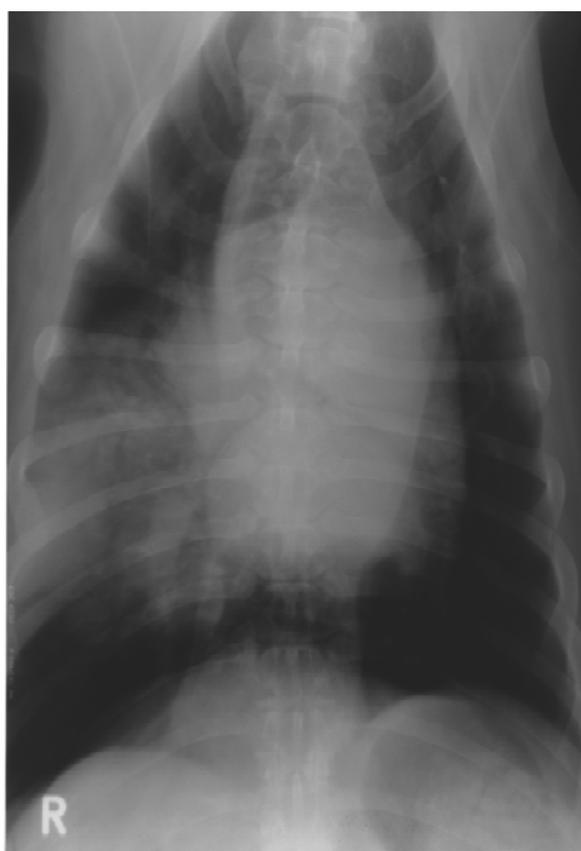
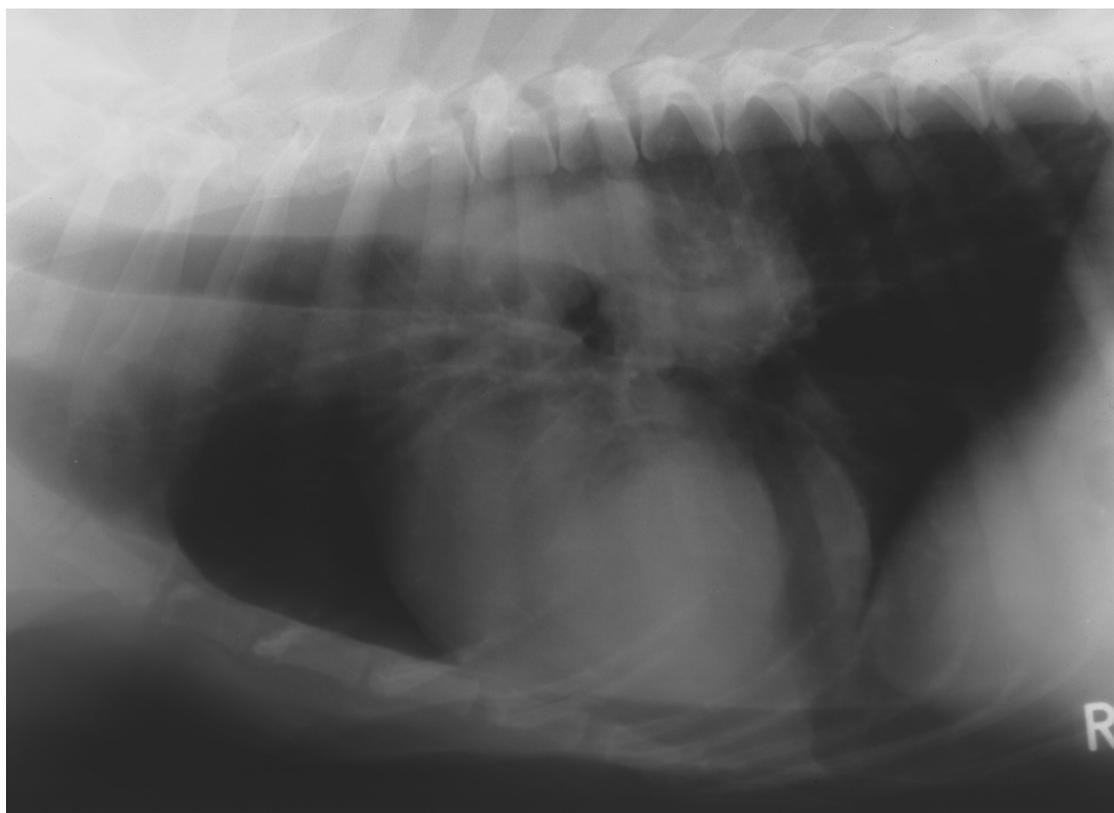


Bild 1: Beispiel einer im Röntgen des Thorax (oben: latero-lateraler; unten: dorso-ventraler Strahlengang) darstellbaren solitären Zubildung im rechten Mittellappen (BSH 13).

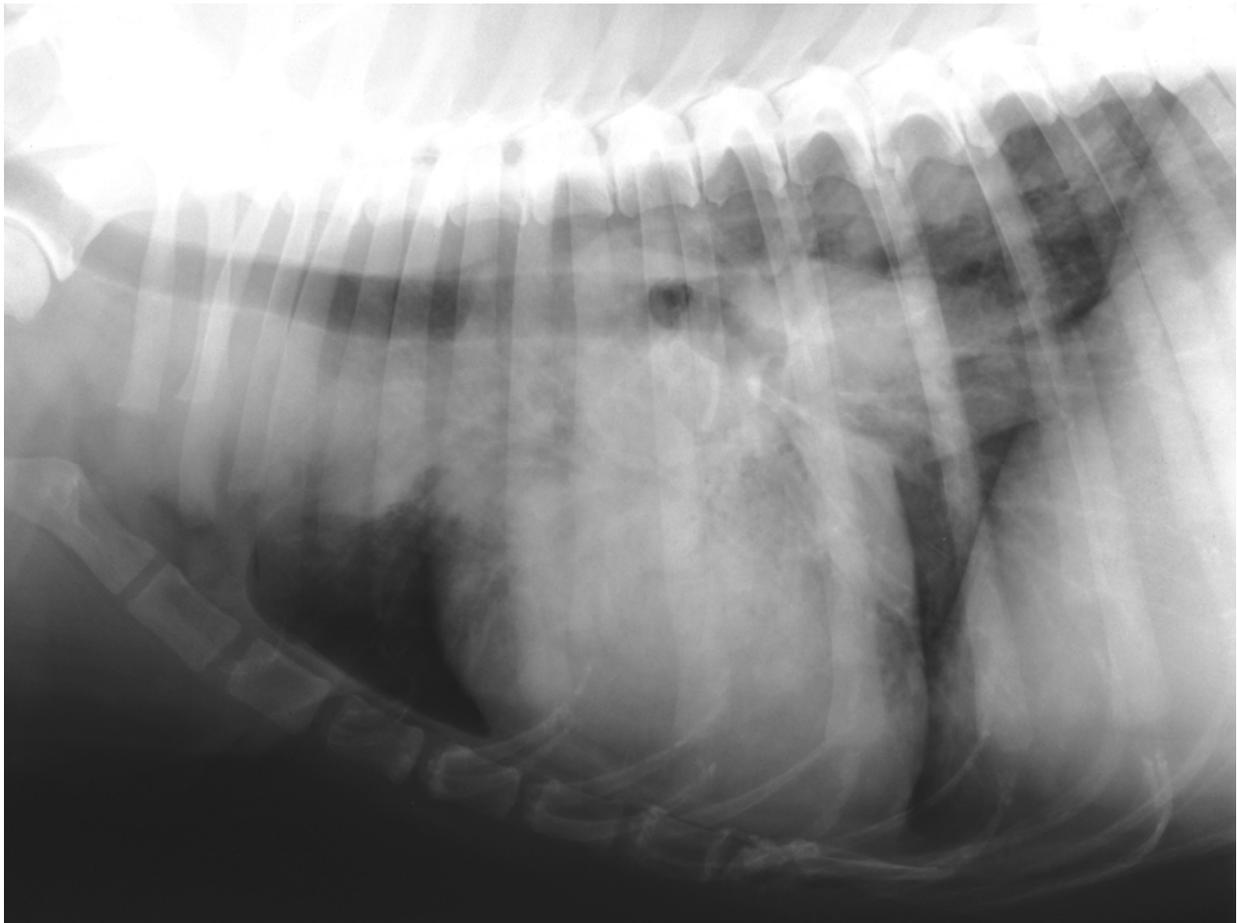


Bild 2: Thoraxröntgen (latero-lateraler Strahlengang) eines Berner Sennenhundes (BSH 1) mit mehreren Zubildungen im Thorax. Eine Zubildung findet sich im Hilusbereich und eine andere Zubildung im Bereich des Mediastinums.

Von den 12 Hunden mit Zubildungen im Thorax konnte bei vier Tieren (16,7%) eine isolierte große Zubildung in der Lunge ausgemacht werden (siehe Bild 1), die bei allen Hunden rechts (sowohl in Spitzen-, Mittellappen und Zwerchfelllappen) lokalisiert war und sich als weichteildichte Masse darstellte. Die kleinste dieser Zubildungen war 8 x 8 cm groß, die anderen Zubildungen waren gleich groß oder größer als der Herzschatten und füllten ganze Lungenlappen aus.

Bei vier weiteren Berner Sennenhunden (17%) fanden sich jeweils 2 große Rundherde in der Lunge und/oder im mediastinalen Bereich, die in verschiedenen Lungenlappen lagen und von 3 cm Größe bis zu Herzschattengröße reichten (siehe Bild 2). Ein Hund (4 %) fiel durch multiple 1-5 cm große Rundherde in der Lunge auf. Eine Vergrößerung der mediastinalen, sternalen und/oder hilären Lymphknoten ohne vorhandene Rundherde im Lungenparenchym konnte röntgenologisch bei drei weiteren Tieren (13%) festgestellt werden.

Tab. 12: Vergleich der Lungenveränderungen im Röntgen, der Zytologie und der Sektion.

<b>BSH</b>	<b>Thoraxröntgen</b>	<b>Art der Veränderung</b>	<b>Zytologie</b>	<b>Sektion: Makroskopie</b>
BSH 1	+	2 Zubildungen	+	+
BSH 2	+	Thoraxerguß	sonstiges	n.d.
BSH 3	+	1 Zubildung	+	n.d.
BSH 4	+	2 Zubildungen	+	n.d.
BSH 5	obB	-	n.d.	n.d.
BSH 6	+	2 Zubildungen	n.d.	n.d.
BSH 7	obB	-	n.d.	n.d.
BSH 8	n.d.	-	n.d.	obB
BSH 9	obB	-	n.d.	Emphysem/Ödem
BSH 10	n.d.	-	n.d.	obB
BSH 11	+	LK-Vergrößerung	sonstiges	Emphysem/Ödem
BSH 12	obB	-	n.d.	Lungenödem
BSH 13	+	1 Zubildung	+	+
BSH 14	+	1 Zubildung	+	n.d.
BSH 15	sonstiges	interst. Zeichnung	n.d.	n.d.
BSH 16	sonstiges	interst. Zeichnung	n.d.	n.d.
BSH 17	+	1 Zubildung	+	n.d.
BSH 18	+	multiple Herde	n.d.	n.d.
BSH 19	sonstiges	interst. Zeichnung	n.d.	n.d.
BSH 20	obB	-	n.d.	+
BSH 21	+	Erguß	n.d.	n.d.
BSH 22	obB	-	n.d.	n.d.
BSH 23	+	LK-Vergrößerung	n.d.	n.d.
BSH 24	sonstiges	interst. Zeichnung	n.d.	Emphysem/Ödem
BSH 25	+	2 Zubildungen	n.d.	+
BSH 26	+	LK-Vergrößerung	n.d.	LK-Vergrößerung

+: tumoröse Veränderung; n.d.: nicht durchgeführt; obB: ohne besonderen Befund; sonstiges: nicht tumorassoziierte Veränderung; LK: Lymphknoten

#### 5.2.4.2.2 Sonographie des Abdomens

Von den 19 Hunden, bei denen eine sonographische Untersuchung des Abdomens erfolgte (Tabelle 13), zeigten 11 Tiere tumorassoziierte Milzveränderungen (58%) und sechs Tiere tumorassoziierte Leberveränderungen (32%). Fünf dieser Hunde (26%) wiesen sonographisch Milz- und Leberveränderungen auf. Tumorbedingte Lymphknotenveränderungen fanden sich bei drei Hunden (16%).

##### **Art der Milzveränderungen:**

Die Milz war das sonographisch am häufigsten veränderte Organ (11/19 = 58%). Bei 7/19 (37%) Hunden war die Milz inhomogen oder fleckig-inhomogen verändert (BSH 5, 7, 9, 10, 12, 15, 17) und zeigte bei 3/19 (16%) Berner Sennenhunden (BSH 7, 15, 17) zusätzlich multiple reflexarme Areale, die eine Größe von 0,8 cm bis 6 cm erreichten. Bei 2/19 (11%) weiteren Hunden (BSH 9 und 10) fand sich zusätzlich zur Inhomogenität eine sehr große isolierte Zubildung in der Milz (5 cm bzw. ca. 15 cm groß). Die Milz eines weiteren Hundes (BSH 5) (5%) war inhomogen mit einer höckrigen Oberfläche.

Ein Hund (BSH 24) hatte sonographisch einen isolierten großen Milztumor (inhomogene Struktur mit aus der Milzstruktur herausragender Lobulierung) im kranialen Drittel der Milz, der restliche Bereich der Milz war strukturell unverändert.

Bei 3/19 (16%) Hunden (BSH 8, 18 und 23) fielen 2 oder mehr reflexarme Areale auf, die eine Größe von 0,3 bis 1,7 cm aufwiesen.

##### **Art der Leberveränderungen:**

Die Leber war das am zweithäufigsten veränderte Organ bei der Ultraschalluntersuchung des Bauchraumes. Sechs von 19 untersuchten Tieren (32%) fielen durch tumorassoziierte Leberveränderungen auf. Am häufigsten fanden sich dabei bei 4/6 Hunden (67%) mehrere reflexarme (BSH 9, 13, 15 und 18) bis 4,5 cm große Herde und bei einem Hund (1/6 = 17%) (BSH 12) mehrere reflexreiche Rundherde in der Leber. Bei Hund 9 und 15 war die Leber zusätzlich insgesamt inhomogen und bei Hund 15 außerdem deutlich vergrößert. BSH 12 zeigte neben den reflexreichen Rundherden zusätzlich eine reflexarme Leberstruktur.

Bei vier dieser fünf Hunde (BSH 9, 12, 13, 15) konnte das histiozytäre Sarkom in der Leber entweder mittels Sektion oder Zytologie bzw. durch beide Untersuchungen (BSH 9) bestätigt werden. BSH 18 zeigte zytologisch nur unspezifische

Tab. 13: Zusammenstellung der Ultraschallveränderungen des Abdomens bei 26 BSH

<b>BSH</b>	<b>Milz</b>	<b>Leber</b>	<b>Lymphknoten</b>	<b>Sonstiges</b>
BSH 1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 3	obB	sonstiges	obB	obB
BSH 4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 5	+	obB	obB	sonstiges
BSH 6	obB	obB	obB	sonstiges
BSH 7	+	obB	obB	obB
BSH 8	+	+	obB	sonstiges
BSH 9	+	+	obB	obB
BSH 10	+	obB	+	sonstiges
BSH 11	obB	obB	obB	obB
BSH 12	+	+	obB	sonstiges
BSH 13	obB	+	obB	sonstiges
BSH 14	obB	obB	obB	obB
BSH 15	+	+	obB	sonstiges
BSH 16	obB	obB	obB	obB
BSH 17	+	obB	obB	sonstiges
BSH 18	+	+	+	sonstiges
BSH 19	obB	obB	obB	sonstiges
BSH 20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 21	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 22	obB	obB	+	sonstiges
BSH 23	+	obB	obB	sonstiges
BSH 24	+	obB	obB	obB
BSH 25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 26	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

+: tumoröse Veränderung; n.d.: nicht durchgeführt; sonstiges: nicht tumorassoziierte Veränderung; obB: ohne besonderen Befund

Veränderungen, eine Sektion wurde nicht durchgeführt. Da sich die bei diesem Hund zusätzlich aufgefallenen sonographischen Lymphknotenveränderungen (siehe auch Tabelle 13) zytologisch als histiozytäres Sarkom herausstellten und die Veränderungen in der Leber die sonographisch typischen Kriterien eines histiozytären Sarkoms aufwiesen, sind die sonographischen Leberveränderung bei diesem Hund sehr wahrscheinlich tumorassoziiert.

Der letzte der sechs Hunde (17%) (BSH 8) mit tumorassoziierten Leberveränderungen zeigte eine mittelgradig bis hochgradig reflexreiche Leber. Eine bei diesem Hund durchgeführte Sektion erbrachte die Diagnose eines histiozytären Sarkoms in der Leber.

Zwei Hunde (11%) fielen durch eine Lebervergrößerung bei physiologischer Leberstruktur (BSH 3 und 21) auf. Bei BSH 21 erfolgte eine zytologische Untersuchung der Leber, bei der sich eine geringgradige Cholestase ohne Hinweis auf eine Tumordinfiltration fand. Bei BSH 3 wurde weder eine Sektion noch eine Leberzytologie durchgeführt, so dass die Ätiologie der Lebervergrößerung unklar bleibt.

Bei den restlichen 12/19 Hunden (63%) war die Leber sonographisch unverändert.

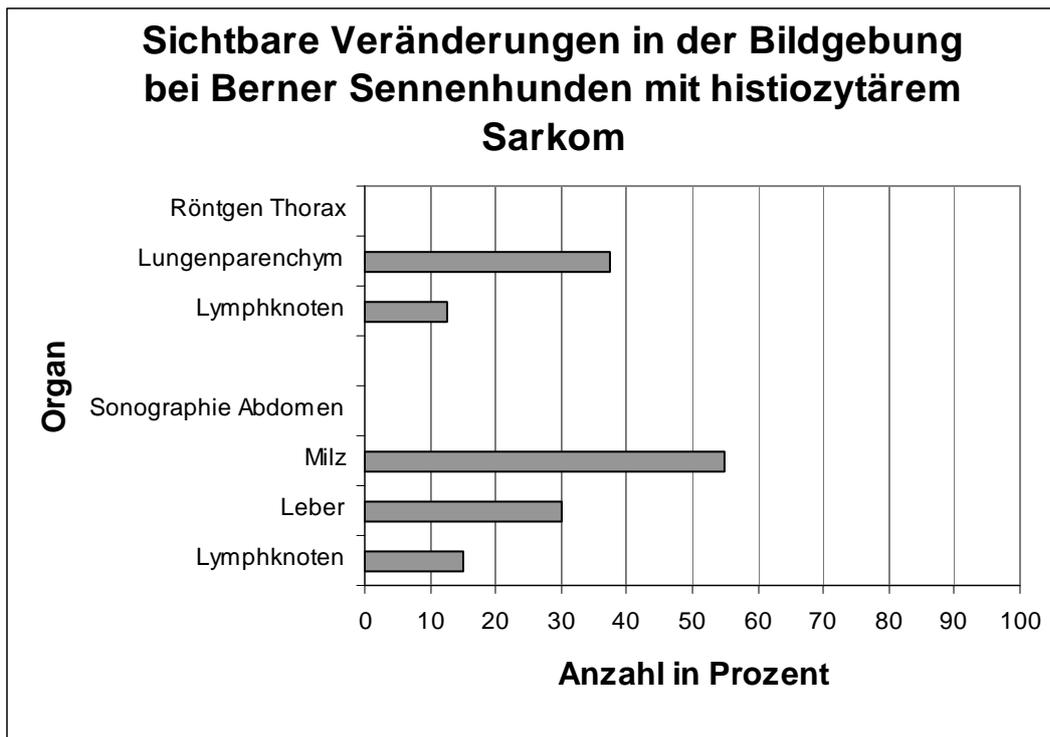


Abb. 12: Zusammenfassende Darstellung der in der Bildgebung (Thoraxröntgen, Sonographie Abdomen) am häufigsten betroffenen Organe bei 26 (Thoraxröntgen) bzw. 20 (Sonographie Abdomen) Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom.

### 5.2.4.3 Zytologie

Je nach Zugänglichkeit der verschiedenen unten aufgeführten Organe und/oder je nach Feststellung klinischer Veränderungen, erfolgte eine zytologische Probenentnahme (siehe Tabelle 14).

Die detaillierte Auswertung der zytologischen Präparate nach Organen und dem prozentualen Anteil an tumordiagnostischen Proben wird im Folgenden aufgeführt. Der Abbildung 13 kann eine Zusammenfassung der einzelnen Organbefunde entnommen werden.

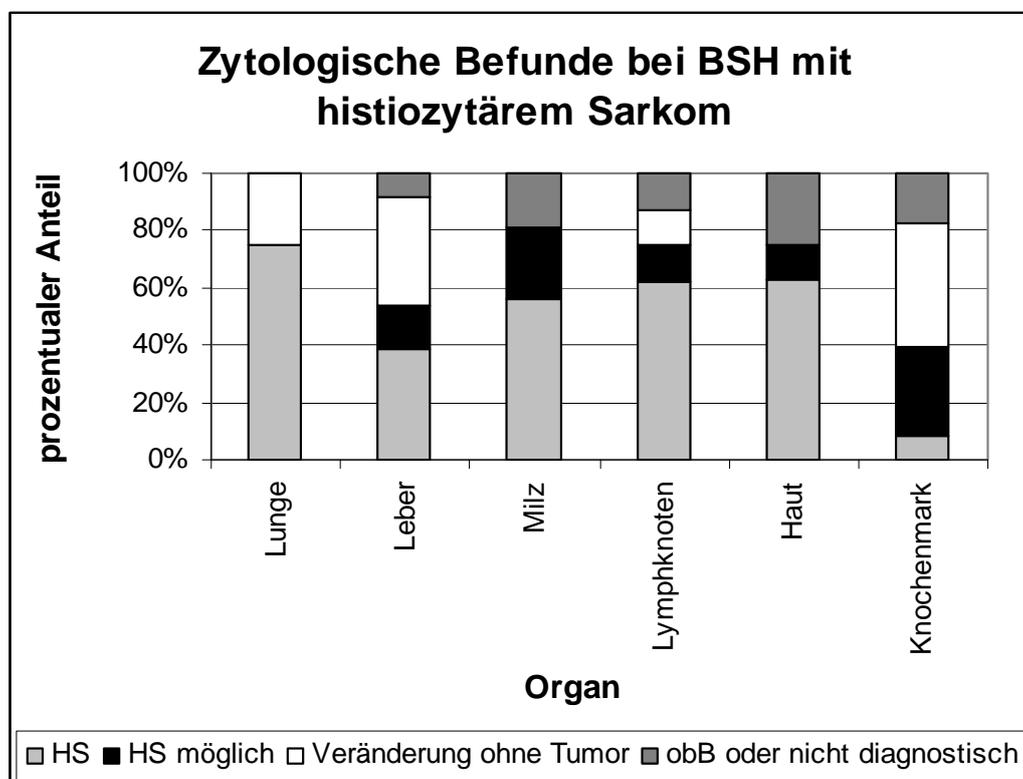


Abb.13: Zytologische Veränderungen in verschiedenen Organen bei BSH mit histiozytärem Sarkom. Die Anzahl an entnommenen Proben unterscheidet sich bei den verschiedenen Organen (siehe unten).

Tab. 14: Zytologisch nachweisbare Tumordinfiltration in verschiedenen Organen.

BSH	Lunge	Leber	Milz	LK	Haut	KM	Sonst.
BSH 1	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 2	sonstiges	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 3	+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	obB	n.d.
BSH 4	+	n.d.	n.d.	n.d.	sonstiges	obB	n.d.
BSH 5	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	obB	n.d.
BSH 6	n.d.	n.d.	+?	+	sonstiges	sonstiges	n.d.
BSH 7	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	+?	n.d.
BSH 8	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.	obB	n.d.
BSH 9	n.d.	+	+	n.d.	n.d.	sonstiges	n.d.
BSH 10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BSH 11	sonstiges	sonstiges	n.d.	sonstiges	n.d.	sonstiges	2 Zytos
BSH 12	n.d.	sonstiges	sonstiges	sonstiges	+	+?	2 Zytos
BSH 13	+	sonstiges	sonstiges	n.d.	sonstiges	sonstiges	n.d.
BSH 14	+	+	obB	n.d.	n.d.	+?	n.d.
BSH 15	n.d.	+	sonstiges	n.d.	n.d.	+?	n.d.
BSH 16	n.d.	sonstiges	sonstiges	sonstiges	n.d.	sonstiges	BAL
BSH 17	+	n.d.	+	n.d.	n.d.	+?	Punktat
BSH 18	n.d.	+?	+	+	+	sonstiges	Abdomen
BSH 19	n.d.	sonstiges	sonstiges	+	+	sonstiges	n.d.
BSH 20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	sonstiges	n.d.
BSH 21	n.d.	sonstiges	n.d.	n.d.	n.d.	+	n.d.
BSH 22	n.d.	sonstiges	sonstiges	+	+	sonstiges	n.d.
BSH 23	n.d.	n.d.	n.d.	+?	n.d.	+	n.d.
BSH 24	n.d.	+	+?	n.d.	n.d.	+?	n.d.
BSH 25	n.d.	+	+	n.d.	+	sonstiges	n.d.
BSH 26	n.d.	n.d.	+	n.d.	n.d.	+?	n.d.

+: histiozytäres Sarkom; +?: histiozytäre Zellen ohne eindeutige Diagnose; obB: ohne besonderen Befund; sonstiges: zytologische Veränderungen ohne Hinweis auf ein histiozytäres Sarkom; n.d.: nicht durchgeführt; BAL: bronchoalveoläre Lavage; Zytos: Zytologische Präparate angefertigt

#### 5.2.4.3.1 Lunge

Bei acht Hunden wurden Zubildungen im Bereich des Thorax (Tabelle 14) punktiert, sechs der acht Hunde (75%) zeigten eine Infiltration mit inaktiven, atypischen histiozytären Zellen in Kombination mit histiozytären Riesenzellen, so dass bei diesen Hunden ein histiozytäres Sarkom diagnostiziert werden konnte. Lediglich bei einem dieser 6 Hunde (BSH 3) fanden sich zusätzlich zwischen den atypischen histiozytären Zellen einige bis zahlreiche Makrophagen, die jedoch vor allem eine Phagozytose von Detritus zeigten (Tabelle 21).

Eine sterile pyogranulomatöse Entzündung konnte bei BSH 2 diagnostiziert werden, wohingegen bei BSH 11 eine purulente bakteriell bedingte Entzündung vorlag.

#### 5.2.4.3.2 Leber

Eine zytologische Probenentnahme aus der Leber erfolgte unter sonographischer Kontrolle bei 13 Hunden (Tabelle 14). In 5/13 Fällen (38%) fand sich in der Leberzytologie eine Infiltration mit histiozytären Zellen, zum Teil in Kombination mit anderen zytologischen Hepatozytenveränderungen, die die Diagnosestellung histiozytäres Sarkom ermöglichten. Die Morphologie der histiozytären Zellen variierte von Fall zu Fall (Tabelle 21). Bei 3 der 6 Hunde (9, 15 und 25) fanden sich zahlreiche inaktive, atypische histiozytäre Tumorzellen mit zum Teil histiozytären Riesenzellen (Gruppe 1). Berner Sennenhund 24 zeigte zahlreiche gut differenzierte Makrophagen mit einer ausgeprägten Erythrophagie und Zytophagie (siehe auch Bild 4) in Kombination mit einigen atypischen großen histiozytären Zellen und wenigen Riesenzellen, so dass hier ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom möglich wäre (Gruppe 2). Bei BSH 14 fanden sich dominierend kleinere inaktive histiozytäre Zellen, die vereinzelt eine Erythrophagie zeigten (Gruppe 3).

Zwar fanden sich auch bei BSH 18 tumorverdächtige histiozytäre Zellen, deren Anzahl jedoch so gering war, dass keine sichere Diagnosestellung erfolgen konnte. Bei Berner Sennenhund 12 war die Leber hochgradig mit lymphatischen Blasten infiltriert, so dass zytologisch der Verdacht auf ein Lymphom bestand. Zusätzlich fanden sich in der Leber dieses Hundes histiozytäre Zellen mit Erythrophagie, die morphologisch mit Makrophagen übereinstimmten. Bei diesem Hund erfolgte eine Sektion, in welcher histopathologisch ein histiozytäres Sarkom in der Leber ohne Hinweise auf ein Lymphom nachgewiesen wurde.

Die anderen 5/13 Hunde (38%) zeigten nicht-tumorassoziierte, unspezifische Veränderungen: Bei vier Hunden fand sich eine Cholestase, die bei drei Hunden intrazytoplasmatisch und bei einem Hund intrazytoplasmatisch und intrakanalikulär war. Eine leichte hydropische Degeneration konnte bei zwei der Tiere nachgewiesen werden. Hinweise auf eine zelluläre Nekrose und auf eine geringgradige hepatische Lipidose fanden sich bei zwei weiteren Hunden.

Nicht auszuwerten waren die zytologischen Präparate des letzten Berner Sennenhundes, da hier kein Lebergewebe, sondern nur Fettgewebe aspiriert worden war.

Korreliert man die sonographischen Leberveränderungen mit den Veränderungen in der Zytologie kommt man zu folgendem Ergebnis:

Nur zwei der sechs Hunde (33%) mit zytologisch nachweisbarer Tumordinfiltration zeigten die typischen sonographischen Hinweise auf ein zugrunde liegendes histiozytäres Sarkom. Im Gegensatz dazu konnte bei zwei anderen Berner Sennenhunden mit sonographischen Leberveränderungen in der folgenden Zytologie kein Hinweis auf eine Tumorzellinfiltration nachgewiesen werden.

#### 5.2.4.3.3 Milz

Eine Milzaspiration wurde bei 16 der 26 Berner Sennenhunde durchgeführt. Wie in der Tabelle 14 dargestellt, fanden sich in den Präparaten von 9/16 Berner Sennenhunden (56%) atypische histiozytäre Zellen. Bei 4 dieser Hunde (BSH 7, 17, 18, 25) stellten sich die vorhandenen histiozytären Zellen inaktiv und hochgradig atypisch dar (vermutlich histiozytäres Sarkom, Gruppe 1). Zwei Hunde (BSH 5 und 6) zeigten in der Milz dominierend histiozytäre Zellen mit Phagozytose von Hämosiderin (BSH 5) bzw. einer ausgeprägten Erythrophagie und Zytophagie (BSH 6). Bei beiden Hunden erinnerte die Morphologie der Zellen an Makrophagen (niedriges Kern-Zytoplasma-Verhältnis, keine ausgeprägten Nukleoli); da aber bei beiden Hunden ein großer Teil der Zellen nicht intakt war (zahlreiche freie Zellkerne), kann keine sichere Zuordnung der Zellen vorgenommen werden. In den Milzaspiraten der letzten drei Hunde fanden sich entweder kleine weitgehend gut differenzierte histiozytäre Zellen mit Phagozytose von Hämosiderin (BSH 24), oder es fand sich eine gemischte Population aus hochgradig inaktiven atypischen Zellen mit einigen Makrophagen, die eine Erythrophagie zeigten und Hämosiderin enthielten (BSH 9 und 26) (Gruppe 3).

Zusätzliche Veränderungen zur Tumorzellinfiltration (extramedulläre Hämatopoese, extramedulläre Megakaryopoese, plasmazelluläre Hyperplasie und/oder Nekrose) zeigten sich bei 4/16 (25%) der Hunde.

Eine sonographische Untersuchung der Milz war bei sieben der oben aufgeführten neun Hunde erfolgt, von denen sechs Tiere die ein für ein histiozytäres Sarkom typischen sonographischen Milzveränderungen zeigten. Nur bei einem Hund stellte sich die Milz sonographisch unauffällig dar. Bei den zwei letzten Berner Sennenhunden war die zytologische Probenentnahme aus der Milz post mortem ohne sonographische Befunderhebung durchgeführt worden.

Die zytologischen Befunde der anderen 7/16 Hunde (44%) waren ohne Hinweise auf ein histiozytäres Sarkom. Es fanden sich bei 4/16 (25%) Hunden sonstige Veränderungen wie eine plasmazelluläre Hyperplasie, eine extramedulläre Hämatopoese, sowie eine Milzstromahyperplasie und eine herdförmige granulomatöse Entzündung. Bei einem dieser Hunde konnten trotz fehlender zytologischer Tumorzellinfiltrate typische sonographische Milzveränderungen beschrieben werden.

Die Proben der weiteren drei Tiere (19%) waren nicht diagnostisch (Aspiration von Blut).

#### 5.2.4.3.4 Lymphknoten

Bei acht Hunden mit klinisch vergrößerten Lymphknoten wurden zytologische Präparate der Lymphknoten angefertigt, die bei fünf Hunden (62,5%) diagnostisch für ein histiozytäres Sarkom waren.

Eine nähere Klassifizierung der im Lymphknoten vorhandenen histiozytären Zellen bei BSH 23 (12,5%) war auf Grund eines sehr geringen Zellgehaltes und einer schlechten Präparatequalität nicht möglich. Bei BSH 11 fand sich eine Fettaspiration, während bei BSH 16 eine herdförmige granulomatöse Entzündung diagnostiziert wurde.

#### 5.2.4.3.5 Haut

Eine zytologische Untersuchung von vorhandenen Hauttumoren erfolgte bei acht Hunden. Die Diagnose eines histiozytären Sarkoms konnte dabei bei 5/8 Berner Sennenhunden gestellt werden (62,5%). Bei einem weiteren Hund wurde anhand der Zellmorphologie zytologisch eine pyogranulomatöse Entzündung diagnostiziert, für

die differentialdiagnostisch ein histiozytärer Tumor mit ausgeprägter Entzündung und Einblutung in Frage kam.

Auf den Präparaten der letzten beiden Hunde konnte lediglich eine Aspiration von Fett und Blut nachgewiesen werden.

#### 5.2.4.3.6 Knochenmark

Auf die detaillierte Auflistung der zytologischen Untersuchungen des Knochenmarks wird im Rahmen der Myelogrammauswertung eingegangen (siehe dort).

#### 5.2.4.3.7 Sonstiges

Bei 5/26 Hunden (19%) wurden über die oben erwähnten Organe hinaus zytologische Untersuchungen angefertigt.

Die sonographischen Veränderungen im Abdomen bei BSH 18 (multiple, schlecht abgrenzbare, reflexarme Bereiche paramedian der Blase) wurden punktiert und zeigten eine hochgradige Infiltration mit malignen histiozytären Zellen, so dass hier die Diagnose eines disseminierten histiozytären Sarkoms gestellt werden konnte. Bei BSH 17 wurde eine zytologische Untersuchung aus dem vorhandenen Aszites eingeleitet, in dem sich neben einer Aspiration von Blut geringe Mengen an histiozytären Zellen fanden. In der von BSH 16 eingeleiteten bronchoalveolären Lavage (BAL), konnte neben einer Becherzellhyperplasie eine geringgradige pyogranulomatöse Entzündung mit vereinzelt atypischen histiozytären Rundzellen nachgewiesen werden, so dass zytologisch der Verdacht auf eine histiozytäre oder epitheliale Neoplasie bestand.

Bei BSH 11 und 12 wurden ca. 1 Monat (BSH 12) bzw. 1,5 Monate (BSH 11) nach der ersten zytologischen Probenentnahme zytologische Folgeuntersuchungen durchgeführt. So wurden bei BSH 11 zytologische Probenentnahmen aus Lymphknoten, Leber und Knochenmark angefertigt. In allen Organen fanden sich histiozytäre Zellen, allerdings zeigten sich die Zellen in der Leber nekrotisch, und der Lymphknoten wies Quetschartefakte auf, so dass in diesen beiden Organen keine sichere Diagnosestellung erfolgen konnte. Im Knochenmark zeigte sich eine geringgradige Infiltration mit malignen histiozytären Zellen.

Bei BSH 12 wurde anhand einer Blut- und Knochenmarkuntersuchung der Lymphomverdacht (Grad V) erneut gestellt. In der weiterhin durchgeführten Lymphknotenzytologie fand sich jedoch kein Hinweis auf ein Lymphom, sondern

lediglich eine hochgradige plasmazelluläre Hyperplasie und eine hochgradige purulente Lymphadenitis.

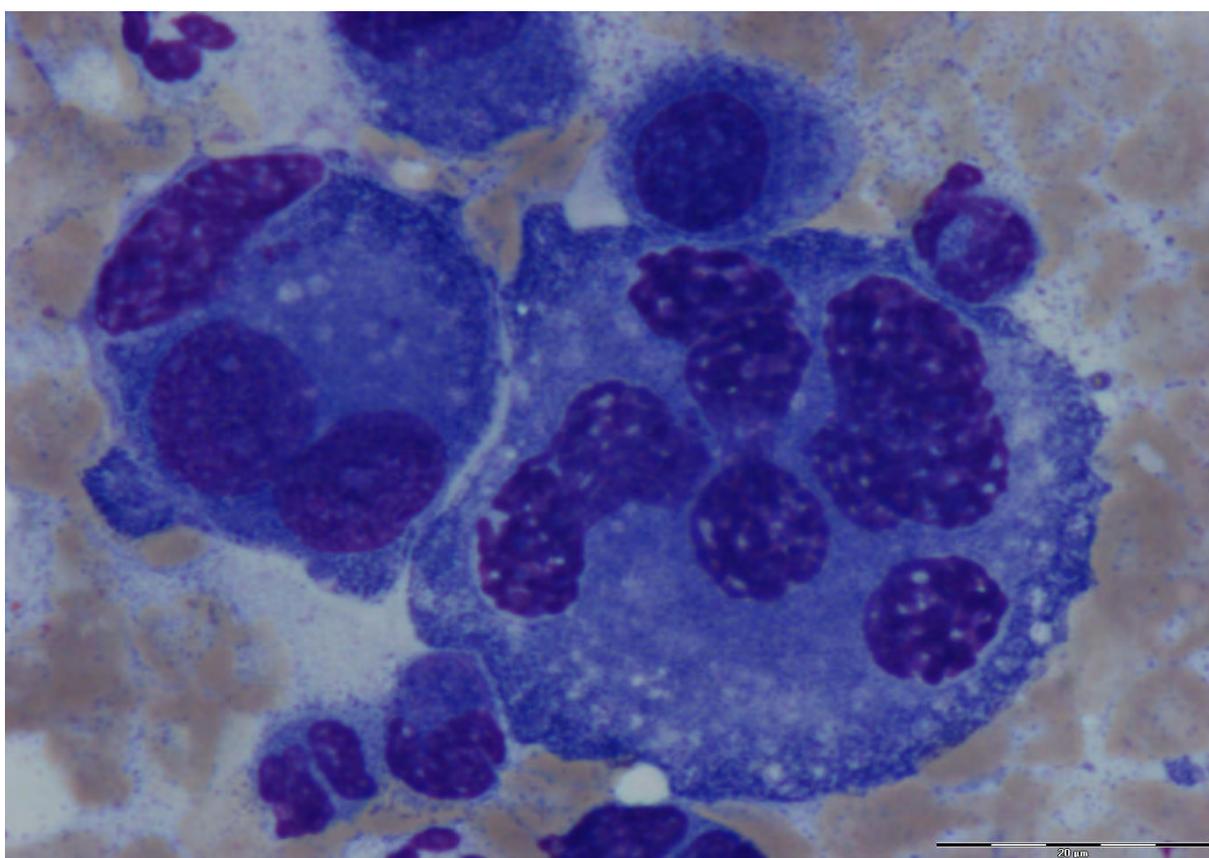
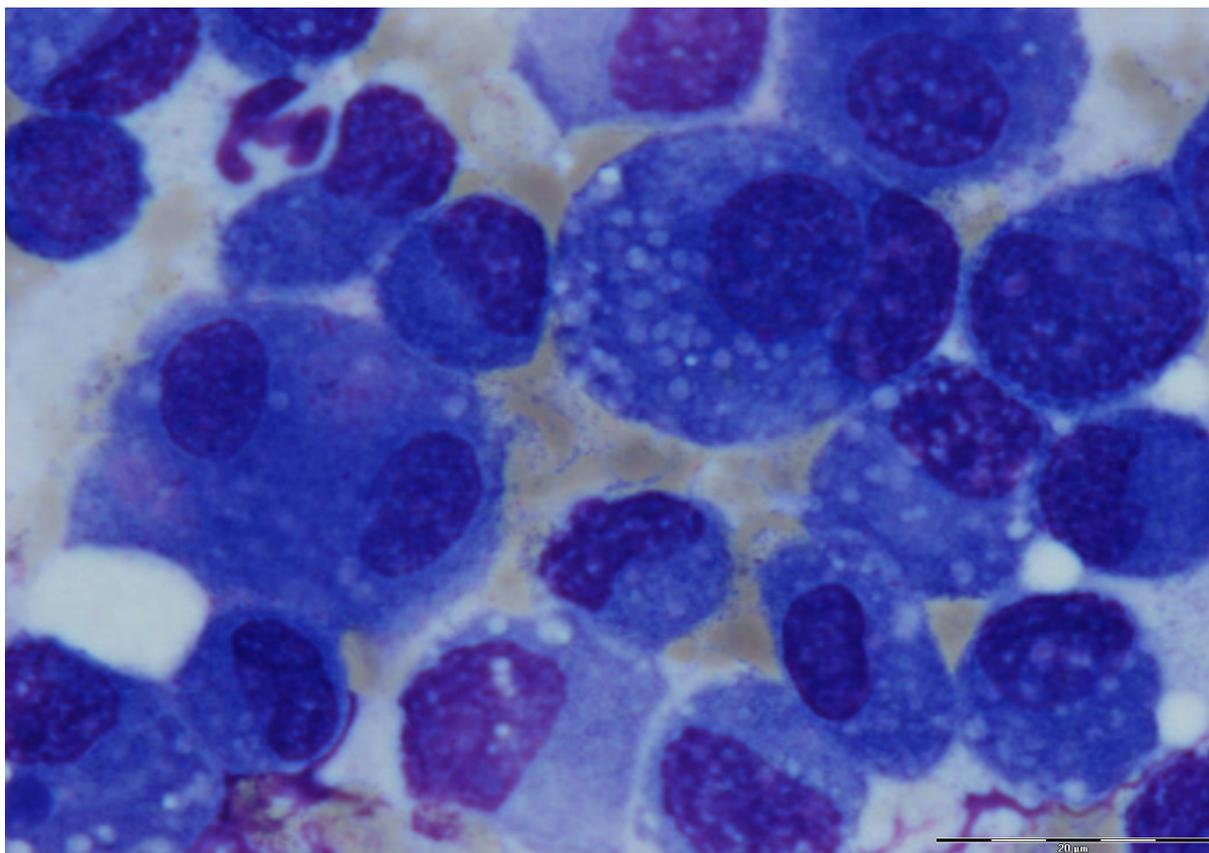


Bild 3: Beispiel für Gruppe 1: Milz von BSH 18 mit hochgradig atypischen, phagozytisch inaktiven histiozytären Zellen ohne Phagozytose. Im unteren Bild dargestellt ist eine histiozytäre Riesenzelle.

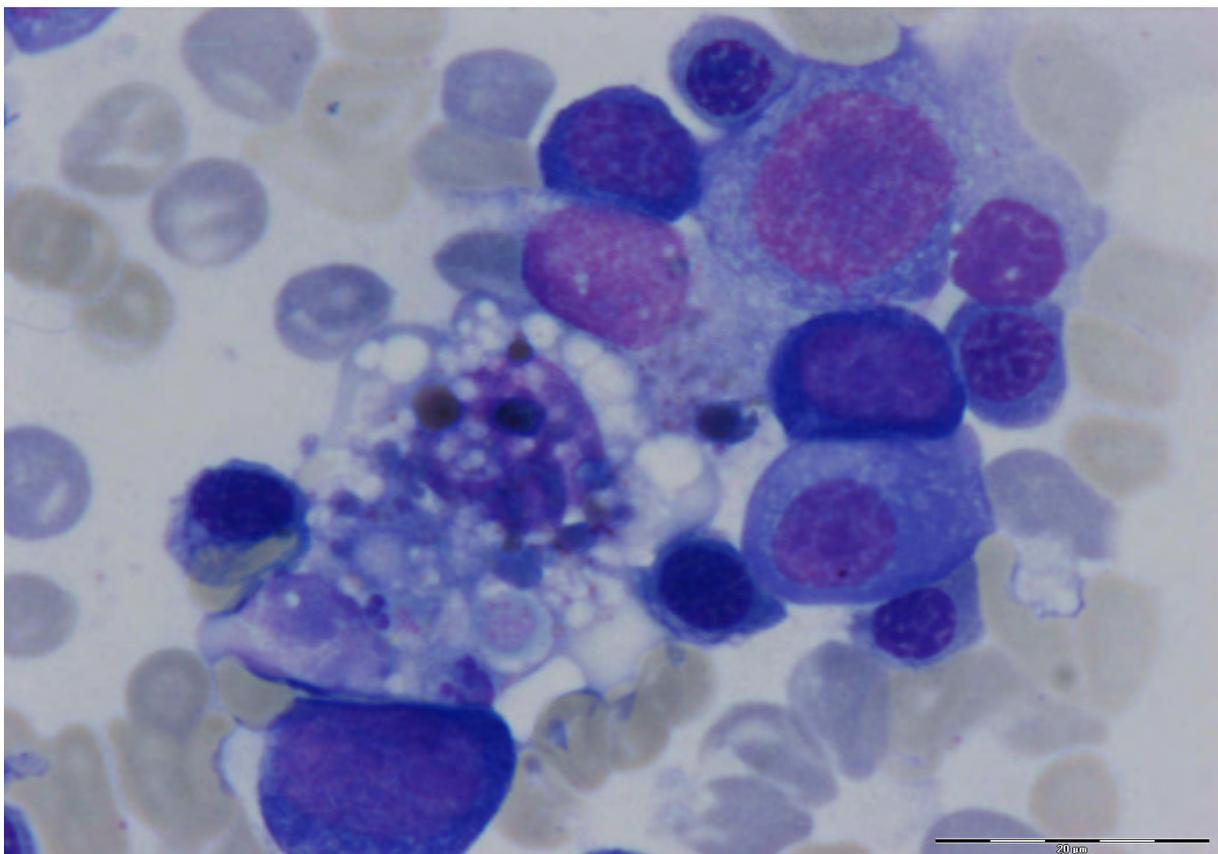
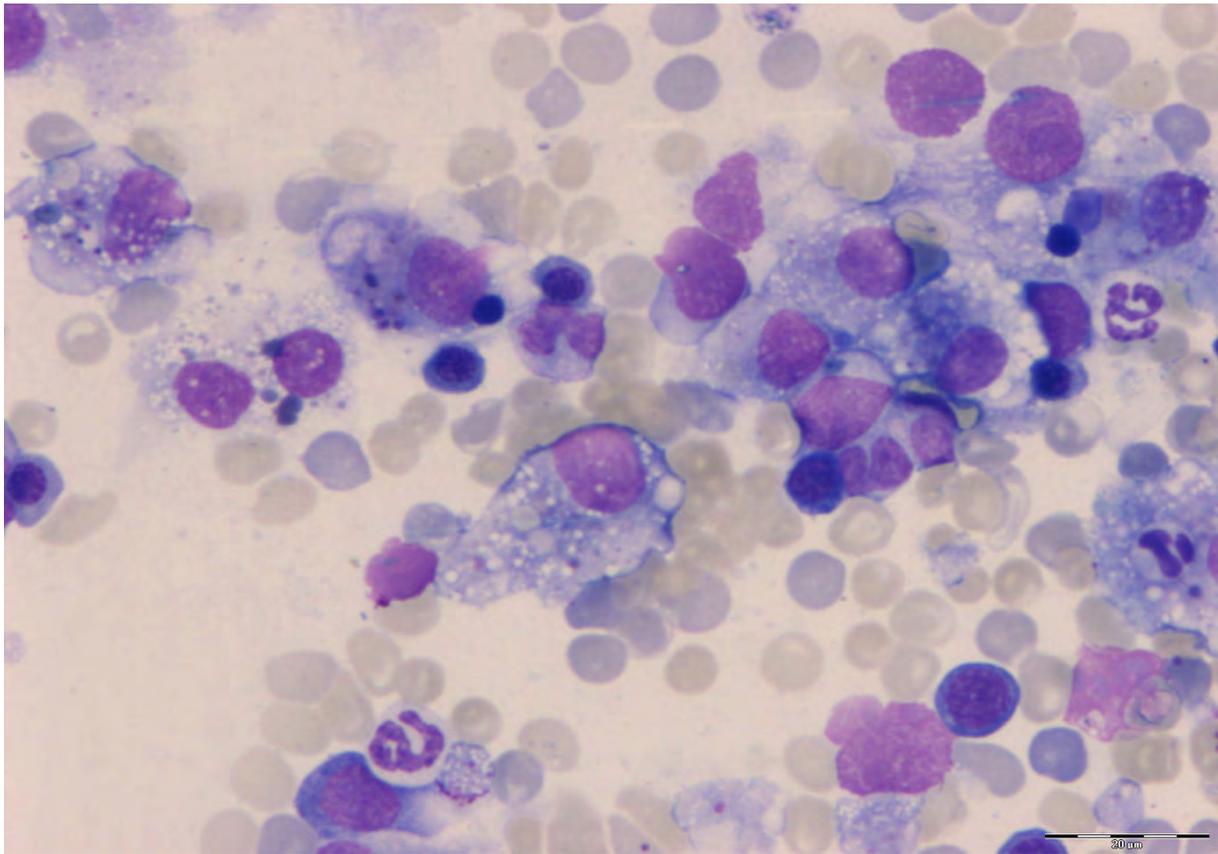


Bild 4: Beispiel für Gruppe 2: Leber von BSH 24 mit einem hohen Anteil an phagozytotisch aktiven Makrophagen. Es finden sich jedoch auch einige inaktive histiozytäre Zellen.

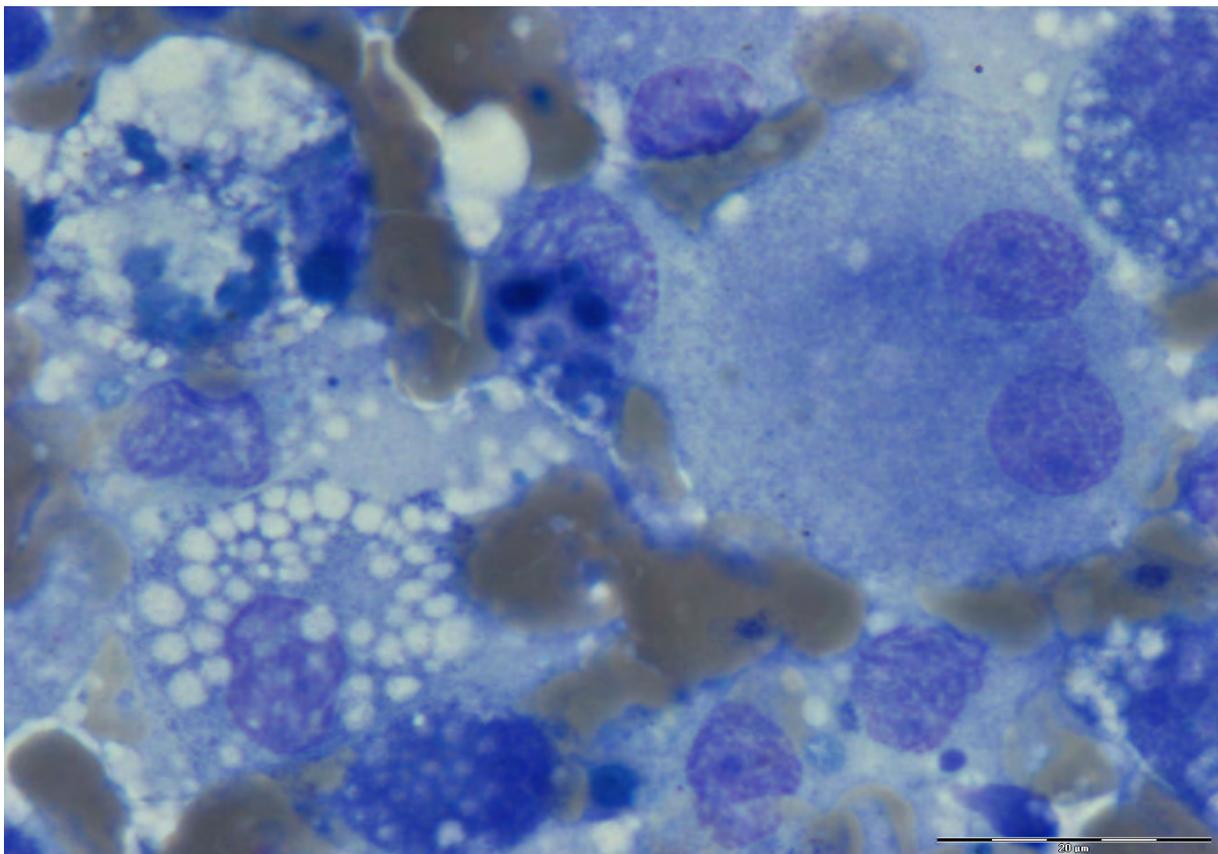
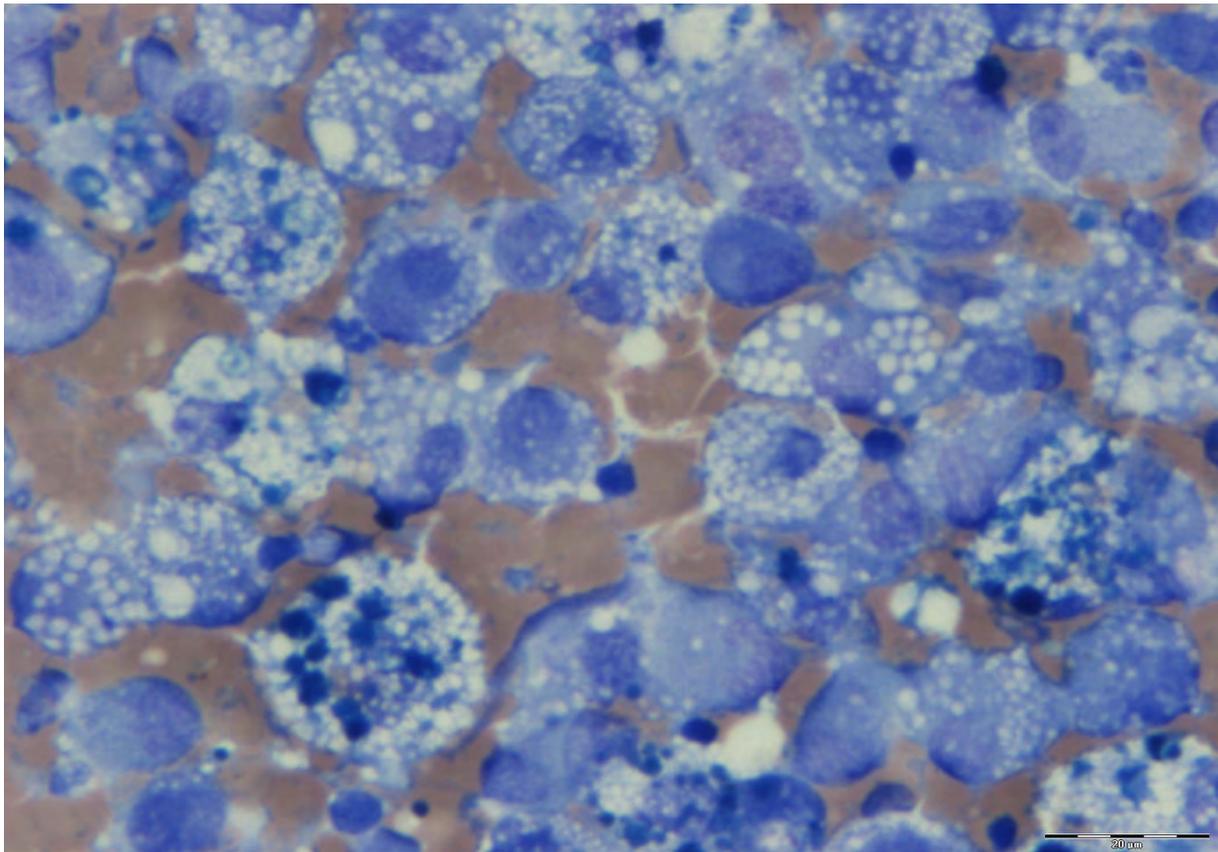


Bild 5: Beispiel eines Hundes aus Gruppe 3. Zubildung im Thorax von BSH 3 mit einem gemischten Bild aus hochgradig atypischen histiozytären Zellen (z.T. auch Riesenzellen) und Makrophagen mit Hämosiderin.

## 5.2.5 Sektion

### 5.2.5.1 Übersicht

Eine Sektion inklusive histopathologischer Untersuchung erfolgte bei 11 der 26 Berner Sennenhunde (siehe Tabelle 15). Bei einem Hund (BSH 6) wurde außerdem eine histopathologische Untersuchung eines klinisch vergrößerten Lymphknotens angefertigt.

Bei allen 11 Hunden wurde die klinisch gestellte Diagnose eines histiozytären Sarkoms bestätigt. Ausnahme stellte BSH 24 dar, bei dem die Diagnose eines histiozytären Sarkoms anhand der pathologischen Untersuchung nicht bestätigt werden konnte. Der Hund wurde jedoch erst 4 Tage nach der Euthanasie untersucht. Zu diesem Zeitpunkt war bereits eine hochgradige Fäulnis und Autolyse der Organe vorhanden, so dass keine exakte Diagnosestellung mehr möglich war und lediglich der makroskopische Befund „mehrere Milzknoten unklarer Genese“ als Diagnose gestellt werden konnte. Die zuvor durchgeführten zytologischen Untersuchungen von Milz, Leber und Knochenmark hatten jedoch eindeutig die Diagnose eines histiozytären Sarkoms ergeben.

Tab. 15: Makroskopische (makro) und histologische (histo) Veränderungen verschiedener Organe von 11 BSH mit histiozytärem Sarkom.

BSH	Milz makro	Milz histo	Leber makro	Leber histo	Lunge makro	Lunge histo	LK makro	LK histo	KM makro	KM histo	Sonstige Organe
BSH 1	+	+	+	+	+	+	k.A.	k.A.	+	k.A.	+
BSH 8	+	+	+	+	-	-	+	+	k.A.	+	-
BSH 9	+	+	+	+	±	±	k.A.	k.A.	k.A.	±	±
BSH 10	+	+	-	+	-	-	+	+	k.A.	k.A.	±
BSH 11	+	+	+	+	±	±	+	+	+	±	+
BSH 12	+	+	+	+	±	+	+	k.A.	k.A.	k.A.	+
BSH 13	-	+	±	±	+	+	+	+	k.A.	-	+
BSH 20	+	+	k.A.	k.A.	+	+	+	+	+	+	+
BSH 24	±	±	±	±	±	±	-	±	±	±	±
BSH 25	k.A.	k.A.	+	+	+	+	+	+	k.A.	k.A.	+
BSH 26	+	+	+	+	+	+	+	+	-	±	±

+: histiozytäres Sarkom; -: ohne Befund; ± andere Veränderung; k.A.: keine Angaben

Im Folgenden sollen die makroskopischen Organveränderungen aufgeführt werden. Es werden nur die Veränderungen beschrieben, die durch eine histologisch nachgewiesene Tumorerkrankung verursacht worden sind.

Die beiden sowohl makroskopisch als auch histologisch am häufigsten von einer Tumorerkrankung betroffenen Organe waren die Milz und die Leber.

### 5.2.5.2 Milz

Die Milz zeigte bei 8/11 Hunden (73%) makroskopisch knotige, diffuse Veränderungen und bei neun Tieren (82%) histologisch nachweisbare Tumorzelleninfiltrationen.

Bei sechs dieser Hunde (55%) konnten einzelne (BSH 10) bis multiple 0,2 bis 4 cm große Knoten im Parenchym, die weiß und speckig bis rot-braun waren, nachgewiesen werden (siehe auch Bild 6). Bei dreien dieser Hunde war die Milz außerdem mittelgradig bis hochgradig diffus vergrößert. Eine solitäre faustgroße, weiche Zubildung mit graubrauner bis zum Teil dunkelroter Schnittfläche, die

weißlichgelbe Herde enthielt (Nekrose), zeigte die Milz eines weiteren Hundes. Die Milz des achten Hundes mit histologisch nachweisbaren Tumorinfiltraten war diffus vergrößert. Makroskopisch unauffällig stellte sich die Milz des letzten Berner Sennenhundes mit histologischen Tumorzellinfiltraten dar.

#### 5.2.5.3 Leber

Acht von 11 Hunden (73%) zeigten histologisch eine Tumorinfiltration der Leber, von denen nur bei 7/11 Tieren (64%) eine makroskopisch sichtbare knotige, diffuse Schwellung der Leber auffiel.

Von den sieben Hunden mit makroskopischen Veränderungen waren bei fünf (45%) Hunden dominierend speckige, weißliche (mehrere bis zahlreiche) unterschiedlich große, stecknadel- bis männerfaustgroße Zubildungen in der Leber festzustellen (Bild 6). Ein Berner Sennenhund zeigte eine solitäre faustgroße weiße Umfangsvermehrung mit zentraler Einziehung (Krebsnarbe) in der Leber, wohingegen der letzte Hund durch eine diffus vergrößerte, gelbliche und brüchige Leber mit multiplen alten Narben auffiel.

#### 5.2.5.4 Lymphknoten

Neben der Milz und der Leber waren auch verschiedene Lymphknoten häufig tumorös verändert. So fanden sich bei 8/11 Hunden (73%) Vergrößerungen der Lymphknoten, die histologisch bis auf BSH 12 (keine Histologie durchgeführt) nachweislich durch eine Tumorinfiltration bedingt waren.

Eine Vergrößerung mehrerer Lymphknoten zeigte sich bei fünf Hunden. Hierbei waren neben den peripheren (Cervicallymphknoten, Axillarymphknoten) vor allem verschiedene interne Lymphknoten wie die Mesenteriallymphknoten, die mediastinalen Lymphknoten, die Lymphonodi Iliaci und brachiales und die Inguinallymphknoten betroffen.

Zwei Hunde fielen durch eine isolierte Lymphknotenvergrößerung des rechten Lymphonodus axillaris (kinderfausgroß) bzw. der Lymphonodi mesenteriales auf. Eine generalisierte Lymphknotenvergrößerung konnte bei einem weiteren Berner Sennenhund festgestellt werden.

#### 5.2.5.5 Lunge

Tumorassoziierte makroskopische Lungenveränderungen oder eine Vergrößerung der im Thorax lokalisierten Lymphknoten (besonders mediastinale und hiläre Lymphknoten) fanden sich bei 5/11 Tieren (45%) (siehe Bild 7). Ein histologisch nachweisbarer Tumor konnte bei 6/11 (55%) Hunden gefunden werden.

Die makroskopischen Veränderungen in der Lunge bei diesen Hunden reichten von einzelnen pflaumengroßen oder multiplen, weißen Knoten im Lungenparenchym über eine vollständige knotige Durchsetzung eines Lungenlappens bis zur Vergrößerung eines gesamten Lungenlappens. Die Schnittfläche der Tumoren war bei allen vier Hunden weiß bis beige. Bei einem Hund waren zusätzlich die mediastinalen Lymphknoten knotig verändert.

Eine makroskopisch sichtbare Tumordinfiltration der mediastinalen und hilären Lymphknoten bei ansonsten unauffälligem Lungenparenchym war bei einem weiteren BSH vorhanden.

#### 5.2.5.6 Knochenmark

Bei 3/11 (27%) Hunden (BSH 1, 11 und 20) konnten makroskopische Veränderungen im Knochenmark beobachtet werden, die bei BSH 1 als Metastasen im Knochenmark aller 4 Gliedmaßen beschrieben wurden. Bei Berner Sennenhund 11 fanden sich weiß-beige Herde an mehreren Wirbelkörpern und an den langen Röhrenknochen aller Gliedmaßen, bei BSH 20 mehrere stecknadelspitzengroße knotige Herde im 9. Brustwirbel.

Von den 3 Hunden mit makroskopischen Knochenmarkveränderungen waren nur bei einem Patienten (BSH 20) tumorassoziierte Veränderungen nachzuweisen, während die Veränderungen bei BSH 11 als fibroblastische Proliferationen in den Markräumen beschrieben wurden und bei BSH 1 keine Angaben zur Histologie vorlagen.

Histologisch zeigte BSH 8 eine Tumordinfiltration im Knochenmark, auf die sich makroskopisch kein Hinweis gefunden hatte.

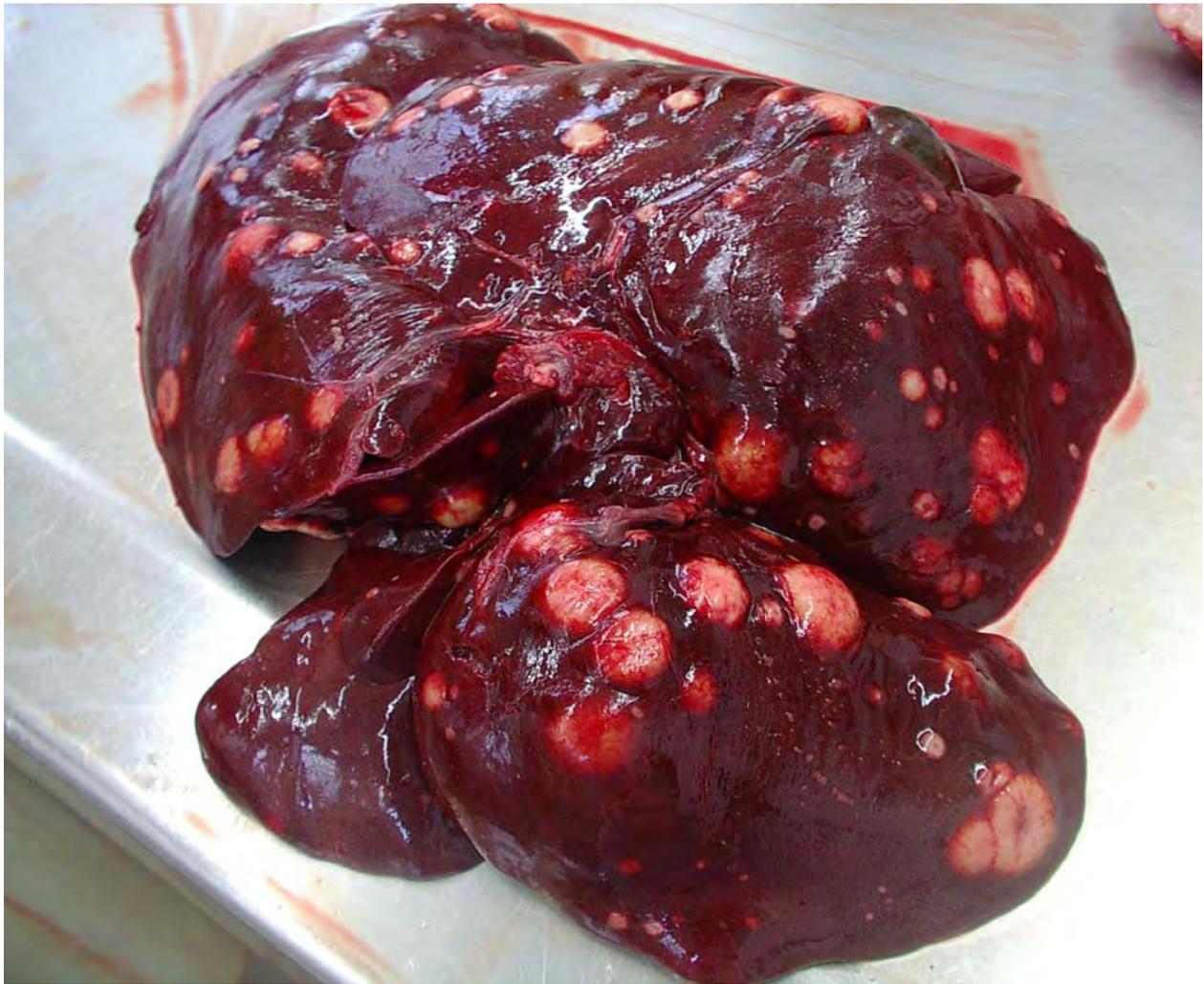


Bild 6: Leber und Milz von BSH 12. Oben: multiple linsen- bis kirschgroße, weißlich-speckige, relativ scharf begrenzte Knoten in der gesamten Leber; Unten: Milz mit mehreren erbsen- bis kirschgroßen, rotbraunen, relativ scharf begrenzten Knoten.

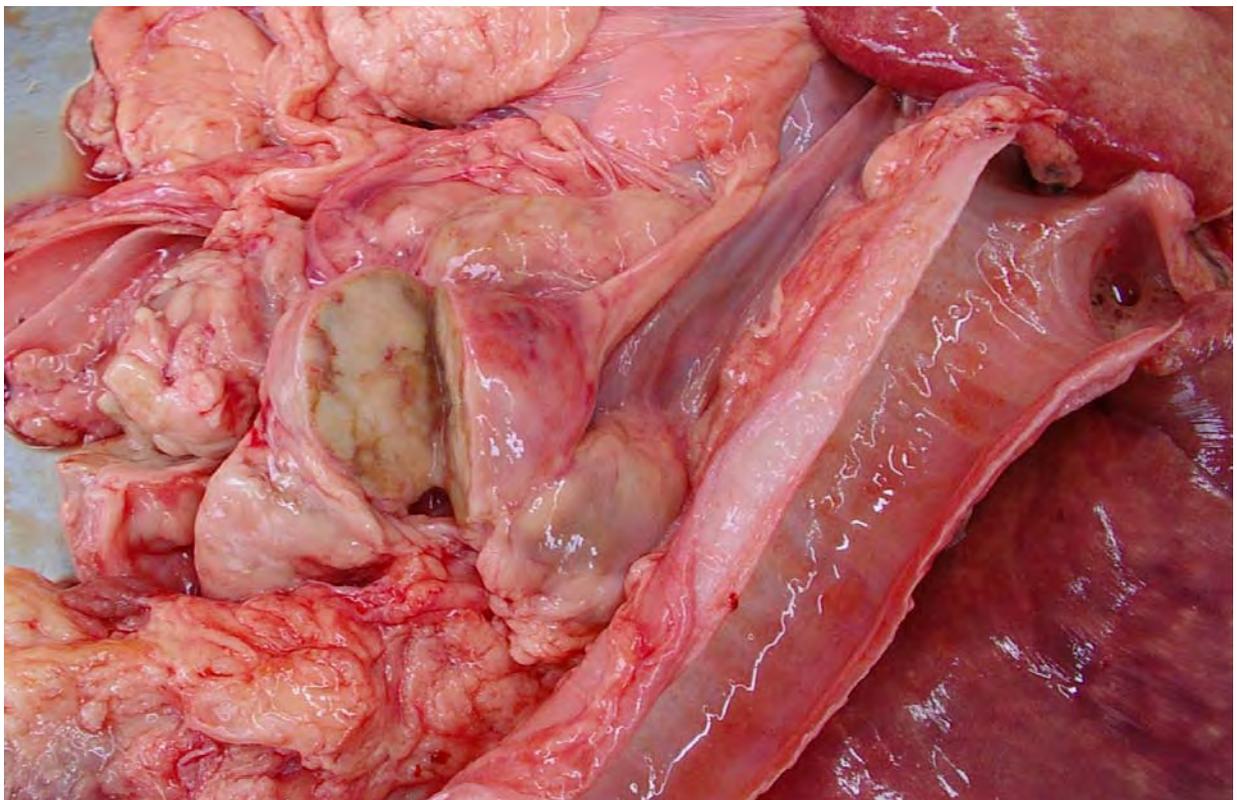


Bild 7: Lunge von BSH 13. Neben einer großen knotigen Zubildung im rechten Mittellappen (oben), fallen auch vergrößerte hiläre Lymphknoten auf (unten). Die Röntgenbilder desselben Hundes sind in Bild 1 dargestellt.

#### 5.2.5.7 Niere

Bei 2/11 (18%) Hunden konnten makroskopisch wenige stecknadelkopfgroße bis haselnußgroße weiße Knoten an den Nieren beobachtet werden, die histologisch als histiozytäres Sarkom klassifiziert wurden.

#### 5.2.5.8 Haut

In der Haut fanden sich bei 2/11 (17%) Hunden Umfangsvermehrungen, die sich als histiozytäres Sarkom herausstellten. BSH 12 zeigte einen 8 cm großen Knoten auf Höhe des linken Knies mit weißlich-gelber, derber und fasriger Schnittfläche.

BSH 25 fiel durch eine weiße, weich-elastische haselnußgroße auf der Schnittfläche glänzende Zubildung in der Unterhaut am rechten Schulterblatt auf.

#### 5.2.5.9 Sonstiges

Bei BSH 1 fanden sich 3 weiße, speckige Herde im Magen. Außerdem wies dieser Hund Metastasen im Bereich des 1. und 6. Brustwirbels auf, die zu einer Kompression des Rückenmarks führten.

## 5.3 Zytologische Knochenmarkuntersuchungen

Im Zeitraum vom 01.12.2004 bis zum 31.05.2007 wurden von 23 Berner Sennenhunden und 10 Beagle-Hunden Knochenmarkaspirate durchgeführt und zytologische Präparate angefertigt.

Die detaillierten Daten der Myelogramme inklusive der statistischen Eckdaten sowie die morphologischen Besonderheiten der histiozytären Zellen bei den einzelnen Hunden können dem Anhang 5 und 6 entnommen werden.

### 5.3.1 Morphologische Auswertung der histiozytären Zellen

#### 5.3.1.1 Beagle

Bei allen 10 Beagle-Hunden fanden sich morphologisch physiologische Makrophagen im Knochenmark, die alle eine deutliche Phagozytoseaktivität aufwiesen. Die Zellen zeigten am häufigsten eine Erythrophagie und eine Phagozytose von Hämosiderin sowie zum Teil eine Leukophagie.

#### 5.3.1.2 Berner Sennenhunde

Physiologische Makrophagen mit ausgeprägter Phagozytose im Knochenmark konnten bei 57% der Berner Sennenhunde (13/23), bzw. das Fehlen jeglicher histiozytärer Zellen bei einem weiteren Hund (4%) nachgewiesen werden.

Bei den restlichen neun Hunden (39%) zeigten die vorhandenen histiozytären Zellen eine Atypie, wobei sich nur bei 2/23 Hunden (9%) histiozytäre Riesenzellen im Knochenmark fanden (BSH 21 und 23), so dass anhand der Knochenmarkausstriche alleine nur bei diesen beiden Hunden die Diagnose eines histiozytären Sarkoms gestellt werden konnte. Beide Hunde fielen durch eine hochgradige Infiltration des Knochenmarkes mit über 10% histiozytären Zellen auf. Bei weiteren fünf Hunden wiesen die histiozytären Zellen mindestens ein für histiozytäre Sarkome charakteristisches Malignitätskriterium auf (siehe Anhang 5). Keiner dieser fünf

Hunde hatte Riesenzellen im Knochenmark, so dass nur der hochgradige Verdacht auf ein histiozytäres Sarkoms gestellt werden konnte. Morphologisch erinnerten die Zellen entweder an Makrophagen, an dendritische Zellen oder es fanden sich beide Formen bei einem Hund. Bei den letzten beiden Berner Sennenhunden (BSH 14 und 15) mit zellulären Atypien fanden sich nur wenige inaktive Makrophagen ohne weitere Malignitätskriterien.

## 5.3.2 Myelogramme

Bei allen 33 Hunden wurden 1000 Zellen ausgezählt und Myelogramme angefertigt. Die Beurteilung der Megakaryopoese konnte bei 18 Berner Sennenhunden und bei sechs Beagle-Hunden nach oben beschriebenen Kriterien durchgeführt werden. Bei den restlichen neun Hunden waren makroskopisch keine Knochenmarkbröckel enthaltenden Felder vorhanden, so dass auf die Auszählung der Megakaryopoese verzichtet wurde. Bei zwei weiteren Hunden waren die Bröckel enthaltenden Bereiche klein, so dass keine vollen 25 Felder ausgezählt werden konnten (siehe Anhang 5).

Im Folgenden sind die Daten der statistischen Auswertung der einzelnen Zellreihen und der Vergleich zwischen den Knochenmarks- und den hämatologischen Befunden aufgeführt.

### 5.3.2.1 Überprüfung auf Normalverteilung

Bei den Beagle Hunden waren alle Zellreihen normalverteilt, während bei den 23 Berner Sennenhunden die Zellreihen der neutrophilen Myelozyten, der eosinophilen Promyelozyten, der basophilen Granulozyten, der Histiozyten und das M/E-Verhältnis (Verhältnis aus Myelopoese zu Erythropoese) keine Normalverteilung aufwiesen.

Eine detaillierte Darstellung der Ergebnisse aller Zellreihen kann dem Anhang 6 entnommen werden.

### 5.3.2.2 Vergleich der Zellreihen zwischen den Hundegruppen

#### 5.3.2.2.1 Mittelwertsabweichungen

Signifikante Unterschiede der Mittelwerte der beiden Hundegruppen ergaben sich bei den eosinophilen Promyelozyten, den eosinophilen Metamyelozyten, den eosinophilen Myeloyelozyten, den neutrophilen Metamyelozyten, den Lymphozyten, der Megakaryopoese und den Mitosen (siehe auch Anhang 6). Beim Vergleich der gesamten eosinophilen Granulopoese konnte jedoch kein signifikanter Unterschied

zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden.

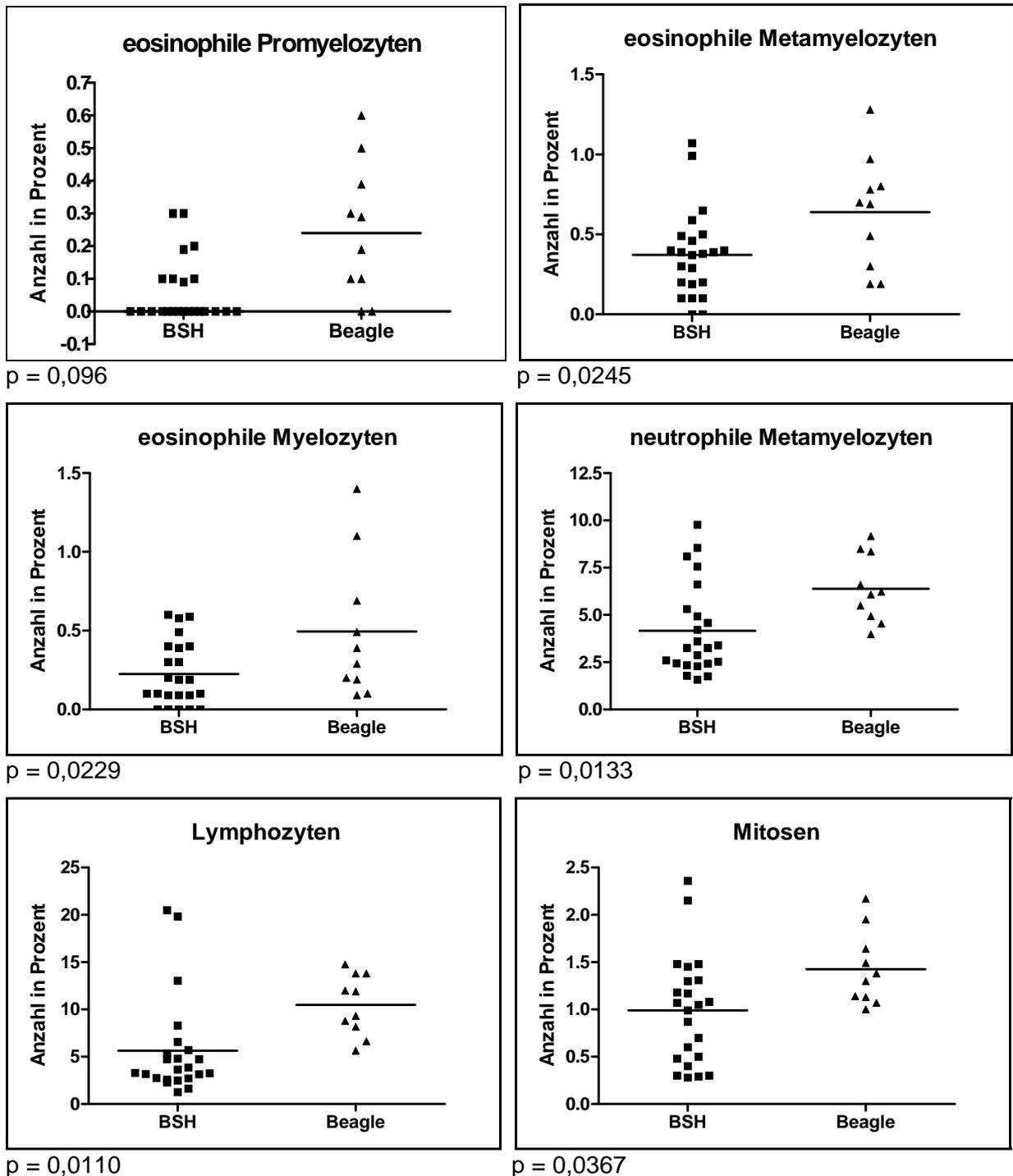


Abb. 14: Scatter Plot-Darstellung aller Zellreihen mit Mittelwertsabweichungen (ausgenommen Megakaryopoese, siehe Abbildung 18) zwischen den beiden korrelierten Gruppen (Berner Sennenhunde versus Beagle-Hunde).

Die einzelnen Punkte stehen dabei für die Ergebnisse der einzelnen Hunde. Die Linien geben die entsprechenden Mittelwerte bzw. Medianwerte (Eosinophile Promyelozyten) an. Der p-Wert bezieht sich auf den Mittel- bzw. Medianwert.

### 5.3.2.2.2 Abweichung der Varianzen

Andere Zellreihen zeigten keine Abweichungen der Mittelwerte, dafür aber signifikante Abweichungen der äußeren Extremwerte (Varianzen).

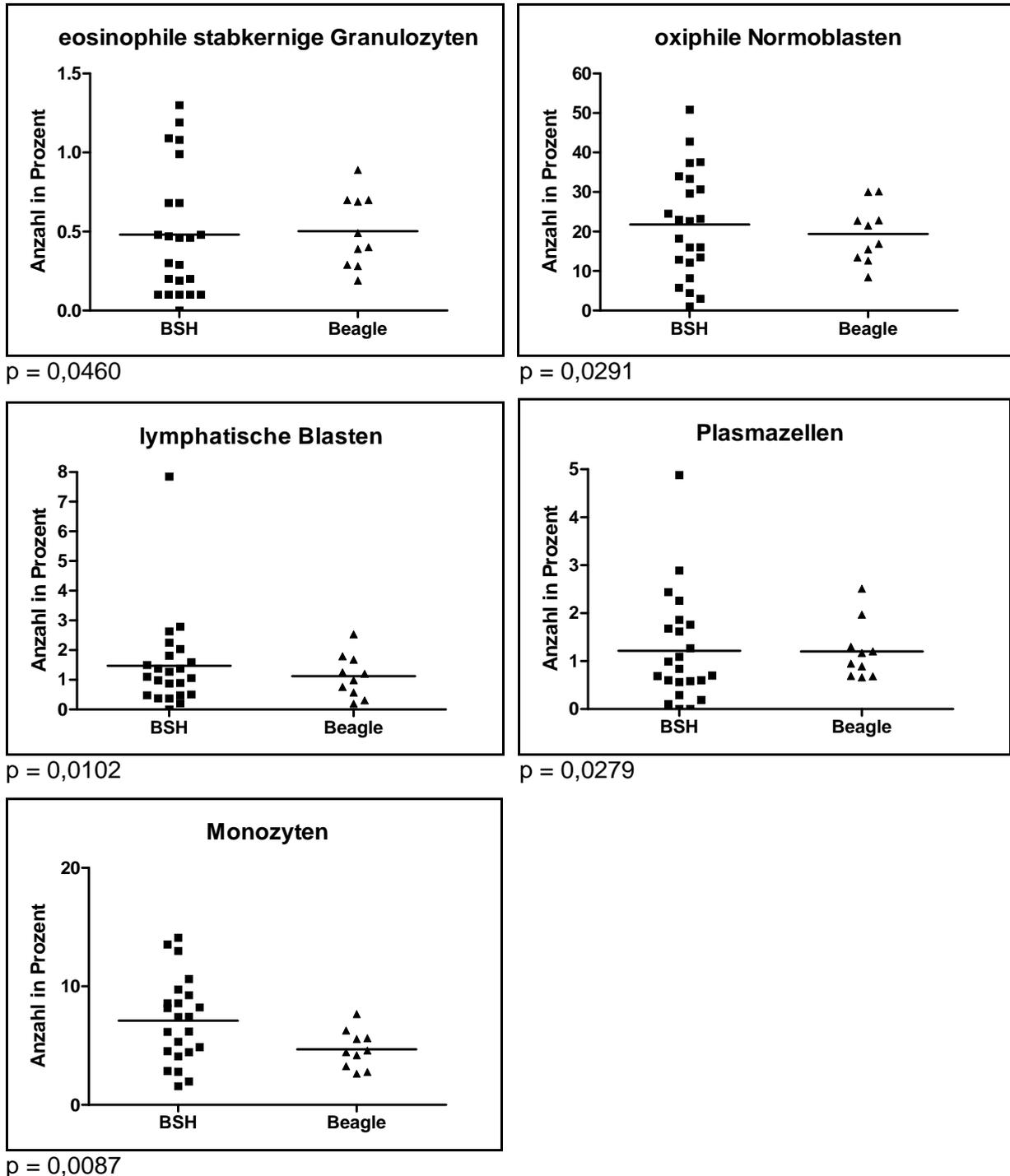


Abb. 15: Scatter Plot-Darstellung der Zellreihen mit signifikanter Abweichung der Varianzen zwischen 23 BSH und 10 Beagle-Hunden (ausgenommen Myelopoese und Erythropoese, siehe Abbildung 16/17). Die Punkte stehen für die einzelnen Hunde. Der p-Wert bezieht sich auf die Varianz. Die Linie zeigt die Mittelwerte.

Zu den Zellreihen mit signifikanten Unterschieden der Varianzen gehörten die eosinophilen stabkernigen Granulozyten, die oxiphilen Normoblasten, die lymphatischen Blasten, die Plasmazellen, die Monozyten und die gesamte Myelopoese sowie die gesamte Erythropoese wie in Abbildung 15 in den entsprechenden Scatter Plots dargestellt (siehe auch Anhang 6).

### 5.3.2.2.3 Histozytäre Zellen im Myelogramm

Die Verteilung der histozytären Zellen im Knochenmark bei den einzelnen Hunden ist in Abbildung 16 abgebildet. Auch wenn leicht ersichtlich sehr hohe Varianzen zwischen den einzelnen Gruppen vorlagen, konnte bei der Myelogrammauswertung kein signifikanter Unterschied der Medianwerte herausgestellt werden.

Der Anteil an histozytären Zellen an allen Knochenmarkvorläufern reichte bei der gesunden Kontrollgruppe von 0,0% bis 0,4% bei einem Medianwert von 0,1%. Der Median der histozytären Zellen bei den 23 kranken Berner Sennenhunden lag mit 0,29% höher (Range: 0,0% bis 19,9%).

Bei der Auszählung der Histozyten fielen bei 8/23 Berner Sennenhunden (34,8%) mehr als 0,4 % histozytäre Zellen im Knochenmark auf. Zwei dieser Hunde (2/9) zeigten eine leichte Erhöhung (0,49% bzw. 0,5%), vier Hunde (4/9) eine mittelgradige Erhöhung (1,08% – 2,66%) und zwei Hunde (2/9) eine hochgradige Erhöhung der histozytären Zellen im Knochenmark mit 11,67% bzw. 19,9%.

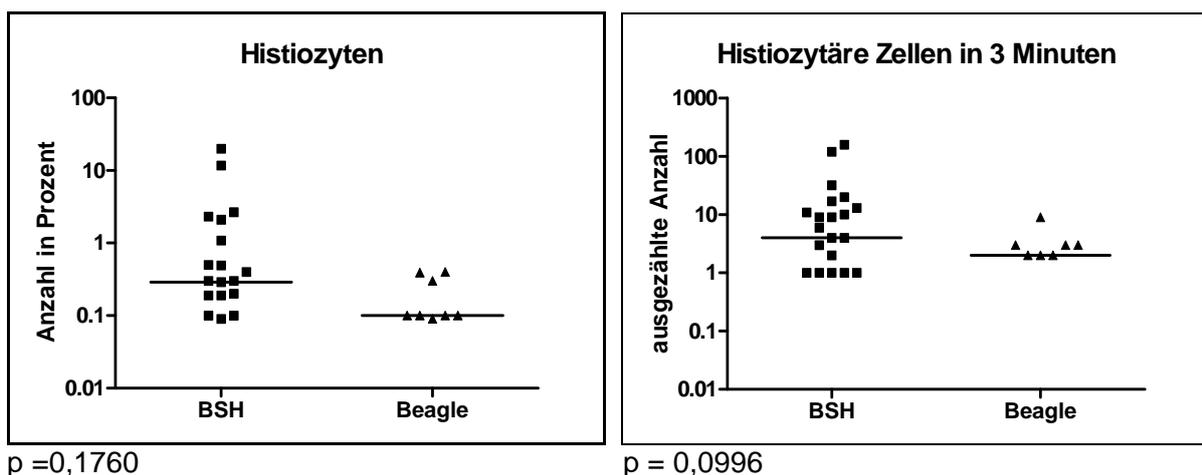


Abb. 16: Scatter Plot-Darstellung des prozentualen Anteils histozytärer Zellen im Knochenmark (links), bzw. in der zeitabhängigen Auszählung (rechts) von 23 BSH und 10 Beagle-Hunden. Die einzelnen Punkte stehen dabei für die einzelnen Hunde. Der p-Wert gibt den Median an. Die angegebenen Linien stellen die Medianwerte dar.

Von den neun Hunden mit morphologisch atypischen histiozytären Zellen im Knochenmark zeigten sieben Berner Sennenhunde (77,8%) einen im Vergleich zur Kontrollgruppe (0,0-0,4%) erhöhten Anteil an histiozytären Zellen. Bei den beiden anderen BSH mit zellulären Atypien konnte mit 0,09% und 0,19% histiozytären Zellen im Knochenmark nur eine geringe Anzahl an Tumorzellen nachgewiesen werden, die sogar im Bereich der gesunden Beagle-Population lag.

Ein Berner Sennenhund (BSH 22) zeigte mit 0,49% einen geringgradig erhöhten Anteil morphologisch unauffälliger histiozytärer Zellen.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass alle 6 Hunde, die durch mehr als 1% histiozytäre Zellen im Knochenmark auffielen, auch eine Zellatypie aufwiesen.

#### 5.3.2.2.4 Zeitabhängige Auszählung

Ähnliche Befunde wie bei der Myelogrammauswertung ergaben sich bei der 3-minütigen Auszählung der histiozytären Zellen. Da diese Daten ebenso wie der prozentuale Anteil histiozytärer Zellen nicht normalverteilt waren, wurde der Median errechnet (siehe auch Abbildung 16), der bei den Beaglen bei 2 Zellen/ 3 Minuten (Range von 0-9 Zellen/ 3 Minuten) und bei den Berner Sennenhunden bei 4 Zellen/ 3 Minuten (Range von 0-160 Zellen / 3 Minuten) lag.

Von den neun Berner Sennenhunden mit atypischen histiozytären Zellen konnten bei 8/9 (88,9%) Hunden neun (oberer, bei der Kontrollgruppe nachgewiesener Anteil) oder mehr histiozytäre Zellen in 3 Minuten ausgezählt werden. Beim letzten Hund mit zellulären Atypien fand sich nur eine histiozytäre Zelle in 3 Minuten.

Ein Hund mit morphologisch unauffälligen Makrophagen hatte 13 nachweisbare histiozytäre Zellen im Knochenmark und damit einen geringgradig erhöhten Anteil an histiozytären Zellen im Vergleich zur Beaglepopulation.

#### 5.3.2.2.5 Monozytäre Vorläuferzellen

In Rahmen der Betrachtung der histiozytären Zellen ist auch die Begutachtung der monozytären Zellen im Knochenmark von Interesse, da diese die Vorläufer der histiozytären Zellen darstellen. Bei den Beagle Hunden erreichten die monozytären Vorläuferzellen einen Mittelwert von 4,7%  $\pm$  0,5% (2,62% - 7,66%) und bei den Berner Sennenhunden einen Mittelwert von 7,1%  $\pm$  0,7% (1,57% - 14,1%). Die Mittelwerte waren mit einem p-Wert von 0,0513 sehr nah im Bereich eines

signifikanten Unterschiedes. Eine Überschreitung des oberen bei der Kontrollgruppe nachgewiesenen prozentualen Anteils (7,66%) der Monopoese fand sich bei 10/23 Berner Sennenhunden (43%). Sechs dieser Hunde (26,1%) hatten weniger als 10% monozytäre Vorläuferzellen im Knochenmark, die anderen vier Hunde (17,4%) zeigten mehr als 10% monozytäre Vorläuferzellen im Knochenmark.

Zwei Berner Sennenhunde (8,7%) zeigten eine Monopoese, die unterhalb des Referenzbereiches (< 2,62%) der Beagle-Population lag. Die anderen 11/23 Hunde lagen mit dem prozentualen Anteil der Monopoese im Bereich (2,62% - 7,66%) der 10 gesunden Beagle.

Der Vergleich der acht Hunde (8/23) mit einem erhöhten Anteil an histiozytären Zellen im Knochenmark (Myelogramm) zu den Hunden mit einer gesteigerten Monopoese erbrachte bei fünf der acht Hunde (62,5%) eine Monopoese, die 7,66 % (oberer prozentualer Anteil der Beaglepopulation) überschritt und bei den weiteren drei Hunden (37,5%) eine Monopoese, die den Mittelwerte der Kontrollgruppe überschritt.

### 5.3.2.3 Vergleich zwischen Knochenmarks- und hämatologischen Befunden

#### 5.3.2.3.1 Monopoese und Monozyten im peripheren Blut

Betrachtet man die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchung der Hunde mit einer Steigerung der Monopoese im Knochenmark (10/23), so fällt auf, dass nur fünf dieser 10 Hunde (50%) eine Monozytose im peripheren Blut zeigten und dass umgekehrt nur bei fünf der 11 Hunde (45%) mit einer Monozytose im peripheren Blut eine Steigerung der Monopoese im Knochenmark zu verzeichnen war.

#### 5.3.2.3.2 Histiozytäre Zellen und Monozyten im Blut

Ähnliche Verhältnisse ergaben sich beim Vergleich der 8 Hunde mit einem erhöhten Anteil an histiozytären Zellen im Knochenmark, von denen die Hälfte (4/8) eine Monozytose im peripheren Blut, die andere Hälfte (4/8) eine physiologische Monozytenkonzentration aufwies.

Auch bei der Betrachtung der 9 Berner Sennenhunde mit atypischen histiozytären Zellen fand sich nur bei etwas mehr als der Hälfte der Tiere (5/9 = 56%), eine

Monozytose im peripheren Blut.

Bei beiden Hunden mit der hochgradigen Tumordinfiltration (BSH 21 und 23) konnte zwar bei beiden Hunden eine gesteigerte Monopoese im Knochenmark, aber nur bei BSH 21 eine leichte Monozytose mit  $1,82 \times 10^9$  festgestellt werden, während BSH 23 eine physiologische Monozytenkonzentration im Blut aufwies.

### 5.3.2.3.3 Myelopoese

Der prozentuale Anteil der Myelopoese an den kernhaltigen Zellen im Knochenmark zeigte ähnliche Mittelwerte (BSH:  $42.85 \pm 3.341$ , Beagle:  $44.75 \pm 2.585$ ) bei beiden Hundegruppen, allerdings fand sich eine signifikante Abweichung der Varianzen wie auch in Abbildung 17 ersichtlich ist.

Insgesamt lag der Anteil der Myelopoese an allen Zellen im Knochenmark bei fünf Berner Sennenhunden (22%) oberhalb und bei sechs Hunden (26%) unterhalb der Grenzwerte (30,31% - 58,37%) der gesunden Kontrollgruppe (siehe Anhang 5).

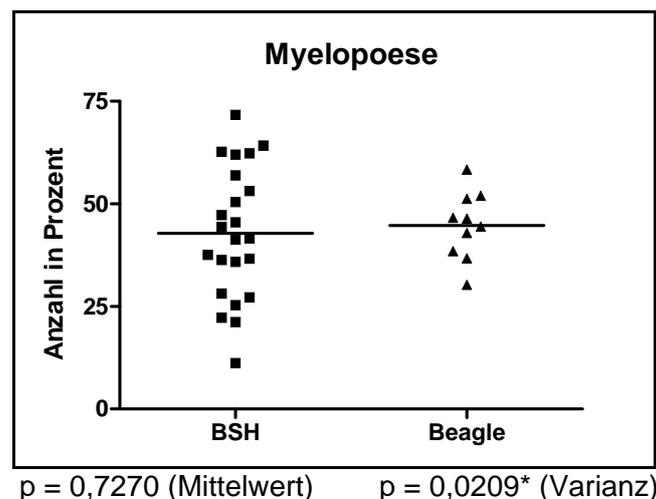


Abb. 17: Scatter plot Darstellung der Myelopoese bei 23 Berner Sennenhunden und 10 Beagle-Hunden mit den entsprechenden p-Werten. Die Linie gibt den Mittelwert der jeweiligen Gruppe an.

### 5.3.2.3.4 Erythropoese

Ähnlich wie bei der Myelopoese unterschieden sich die Mittelwerte der Erythropoese mit einem Wert von  $38.13 \pm 4.738$  bei den Berner Sennenhunden und einem Wert von  $35.64 \pm 3.697$  bei den Beagle-Hunden nicht signifikant. Die Abweichungen der Varianzen waren wiederum signifikant (Abbildung 18).

Die äußeren Grenzwerte der Erythropoese lagen bei der gesunden Kontrollpopulation bei 19,35% bzw. bei 54,14%. Jeweils sechs Berner Sennenhunde

überschritten bzw. unterschritten diese Werte.

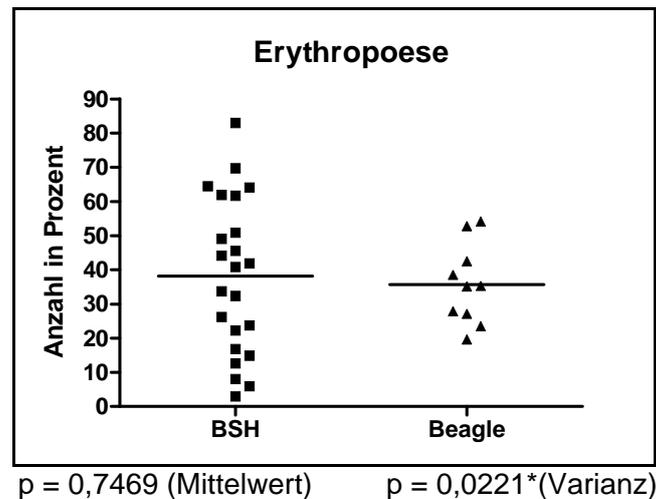


Abb. 18: Scatter plot-Darstellung der Erythropoese bei 23 Berner Sennenhunden und 10 Beagle-Hunden. Die p-Werte geben einerseits die Abweichungen der Mittelwerte und der Varianzen an. Die Linie steht für den jeweiligen Mittelwert.

#### 5.3.2.3.5 M/E-Verhältnis

Da der Anteil der Myelopoese im Knochenmark im direkten Zusammenhang mit der Erythropoese und umgekehrt steht (z.B. eine hochgradige Steigerung der Erythropoese führt zu einem verminderten relativen, aber nicht absoluten Anteil der Myelopoese), wurde auf einen alleinigen Vergleich der Myelopoese bzw. der Erythropoese mit den entsprechenden hämatologischen Befunden abgesehen und vielmehr das Verhältnis aus Myelopoese zu Erythropoese mit den entsprechenden hämatologischen Befunden verglichen.

Da das M/E-Verhältnis bei den Berner Sennenhunden keine Normalverteilung aufwies, wurden der Medianwert errechnet, der innerhalb der Beaglepopulation bei 1,265 (Range: 0,56 - 2,98) lag und bei den BSH mit einem Wert von 1,09 keine signifikante Abweichung zur Kontrollgruppe aufwies (Abbildung 19). Allerdings zeigen sich wiederum sehr große Schwankungen zwischen den einzelnen Berner Sennenhunden (Range: 0,13 bis 21,05).

Wie bei der Erythropoese fielen jeweils sechs Berner Sennenhunde mit einem erniedrigten bzw. einem erhöhten M/E-Verhältnis im Vergleich zu den äußeren Werten des M/E-Verhältnisses der Beagle auf.

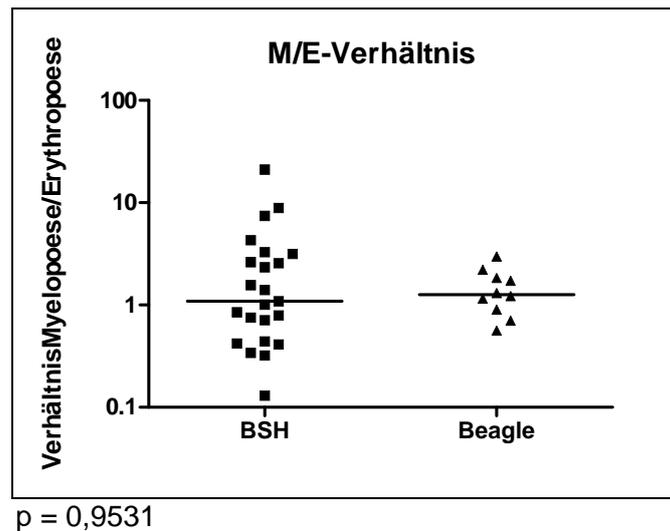


Abb. 19: Scatter plot-Darstellung des M/E-Verhältnisses bei den zwei untersuchten Hundepopulationen (BSH: n= 23; Beagle: n =10). Der p-Wert und die eingezeichnete Linie beziehen sich jeweils auf den Medianwert des M/E-Verhältnisses.

#### 5.3.2.3.6 Vergleich zwischen M/E-Verhältnis und hämatologischen Befunden

Die sechs Hunde mit einem erhöhten M/E-Verhältnis zeigten sehr variable Veränderungen der Hämatologie (Tabelle 16).

Gemeinsam war allen sechs Hunden mit einem erniedrigten M/E-Verhältnis eine Anämie, was zum Vorliegen einer regenerativen Anämie mit einer gesteigerten Erythropoese im Knochenmark passte. Diese Annahme wurde durch eine bei allen sechs Hunden im peripheren Blut deutlich erhöhte Retikulozytenzahl bestätigt.

Tab. 16: Vergleich des M/E-Verhältnisses im Knochenmark mit den Resultaten der Leukozyten, Erythrozyten und Retikulozyten. Aufgeführt sind nur die BSH mit einem im Vergleich zur Kontrollgruppe veränderten M/E-Wert. Eine Erhöhung des entsprechenden Wertes ist mit schwarzer Schrift auf hellgrau, eine Erniedrigung mit weißer Schrift auf dunkelgrau dargestellt.

Berner Sennenhund	Leukozyten 10 <sup>9</sup> /l	Erythrozyten 10 <sup>6</sup> /µl	Retikulozyten 10 <sup>9</sup> /l	M/E- Verhältnis
<b>Referenz</b>	6,0-17,0	5,5-8,5	0-60	0,56-2,98 (Wert Beagle)
BSH 4	<b>21,3</b>	<b>5,12</b>	-	<b>4,31</b>
BSH 5	<b>17,5</b>	<b>2,22</b>	<b>369,9</b>	<b>0,42</b>
BSH 8	<b>5,8</b>	<b>1,78</b>	<b>274,8</b>	<b>0,32</b>
BSH 9	<b>23,8</b>	<b>2,83</b>	<b>483,4</b>	<b>0,13</b>
BSH 12	10,0	<b>4,07</b>	<b>149,4</b>	<b>3,29</b>
BSH 14	<b>24,6</b>	6,38	-	<b>8,89</b>
BSH 15	<b>17,6</b>	<b>5,29</b>	14,9	<b>21,05</b>
BSH 21	<b>19,9</b>	<b>5,34</b>	-	<b>7,43</b>
BSH 23	10,3	7,97	-	<b>3,15</b>
BSH 24	<b>37,3</b>	<b>1,52</b>	<b>486,5</b>	<b>0,41</b>
BSH 25	<b>19,7</b>	<b>4,32</b>	<b>350,4</b>	<b>0,44</b>
BSH 26	16,5	<b>2,52</b>	<b>227,9</b>	<b>0,34</b>

M/E-Verhältnis: Verhältnis aus Myelopoese und Erythropoese

### 5.3.2.3.7 Megakaryopoese

Die Megakaryopoese konnte nach genannten Kriterien (s. 4.3.3.) bei sechs Beagle Hunden und bei 16 Berner Sennenhunden in jeweils 25 Gesichtsfeldern ausgezählt werden. Bei zwei Berner Sennenhunden waren die Bröckel-enthaltenden Gesichtsfelder so klein, dass nur jeweils 19 bzw. 22 Gesichtsfelder in die Auszählung einfließen konnten (Anhang 5).

Bei der Bestimmung der Megakaryozytenzahl fiel außerdem eine starke Abhängigkeit der Anzahl der Megakaryozyten von der Ausstrichqualität auf. Je dichter und zellreicher der Ausstrich war, desto mehr Megakaryozyten fanden sich.

Der Mittelwert der Megakaryozyten/Gesichtsfeld bei den Beagle Hunde lag mit  $9,855 \pm 2,036$  signifikant über dem Wert der Berner Sennenhunde mit  $4.148 \pm 0.7462$ .

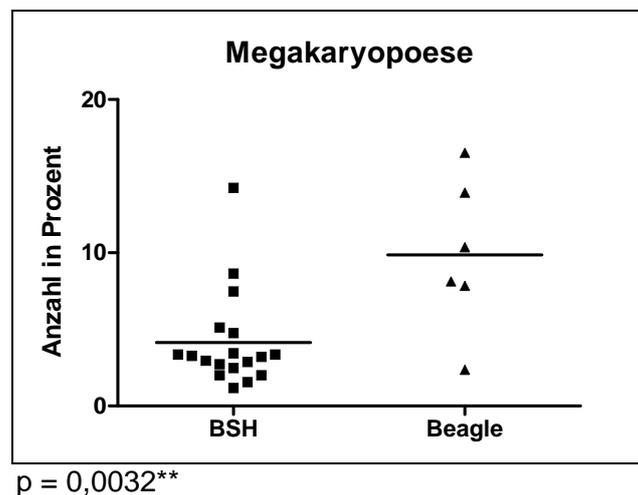


Abb. 20: Scatter Plot Darstellung der Megakaryopoese bei 18 Berner Sennenhunden und 6 Beagle-Hunden. Der angegebene p-Wert und die eingezeichnete Linie geben den Mittelwert der jeweiligen Population an.

## 6 DISKUSSION

### 6.1 Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms

Die durchschnittliche Lebenserwartung des Berner Sennenhundes ist im Vergleich zu anderen Hunderassen kurz. So errechneten EICHELBERG und SEINE (1996) eine Überlebenszeit bei 9248 Hunden aller Rassen von durchschnittlich 10,0 Jahren. Der Berner Sennenhund war mit einer durchschnittlichen Lebenserwartung von 6,8 Jahren die kurzlebigste Hunderasse innerhalb der Stichprobe. In drei Studien aus Schweden (Bonnett, Egenvall et al. 1997; Egenvall, Bonnett et al. 2000; Egenvall, Bonnett et al. 2000), die große Hundepopulationen versicherter Hunde untersuchten, fiel der Berner Sennenhund als Rasse mit der niedrigsten Überlebenswahrscheinlichkeit (Egenvall, Bonnett et al. 2000) auf oder gehörte zu den Rassen mit der höchsten Mortalität und Morbidität (Bonnett, Egenvall et al. 1997; Egenvall, Bonnett et al. 2000).

Genauere Daten, die sich dabei mit der Todesursache beim Berner Sennenhund beschäftigen, finden sich bisher nur in den Arbeiten von EICHELBERG und SEINE von 1996 (siehe auch Abbildung 21) und von BONNET et al. (1997). In beiden Studien war die häufigste Todesursache beim Berner Sennenhund eine Tumorerkrankung, an der 28,1% (Eichelberg and Seine 1996) bzw. 32,7% (Bonnett, Egenvall et al. 1997) der Hunde starben. Die Tumorstärke der Berner Sennenhunde lag dabei nur knapp über dem Durchschnitt der gesamten Population (27,3%) (Eichelberg and Seine 1996), bzw. deutlich über dem Durchschnitt der anderen Hunderassen (16,75%) (Bonnett, Egenvall et al. 1997). Eine zumindest teilweise weitere Aufschlüsselung der Tumoren erfolgte in der Studie von EICHELBERG und SEINE (1996), in der die Leukämie mit 8,2 % die häufigste Tumorerkrankung darstellte. Angaben zur Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms sind in keiner der beiden Arbeiten vermerkt.

Nur in einer Studie von PADGETT et al. (1995) fanden sich Daten zur Häufigkeit histiozytärer Erkrankungen im Vergleich zu anderen Tumoren beim Berner Sennenhund, in der 25,4% aller histologisch diagnostizierten Tumoren dieser Rasse auf eine histiozytäre Erkrankung entfielen. Eine Unterscheidung zwischen einer reaktiven Histiozytose und einem histiozytären Sarkom wurde dabei ebenso wenig

untersucht wie der Anteil der Tumoren im Verhältnis zu anderen Todesursachen bei dieser Rasse.

Eine Häufung des insgesamt seltenen histiozytären Sarkoms beim Berner Sennenhund sowie beim Rottweiler und Flat Coated Retriever wurde von SHAIKEN et al. (1991) bewiesen. Aber auch in dieser Studie finden sich keine Angaben zur genauen Vorkommenshäufigkeit dieses Tumors im Vergleich zu anderen Erkrankungen beim Berner Sennenhund.

Umso wichtiger ist die vorliegende Arbeit, da sie -soweit dem Autor bekannt- als erste die Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms im Vergleich zu anderen internistischen Erkrankungen einer großen Anzahl von Berner Sennenhunden (708 Hunde) über einen längeren Zeitraum (13 Jahre) in einer internistischen Klinik untersucht.

Ähnlich wie in der Studie von EICHELBERG und SEINE (1996) waren die häufigsten Vorstellungsursachen in unserem Datenmaterial Tumoren mit 26,1% und Nierenerkrankungen mit 18,2%. Anders als in vorherigen Veröffentlichungen konnte in unserer Arbeit eine Aufschlüsselung der verschiedenen Tumoren, insbesondere im Hinblick auf ein zugrunde liegendes histiozytäres Sarkom, vorgenommen werden. Bei den von uns untersuchten 708 Berner Sennenhunden wurde bei 8,2% (58/708) der Hunde ein histiozytäres Sarkom sicher diagnostiziert, bei weiteren 7,5% (53/708) der Hunde bestand der hochgradige Verdacht (22/708) auf ein histiozytäres Sarkom bzw. war ein histiozytäres Sarkom (31/708) möglich (siehe auch Tabelle 5). Insgesamt bestand also bei 15,7% der Hunde die Möglichkeit des Vorliegens eines histiozytären Sarkoms (bezogen auf alle Erkrankungen im Untersuchungszeitraum). Vergleicht man die Tumorarten der Berner Sennenhunde aus unserer Studie mit den Daten der gesamten Hundepopulation aus der Studie von EICHELBERG und SEINE (1996), so zeigen sich deutliche Unterschiede. Die in der genannten Arbeit bei 3,6% aller Hunde als Todesursache verantwortlichen Tumoren des Intestinums und die bei 8,1% aller Hündinnen vorkommenden Mammatumoren (Eichelberg and Seine 1996) spielen bei den Berner Sennenhunden nur eine untergeordnete Rolle. So entwickelten nur 2/325 (0,6%) der Hündinnen in unserer Studie und 2,0% aller weiblichen Berner Sennenhunde in der Studie von EICHELBERG und SEINE (1996) einen Mammatumor. In unserem Datenmaterial muß dabei aber berücksichtigt werden, dass Hunde mit Mammatumoren an der Justus-Liebig-Universität in Gießen

in der Regel in der Klinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie der Groß- und Kleintiere mit tierärztlicher Ambulanz vorgestellt werden, so dass der geringe Anteil an Mammatumoren bei den von uns untersuchten Berner Sennenhunden sehr wahrscheinlich nicht repräsentativ für die gesamte Rasse ist.

Andere Hunderassen mit einem Tumoranteil, der den Wert der gesamten Stichprobe übertraf, waren Mischlinge (29,4%), Rottweiler (31,7%), Eurasier (31,9%), Boxer (35,8%) und Cocker Spaniel (54,5%), wobei alle diese Rassen bis auf den Rottweiler eine durchschnittliche Lebenserwartung von über 9,5 Jahren zeigten (Eichelberg and Seine 1996). Die Lebenserwartung beim Rottweiler war mit nur 7,0 Jahren ähnlich gering wie beim Berner Sennenhund mit 6,8 Jahren (Eichelberg and Seine 1996). Die Autoren beschreiben „außer der ungünstigen Lebenserwartung beider Rassen weitere Gemeinsamkeiten, wie sie sonst nirgends auftreten“ (Eichelberg and Seine 1996). Beide Rassen fielen durch einen weit überdurchschnittlichen Anteil der Leukämie (Berner Sennenhund: 8,2%; Rottweiler: 6,7%) als Todesursache auf und wiesen trotz einer hohen Tumorbelastung die weitaus geringste Entwicklung von Mammatumoren (Berner Sennenhund: 2,0%; Rottweiler: 1,9%) auf (Eichelberg and Seine 1996). Bei den anderen oben genannten Rassen waren die zum Tode führenden Tumorerkrankungen bis auf einen sehr hohen Anteil an Mammakarzinomen beim Cockerspaniel (42,9%) weit gestreut.

Der hohe Anteil an Leukämien beim BSH in dieser Studie steht im Gegensatz zu den von uns gesammelten Daten, in denen nur 0,56% der Berner Sennenhunde (4/708) eine Leukämie entwickelten. Angaben über die Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms beim BSH werden von EICHELBERG und SEINE (1996) nicht vorgenommen. Eine Erklärung hierfür ist sehr wahrscheinlich im Publikationsjahr der Studie begründet, da die diskutierten Daten in den Jahren 1986-1991 gesammelt wurden. Das histiozytäre Sarkom war zu diesem Zeitpunkt noch eine neue (Erstbeschreibung 1978) Tumorerkrankung, deren Häufung beim Berner Sennenhund erst im Jahr 1986 erstmalig beschrieben wurde. Da bisher keine andere Veröffentlichung bekannt ist, die eine Häufung der Leukämie beim Berner Sennenhund beschreibt, erscheint es wahrscheinlich, dass unter den Begriff „Leukämie“ in der genannten Studie verschiedene hämatopoetische Tumoren bzw. Tumoren fallen, die mit hämatologischen Veränderungen einhergehen (z.B. histiozytäres Sarkom), deren nähere Klassifizierung zum damaligen Zeitpunkt nicht durchgeführt bzw. sogar nicht möglich gewesen war. Für diese Tatsache sprechen

auch die Daten unserer Studie (siehe Tabelle 4, Vergleich Viehdoc und EasyVet), die zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit, an einem histiozytären Sarkom zu erkranken, in den letzten 15 Jahren (1994-2007) konstant geblieben ist, dass aber durch verbesserte diagnostische Möglichkeiten und eine gezieltere Untersuchung auf ein histiozytäres Sarkom die Diagnose häufiger gestellt wird.

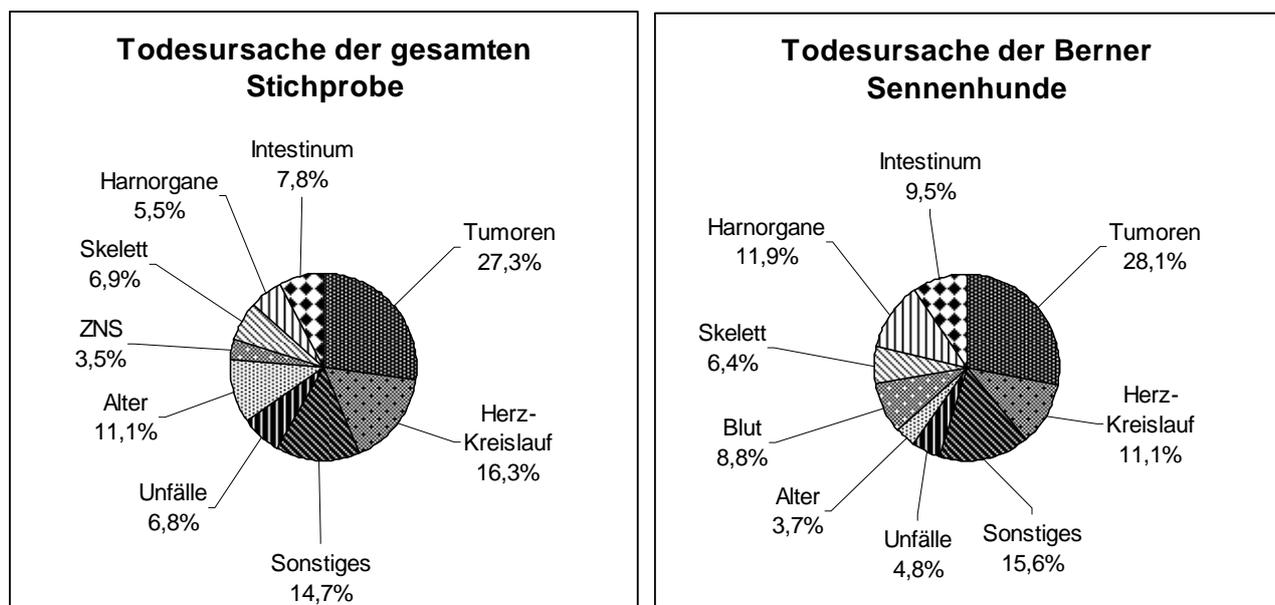


Abb. 21: Todesursachen von 9248 Hunden aller Rassen und von den innerhalb der Population vorkommenden Berner Sennenhunden aus den Jahren 1986-1991 (Eichelberg and Seine 1996)

Da auch beim Rottweiler ein höheres Risiko als für andere Hunderassen besteht, an einem histiozytären Sarkom zu erkranken (Shaiken, Evans et al. 1991), könnte sich somit auch bei dieser Hunderasse der erhöhte Anteil an „Leukämien“ in der Studie von EICHELBERG und SEINE erklären (1996).

Anhand unserer Arbeit wurde zweifelsohne der hohe Anteil des histiozytären Sarkoms im Vergleich zu anderen internistischen Erkrankungen beim Berner Sennenhund bewiesen. Zur Klärung der Frage, ob hier ein Zusammenhang mit der geringen Lebenserwartung der Rasse liegt, sind weitere Überlegungen notwendig: Bei zahlreichen Tumoren spielt die Altersdispositionen für Tumorerkrankungen eine Rolle, das heißt, dass die Tumorfrequenz (pro Anzahl der Individuen) mit zunehmendem Alter der Tiere steigt (Bomhardt 2001). Anders ist dies beim histiozytären Sarkom, bei dem das mediane Erkrankungsalter niedriger liegt: Die

Diagnose eines histiozytären Sarkoms bei den 58 Berner Sennenhunden unserer Studie wurde im mittleren Alter (Median: 6,6 Jahren) gestellt, was auch weitgehend mit den Zahlen der Literatur übereinstimmt (Voegeli, Welle et al. 2006; Fulmer and Mauldin 2007). Weiterhin weist der Berner Sennenhund eine Rassedisposition für die Entwicklung eines Lymphoms auf (Bomhardt 2001), das 2,82% (20/708) aller Vorstellungsursachen ausmachte. Das mediane Alter der Hunde mit Lymphom lag mit 6,2 Jahren (2,3 Jahre bis 11,1 Jahre) in unserer Studie ebenfalls niedriger als für andere altersbedingte Tumoren erwartet.

Aber kann der maximal mögliche Anteil des histiozytären Sarkoms von 15,7% in Kombination mit 2,8% Lymphomen innerhalb der von uns untersuchten Berner Sennenhundepopulation alleine eine niedrigere Übererlebenszeit der gesamten Rasse erklären?

Unabhängig von der konkreten Fragestellung dieser Arbeit fiel neben einem hohen Tumoranteil in der untersuchten Berner Sennenhundepopulation ein häufiges Vorkommen von Nierenerkrankungen mit 18,2 % (129/708) auf. Beim Berner Sennenhund ist eine familiäre membranoproliferative Glomerulonephritis beschrieben (Reusch, Hörauf et al. 1994; Vaden 2005), die bei Hunden mit einem medianen Alter von 4 Jahren (2-7 Jahre) auftritt und mit einer schlechten Prognose einhergeht (Reusch, Hörauf et al. 1994). Das mediane Alter der nierenkranken Hunde lag in unserer Studie bei 4,3 Jahren (112 Tage – 10,5 Jahre) und deckt sich somit mit den Daten der Literatur (Reusch, Hörauf et al. 1994). In unserer Studie wurde keine Aufschlüsselung der Ursachen der Nierenerkrankung vorgenommen, als Diagnose wurde bei 119 der Hunde zumeist eine chronische dekompensierte Niereninsuffizienz angegeben, die sich als Folge einer familiären Glomerulonephritis entwickeln kann. Das junge mediane Alter der nierenkranken Hunde in unserer Arbeit spricht für die These, dass ein hoher Prozentsatz der Berner Sennenhunde mit Niereninsuffizienz an einer familiären Glomerulonephritis erkrankt war, zumal die „klassische chronische Niereninsuffizienz“ ansonsten eine Alterserkrankung darstellt (Reusch, Hörauf et al. 1994).

Die Krankheitsverteilung in der von uns untersuchten Berner Sennenhunde-Population belegt eindeutig den sehr hohen Anteil an vererbten Erkrankungen innerhalb dieser Rasse. Da sowohl das histiozytäre Sarkom als auch die familiäre Glomerulonephritis bevorzugt bei mittelalten Hunden auftreten und beide Erkrankungen zusammen für über 30% der Vorstellungen in unserer Klinik verantwortlich waren, kann die insgesamt niedrige Überlebenszeit der Berner Sennenhunde im Vergleich zu anderen Rassen durch den hohen Anteil an familiär bedingten Erkrankungen erklärt werden.

Da mit dem Fortschritt der veterinärmedizinischen Erkenntnisse das histiozytäre Sarkom und die membranproliferative Glomerulonephritis inzwischen zweifelsohne diagnostiziert werden können und der genetische Hintergrund beider Erkrankungen bewiesen ist (Reusch, Hörauf et al. 1994; Padgett, Madewell et al. 1995; Eichelberg and Seine 1996; Voegeli, Welle et al. 2006), müssen vor allem Hundezüchter in die Pflicht genommen werden, denn allein sie können durch züchterische Maßnahmen die Gesundheit der Berner Sennenhunde verbessern, indem sie konsequent gegen die bekannten genetisch disponierten Erkrankungen selektieren.

## 6.2 Klinische Auswertung der Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom

### 6.2.1 Signalement

Das mediane Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung des histiozytären Sarkoms lag bei den von uns näher untersuchten 26 Berner Sennenhunden bei 7,0 Jahren (4,3 Jahre bis 9,9 Jahre). Bezieht man alle 58 Hunde aus 13 Jahren mit sicher diagnostiziertem histiozytärem Sarkom in die Altersberechnung ein, ist das mediane Alter zum Zeitpunkt der Diagnosestellung mit 6,6 Jahren jünger (10 Monate bis 14,7 Jahre). Damit liegt das Erkrankungsalter der von uns untersuchten Berner Sennenhunde geringgradig unter den Werten von bisher veröffentlichten Studien, bei denen das mediane Erkrankungsalter von 19 Berner Sennenhunden (Kohn, Arnold et al. 1993) und von 13 BSH (Moore and Rosin 1986) bei 7 Jahren bzw. das mittlere Alter bei 7,3 Jahren lag (Voegeli, Welle et al. 2006).

Die Geschlechtsverteilung unserer Population war, bezogen auf alle 58 Berner Sennenhunde, im Vergleich zur Geschlechtsverteilung der gesamten vorgestellten Berner Sennenhunde-Population ausgeglichen und deckt sich somit mit den Daten der größeren Studien (Kohn, Arnold et al. 1993; Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006; Skorupski, Clifford et al. 2007), die ebenfalls keine Geschlechtsdisposition beim histiozytärem Sarkom nachweisen konnten.

### 6.2.2 Überlebenszeit nach Diagnosestellung

Die Überlebenszeit von Hunden mit histiozytärem Sarkom wurde bisher nur lückenhaft bei einzelnen Hunden in wenigen Arbeiten angegeben (Kohn, Arnold et al. 1993; Affolter and Moore 2002). Lediglich in der Studie von MOORE et al. (2006) beim hämophagozytären histiozytärem Sarkom wird von den Autoren eine mediane Überlebenszeit von 7,1 Wochen (2-32 Wochen) beschrieben.

Die Prognose, die bisher lediglich als schlecht bezeichnet werden konnte, kann in Zukunft anhand unserer Daten konkretisiert werden. So zeigten die in unser Studie aufgenommenen Berner Sennenhunde (24/26) eine sehr schlechte mittlere

Überlebenszeit von 33,3 Tagen ( $\pm 44,4$  Tage) nach Diagnosestellung. Lediglich ein Hund überlebte einige Monate und hatte mit 194 Tagen die längste Überlebenszeit.

### 6.2.3 Anamnese

Die Leitsymptome, mit denen die in unserer Arbeit untersuchten 26 Berner Sennenhunde vorgestellt wurden, decken sich weitgehend mit den Angaben in der bisherigen Literatur (Moore and Rosin 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006; Skorupski, Clifford et al. 2007) und äußerten sich zumeist in unspezifischen Symptomen wie Apathie (15/26 = 58%) und Anorexie (14/26 = 54%), sowie Gewichtsverlust (4/26 = 15%). Jeweils 7/26 Hunde (27%) fielen dem Besitzer durch Lahmheit oder Husten auf.

### 6.2.4 Klinische Untersuchung

Insgesamt fanden sich bei unseren Untersuchungen keine entscheidenden Veränderungen zu den bisher bekannten und beschriebenen typischen klinischen Symptomen beim histiozytären Sarkom.

Neben unspezifischen Veränderungen wie einer Störung des Allgemeinbefindens bei 17/26 (65%), einer schlaffen Haltung bei 15/26 (58%) und einer Gewichtsabnahme bei 42% der Berner Sennenhunde (11/26) hingen die weiteren klinisch festgestellten Veränderungen stark vom betroffenen Organsystem ab. Die häufigsten spezifischen Veränderungen waren dabei eine verschärfte Atmung und/oder eine Dyspnoe bei 62% (16/26), eine Lymphknotenvergrößerung bei 46% (12/26) sowie das Vorliegen von blassen Schleimhäuten bei 10/26 (38%) der Hunde. Nicht näher zuzuordnende Zubildungen oder Organvergrößerungen (Hepatomegalie, Splenomegalie) im Abdomen fanden sich bei 7/26 (27%) der von uns untersuchten Tiere. Die in einer Studie von SHAIKEN et al. (1991) bei 4 von 19 Hunden (21%) häufiger beobachteten neurologischen Ausfallserscheinungen konnten in unserer Arbeit nur bei einem Berner Sennenhund (4%) festgestellt werden und sind auch in anderen Arbeiten (siehe Tabelle 17) selten.

Wie aus Tabelle 17 ersichtlich wird, war der häufigste Befund bei der klinischen Untersuchung in allen Arbeiten eine respiratorische Symptomatik. Als zweithäufigste

Veränderungen konnten je nach Autor entweder eine Lymphadenopathie oder blasse Schleimhäute beobachtet werden. Aber auch palpable Zubildungen im Abdomen waren mit 9-27% aller Veränderungen häufige klinische Befunde beim histiozytären Sarkom.

Tab. 17: Vergleichende Darstellung der häufigsten klinischen Befunde von Hunden mit histiozytärem Sarkom in drei größeren Studien und unserer Arbeit (Rosin, Moore et al. 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Skorupski, Clifford et al. 2007).

	Eigene Daten	Rosin, Moore 1986	Kohn, Arnold 1993	Skorupski, Clifford 2007
Resp. Problematik	16/26 (62%)	7/11 (64%)	12/26 (46%)	19/59 (32%)
Lymphadenopathie	12/26 (46%)	2/11 (18%)	9/26 (35%)	4/59 (7%)
Blasse Schleimhäute	10/26 (38%)	1/11 (9%)	11/26 (42%)	keine Angabe 11 Hunde mit Anämie
Zubildung Abdomen	7/26 (27%)	1/11 (9%)	7/26 (27%)	Keine Angabe
Neur. Ausfälle	1/26 (4%)	2/11 (18%)	1/26 (4%)	0/59 (0%)

Resp. Problematik = respiratorische Problematik; neur. Ausfälle = neurologische Ausfälle

## 6.2.5 Blutuntersuchungen

Hämatologische Veränderungen beim histiozytären Sarkom, vor allem im Sinne einer Anämie und Thrombozytopenie, sind häufig und in zahlreichen Arbeiten beschrieben (Moore and Rosin 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Moore, Affolter et al. 2006; Skorupski, Clifford et al. 2007).

Die häufigsten in den klinisch-chemischen Serumuntersuchungen festgestellten Veränderungen sind laut KOHN et al. (1993) ein Anstieg der Blutplasmaaktivitäten der Leberenzyme (AP, ALT, AST), sowie erhöhte Blutplasmakonzentrationen von Harnstoff und Kreatinin, vor allem wenn eine Infiltration der entsprechenden Organe vorliegt. Ebenfalls findet sich bei einigen Hunden eine Hypoalbuminämie (Kohn, Arnold et al. 1993; Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006). Die von uns festgestellten hämatologischen und blutchemischen Veränderungen passen weitgehend mit den bisher in der Literatur beschriebenen Veränderungen überein und bestätigen damit die Daten bisheriger Arbeiten.

Neue Erkenntnisse können sich bei der Betrachtung des 2006 von MOORE et al. veröffentlichten hämophagozytären histiozytären Sarkoms (Ursprungszelle: CD11d+ Makrophage) ergeben, zumal seit der Veröffentlichung dieser neuen Form der histiozytären Erkrankungen keine größeren klinischen Studien erschienen sind. In der erwähnten Studie beschreiben die Autoren typische Blutbildveränderungen in Form einer regenerativen Anämie, einer Thrombozytopenie, einer Hypoalbuminämie und einer Hypocholesterinämie in Kombination mit einer Splenomegalie, die das hämophagozytäre histiozytäre Sarkom charakterisieren. Zwar fanden sich in derselben Studie auch beim histiozytären Sarkom eine Anämie, eine Thrombozytopenie und/oder eine Hypoalbuminämie, jedoch waren der mediane Hämatokritwert, die mediane Thrombozytenzahl und die mediane Albuminkonzentration signifikant höher als bei Hunden mit hämophagozytärem histiozytärem Sarkom. Die Autoren postulieren weiterhin, dass die beim hämophagozytären histiozytären Sarkom bei 69% der Hunde aufgefallene Hypocholesterinämie in einer Vergleichsgruppe der Hunde mit histiozytärem Sarkom untypisch ist und somit zur klinischen Unterscheidung der beiden Erkrankungen dienen kann (Moore, Affolter et al. 2006). Neben den von MOORE et al. (2006) beschriebenen charakteristischen Blutbildveränderungen zeigen sich auch

Unterschiede in der Organverteilung der beiden Tumoren. Die primär betroffenen Organe beim hämophagozytären histiozytären Sarkom waren die Milz (rote Pulpa) und das Knochenmark, in denen sich zahlreiche Histiozyten mit Erythrophagozytose, die in ca. 50% der Fälle ein gut differenziertes zytologisches Aussehen zeigen, nachweisen ließen. Erst im Laufe der Erkrankung kam es zu einer Metastasierung in die Leber und die Lunge. Makroskopisch war die Milz in 82% der Fälle vergrößert und enthielt wenige bis zahlreiche braune bis rote knotige Zubildungen. Die Leber wies im Unterschied zum histiozytären Sarkom keine knotigen Zubildungen auf, sondern zeigte lediglich bei rund der Hälfte der Fälle eine Hepatomegalie. Histologisch fiel jedoch bei allen untersuchten Hunden eine Infiltration mit hämophagozytären histiozytären Zellen in der Leber auf. Makroskopische Veränderungen des Lungenparenchyms waren bei lediglich 2 von 14 Hunden sichtbar, wohingegen wiederum bei allen 9 histologisch untersuchten Lungen hämophagozytäre Histiozyten nachweisbar waren (Moore, Affolter et al. 2006).

Eine mögliche klinische Abgrenzung zwischen einem histiozytären Sarkom dendritischen Ursprungs und dem hämophagozytären histiozytären Sarkom halten die Autoren für möglich, Untersuchungen hierzu wurden jedoch nicht durchgeführt, da es sich um eine pathologische Studie handelt. Im Folgenden sollen deshalb die Befunde der Hunde mit den für ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom typischen Blutbildveränderungen (regenerative Anämie, Thrombozytopenie, Hypoalbuminämie, Hypocholesterinämie) mit den Befunden anderer weiterführender Untersuchungen verglichen werden. Zunächst wird dabei auf die Veränderungen der Hämatologie und der klinischen Chemie im Einzelnen eingegangen, um dann die Blutbefunde mit den weiterführenden Untersuchungen zu vergleichen.

#### 6.2.5.1 Erythrozyten

Bei 16/26 (62%) der von uns untersuchten Hunde konnte im Blutbild eine Anämie nachgewiesen werden, die bei 85% der Hunde (14/16) regenerativ war. Unsere Daten stimmen somit mit den bisherigen Arbeiten überein, in denen je nach Studie 29% (Skorupski, Clifford et al. 2007) bis 85% der Hunde mit histiozytären Sarkom (Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004) eine Anämie aufwiesen (Tabelle 18). Bei

Vorliegen eines hämophagozytären histiozytären Sarkoms zeigten sogar 94% aller untersuchten Patienten eine regenerative Anämie (Moore, Affolter et al. 2006). Zur Abklärung der Ursache der Anämie bei Hunden mit histiozytärem Sarkom wurden in einigen Studien bei ausgewählten Hunden ein Coombs-Test durchgeführt, der bei allen getesteten Tieren negativ war (Wellman, Davenport et al. 1985; Moore and Rosin 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006). Die Ursache der Anämie beim histiozytären Sarkom ist somit eher durch eine Erythrophagozytose durch die neoplastischen Histozyten als durch eine Immunreaktion zu sehen (Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006).

13 der 15 Hunde mit Anämie (85%) in unserer Studie zeigten eine Regeneration der Erythrozyten. Eine mögliche Erklärung für die fehlende Regeneration der Anämie bei den letzten 2 Hunden findet sich nicht, da diese Hunde weder durch einen Eisenmangel noch durch vermehrt gefüllte Knochenmarkeisenspeicher auffielen, die sich im Rahmen von Begleitänämien chronischer Erkrankungen finden würden.

#### 6.2.5.2 Thrombozyten

Das Vorkommen einer Thrombozytopenie, die in unseren Untersuchungen bei 43% der Patienten (11/26) festgestellt werden konnte, ist in der Literatur variabel und reicht von 0% bis 82% aller Fälle (siehe Tabelle 18). Das gemeinsame Vorkommen von Thrombozytopenie und Anämie bei 23% aller Berner Sennenhunde in unseren Daten stimmt mit den Daten bei KOHN et al. (1993) überein, während MOORE et al. (2006) eine Kombination aus Thrombozytopenie und Anämie beim hämophagozytären histiozytären Sarkom mit 82% als sehr häufig bezeichnen.

Tab. 18: Vorkommen von Anämie und Thrombozytopenie bei Hunden mit histiozytärem Sarkom im Literaturvergleich (Moore and Rosin 1986; Kohn, Arnold et al. 1993; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004; Moore, Affolter et al. 2006; Skorupski, Clifford et al. 2007). Die jeweils oben stehenden (dick geschriebenen) Angaben zu Hämatokrit und Thrombozyten geben die Referenzwerte in der entsprechenden Studie an.

	<b>Anämie</b>	<b>Thrombozytopenie</b>	<b>Anämie und Thrombozytopenie</b>
Kohn et al. 1993	<b>Htk &lt; 38%</b> 15/26 (58%) 9/15 (60%) mit Reg. 5 x Coombs-Test: neg.	<b>Throm: &lt; 140 000/μl</b> 6/26 (23%)	6/26 (23%)
Skorupski et al. 2007	<b>Htk: &lt; 30%</b> 17/59 (29%)	<b>Throm: &lt; 100 000/μl</b> 13/59 (22%)	Keine Angaben
Moore und Rosin 1986	5/13 (38%) 2/5 (40%) mit Reg. 1 x Coombs: neg.	0/13	
Cruz-Arámbulo et al. 2004	15/18 (85%)	Keine Angaben	
Moore et al. 2006 (HHS)	<b>Htk: &lt; 40%</b> 16/17 (94%) Alle regenerativ Mean Htk: 23,5 % Mean Retikulozyten: 232,91/μl 8 x Coombs: neg.	<b>Throm: &lt; 200 000/μl</b> 14/17 (82%) Mean: 116 200/μl	13/17 (76%)
Moore et al. 2006 (HS)	<b>Htk: &lt; 40%</b> 14/26 (54%) Überwiegend nicht reg. Mean Htk: 39%	<b>Throm: &lt; 200 000/μl</b> Keine Angaben Mean: 351 000/μl	Keine Angaben
Eigene Daten	<b>Htk: &lt; 37%</b> 16/26 (62%)	<b>Throm: &lt; 150 00/μl</b> 11/26 (43%)	6/26 (23%)

Htk.: Hämatokrit; Throm.: Thrombozyten; neg.: negativ;

### 6.2.5.3 Blutbildveränderungen im Hinblick auf ein zugrunde liegendes hämophagozytäres histiozytäres Sarkom

Bei den von uns untersuchten Hunden fielen 6/26 Berner Sennenhunde (23%) mit einer gleichzeitigen Thrombozytopenie und Anämie auf, die alle eine Hypoalbuminämie und in 3 Fällen eine Hypocholesterinämie zeigten. Zwei weitere Tiere wiesen eine deutliche Hypocholesterinämie auf, die jeweils von einer Hypoalbuminämie und entweder von einer Anämie oder einer Thrombozytopenie begleitet war (Tabelle 19).

Bei allen 5/26 Hunden (19%) mit einer Hypocholesterinämie zeigte die Milz (Sonographie und/oder Sektion) typische multiple Rundherde, wohingegen die Leber bei keinem der Hunde durch Rundherde auffiel. Anhand der hämatologischen Befunde und der Organmanifestation liegt laut MOORE et al. (2006) bei diesen 5 Hunden sehr wahrscheinlich ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom vor. Bis auf BSH 17 konnte auch bei keinem dieser Hunde eine Zubildung im Bereich der Lunge diagnostiziert werden, was ebenfalls zum Vorliegen eines hämophagozytären histiozytären Sarkoms passen könnte.

Die bei diesen 5 Hunden durchgeführten zytologischen Untersuchungen zeigten jedoch nur bei zwei Hunden (BSH 5 und 24) histiozytäre Zellen mit einer deutlichen Phagozytoseaktivität in der Milz (BSH 5) bzw. in der Leber (BSH 24). In den zytologischen Präparaten der Milz und des Knochenmarkes von Berner Sennenhund 24 fanden sich zwar ebenfalls histiozytäre Zellen, die jedoch entweder klein und inaktiv (Milz) waren oder durch eine gemischte Population aus phagozytotisch inaktiven histiozytären Zellen und einigen Makrophagen auffielen (Knochenmark). Bei Berner Sennenhund 5 wurde außerdem eine zytologische Knochenmarkuntersuchung durchgeführt, bei der sich keine Tumorzellen fanden.

Zwei weitere dieser fünf Hunde fielen entweder durch inaktive histiozytäre Zellen in Milz, Lunge und Knochenmark (BSH 17) oder durch eine Phagozytoseaktivität im Knochenmark, aber nicht in der Milz (BSH 7) auf. Bei BSH 10 erfolgte keine zytologische Untersuchung, so dass hier keine morphologische Beurteilung möglicher histiozytärer Zellen vorgenommen werden konnte.

Die drei weiteren der in Tabelle 19 aufgeführten Berner Sennenhunde, die durch eine Anämie und Thrombozytopenie, aber nicht durch eine Hypocholesterinämie auffielen, zeigten sowohl in der Leber als auch in der Milz Rundherde, was nach MOORE et. al

(2006) entweder für ein histiozytäres Sarkom (dendritischer Ursprung) oder für ein bereits metastasiertes hämophagozytäres histiozytäres Sarkom spricht.

Neben dem oben aufgeführten Vergleich der von MOORE et al. (2006) beschriebenen typischen Blutveränderungen der hämophagozytären Variante des Tumors mit den Befunden aus der Bildgebung ist auch der umgekehrte Vergleich interessant, inwieweit anhand bildgebender Maßnahmen der Verdacht auf ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom gestellt werden kann, und inwieweit die Blutbefunde den Verdacht bestätigen. Weiterhin wollten wir klären, ob die Befunde aus der Bildgebung von unseren 26 Berner Sennenhunden (Thoraxröntgen, Sonographie Abdomen) mit den Befunden aus der Literatur vergleichbar sind.

Tab. 19: Auflistung ausgewählter Laborparameter, der sonographischen und zytologischen Milzuntersuchung sowie der zytologischen Knochenmarkuntersuchung aller Berner Sennenhunde mit gleichzeitiger Anämie und Thrombozytopenie und/oder Hypocholesterinämie.

BSH	Htk 37-55%	Throm. 150-500 G/l	Albumin 26-33 g/l	Chol. 3,5-7,0 mmol/l	Sono und/oder Sektion Milz	Sono und/oder Sektion Leber	Zyto Milz	Zyto Knochenmark
5	21	83	22,6	2,66	Sono: inhomogen +++, vergrößert Sektion: n.d.	Sono: obB  Sektion: n.d.	EMH +++ HZ mit Phagozytose, Großteil der Zellen nicht intakt	Keine hist. Zellen (0%)
8	15	66	19,7	7,39	Sono: reflexreich +++, Rundherde Sektion: kleine weiße Rundherde	Sono: reflexreich ++  Sektion: kleine weiße Rundherde	n.d.	Wenige phys. Makrophagen (0,29%)
10	13	21	22,0	2,78	Sono: inhomogen mit großer Zubildung Sektion: einzelne rotbraune Herde	Sono: obB  Sektion: obB	n.d.	n.d.
12	27	77	22,1	4,34	Sono: fleckig inhomogen Sektion: vergrößert +++	Sono: mit mind. 2 Rundherden Sektion: mit weißlichen Rundherden	EMH +++ kein Tumor	Inaktive hist. Zellen (1,08%)
17	35	131	23,1	3,20	Sono: inhomogen +++ mit multiplen Zubil. Sektion: n.d.	Sono: obB  Sektion: n.d.	HZ ohne Phagozytose	Inaktive hist. Zellen (0,19%)

BSH	Htk 37-55%	Throm. 150-500 G/l	Albumin 26-33 g/l	Chol. 3,5-7,0 mmol/l	Sono und/oder Sektion Milz	Sono und/oder Sektion Leber	Zyto Milz	Zyto Knochenmark
<b>26</b>	<b>19</b>	<b>33</b>	<b>20,7</b>	4,51	Sono: n.d. Sektion: zahlreiche Knoten	Sono: n.d. Sektion: zahlreiche weiße Knoten	n.d.	Inakt. Hist. Zellen (2,32%)
<b>7</b>	<b>37</b>	<b>67</b>	<b>22,1</b>	<b>1,58</b>	Sono: fleckig + Sektion: n.d.	Sono: obB Sektion: n.d.	EMH +++ HZ ohne Phagozytose	Erhöhter Anteil an Makroph. (2,09%)
<b>24</b>	<b>16</b>	240	<b>23,5</b>	<b>2,70</b>	Sono: isolierter großer Milztumor Sektion: mehrere Herde	Sono: obB Sektion: hell, vergrößert	EMH +++ HZ mit zum Teil Phagozytose	Erhöhter Anteil an Makroph. (2,66%)

Htk: Hämatokrit; Chol.: Cholesterin; Sono: Sonographie; n.d.: nicht durchgeführt; obB: ohne besonderen Befund; EMH: Extramedulläre Hämatopoese; HZ: histiozytäre Zellen

## 6.2.6 Bildgebende Verfahren

### 6.2.6.1 Röntgen des Thorax

Röntgenologische Veränderungen im Bereich des Thorax bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom waren in unserer Arbeit mit 75% (18/24) häufig. Der Tumor stellte sich dabei unterschiedlich dar. Bei 50% der Hunde fanden sich eine oder mehrere Zubildungen im Bereich des Lungenparenchyms (siehe auch Bild 1 und 2) und/oder der thorakalen Lymphknoten, zwei Tiere zeigten einen Thoraxerguß (8%). Ob die bei den restlichen vier Hunden festgestellte interstitielle Lungenzeichnung tumorassoziiert war, konnte nur bei einem Hund pathologisch-histologisch ausgeschlossen werden.

In der bisherigen Literatur wurden röntgenologische Veränderungen des Thorax bei 79% (Shaiken, Evans et al. 1991), bei 80% (Kohn, Arnold et al. 1993) bzw. bei 90% (Schmidt, Rutteman et al. 1992) der an einem histiozytären Sarkom erkrankten Patienten festgestellt. Die Art der Veränderungen reichte bei den Hunden aus den zitierten Studien dabei von pulmonalen, mediastinalen Massen und/oder hilären Massen über vergrößerte Sternallymphknoten, Pleuraergüsse und interstitiellen bis alveolären Lungenzeichnungen und stimmte damit mit den von uns gesammelten Daten überein.

### 6.2.6.2 Sonographie des Abdomens

Bei der Sonographie des Abdomens war innerhalb unserer Hundepopulation das am häufigsten veränderte Organ die Milz bei 58% der Hunde (11/19), gefolgt von der Leber, die bei 32% der Tiere (6/19) sonographische Veränderungen aufwies. Drei weitere Hunde (16%) fielen durch vergrößerte abdominale Lymphknoten auf. Die in unserer Arbeit sonographisch nachweisbare Tumordinfiltration liegt damit unter den Zahlen von RAMIREZ et al. (2002) und CRUZ-ARAMBULO et al. (2004), die bei 80% bzw. 83% der von ihnen untersuchten Hunde Milzveränderungen, bei 62,5% bzw. bei 56% Leberveränderungen und bei 68,75% bzw. 28% Vergrößerung der abdominalen Lymphknoten nachwiesen.

Während sich in der Literatur die sonographischen Milzveränderungen beim

histiozytären Sarkom als hypoechogene, gut umschriebene Knoten darstellten (Ramirez, Douglass et al. 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), zeigten sich die Veränderungen in unserer Arbeit vielgestaltiger: Bei 6 der 11 Hunde (55%) mit sonographischen Veränderungen der Milz fanden sich typische (wenige bis zahlreiche) hypoechogene Areale, andere Hunde fielen jedoch lediglich durch eine Inhomogenität der gesamten Milz oder eine isolierte große Milzzubildung auf.

Fünf der sechs Hunde (83%) in unserer Arbeit, die in der Ultraschalluntersuchung Leberveränderungen aufwiesen, zeigten entweder mehrere reflexarme oder reflexreiche Rundherde, wie es in der Literatur (Ramirez, Douglass et al. 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004) beschrieben ist. Anders als in den bisher veröffentlichten Daten kann sich ein histiozytäres Sarkom in der Leber sonographisch aber auch nur reflexreich ohne abgrenzbare Herde darstellen, wie es bei dem letzten der von uns untersuchten Berner Sennenhunde der Fall war.

#### 6.2.6.3 Vergleich der Veränderungen

In keiner der oben genannten Studien (Shaiken, Evans et al. 1991; Schmidt, Rutteman et al. 1992; Kohn, Arnold et al. 1993; Ramirez, Douglass et al. 2002; Cruz-Arámbulo, Wrigley et al. 2004), die sich mit bildgebenden Untersuchungen beim histiozytären Sarkom beschäftigten, wurden sowohl röntgenologische als auch sonographische Befunde gleichzeitig erhoben, wie es in unseren Daten der Fall war. Eine Gegenüberstellung der sonographischen Veränderungen im Abdomen zu den Befunden des Thoraxröntgens ist wiederum im Hinblick auf das hämophagozytäre histiozytäre Sarkom interessant (Moore, Affolter et al. 2006), da dieses ein anderes Organverteilungsmuster als das histiozytäre Sarkom dendritischen Ursprungs zeigen soll. Wie bereits oben erwähnt, geht der Ursprung des hämophagozytären histiozytären Sarkoms von Makrophagen aus Milz und Knochenmark aus, die zu einem späteren Zeitpunkt in Lunge und Leber metastasieren können. In Leber und Lunge kann es dabei histologisch zu massiven intravaskulären Tumorzellinfiltraten kommen; die Organe stellen sich jedoch im Gegensatz zum histiozytären Sarkom makroskopisch meist ohne sichtbare Zubildungen dar (Moore, Affolter et al. 2006).

In Tabelle 20 sind alle 17 Berner Sennenhunde aufgeführt, die sowohl einer sonographischen Untersuchung des Abdomens als auch einem Thoraxröntgen

unterzogen wurden. In der Gegenüberstellung lassen sich zum Teil deutliche Muster der Organinfiltration nachweisen: Fünf der 17 Hunde (29%) fielen durch eine röntgenologisch nachweisbare Lungen- und/oder Lungenlymphknoteninfiltration ohne sonographisch erkennbare Milzinfiltration auf, womit bei diesen Hunden anhand des Tumorverteilungsmusters laut MOORE et al. (2006) die hämophagozytäre Variante des histiozytären Sarkoms ausgeschlossen werden kann (in Tabelle 20 dunkelgrau unterlegt). Keiner dieser fünf Hunde zeigte außerdem die für das hämophagozytäre histiozytäre Sarkom typischen Veränderungen im Blutbild.

Umgekehrt gehörten die drei Hunde (18%) mit einer Milzinfiltration ohne nachweisbare Leber- und Lungenbeteiligung auch zu den Hunden mit Hypcholesterinämie, deren Blutbefunde zum Vorliegen eines hämophagozytären histiozytären Sarkoms passen können (hellgrau unterlegt).

Von den verbleibenden acht Hunden zeigten fünf Hunde (29%) ein gemischtes Verteilungsmuster innerhalb der gegenübergestellten Organe und drei (18%) keine nachweisbare Tumorerinfiltration, so dass hier anhand der Bildgebung keine Abgrenzung zwischen den beiden Tumorvarianten möglich ist.

Verlässt man sich auf die Aussage von MOORE et al. (2006), dass anhand des Tumorverteilungsmusters das histiozytäre Sarkom vom hämophagozytären histiozytären Sarkom zu unterscheiden ist, so konnten wir zeigen, dass allein durch die Bildgebung bei fast der Hälfte der Fälle ( $8/17 = 47\%$ ) eine Abgrenzung zwischen dem histiozytären Sarkom dendritischen Ursprungs und dem hämophagozytären histiozytären Sarkom möglich scheint. Bei allen diesen acht Hunden passten auch die Veränderungen in der Hämatologie und der Blutchemie zu dem von den Autoren beschriebenen charakteristischen Bild der beiden Tumorformen.

Tab. 20: Vergleichende Darstellung der sonographischen Milz- und Leberveränderungen und des Thoraxröntgens von 17 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom, bei denen die vollständigen Untersuchungen vorliegen.

<b>BSH</b>	<b>Sonographie Milz</b>	<b>Sonographie Leber</b>	<b>Röntgen Thorax</b>
BSH 3	obB	sonstiges	+
BSH 5	+	obB	obB
BSH 6	obB	obB	+
BSH 7	+	obB	obB
BSH 9	+	+	obB
BSH 11	obB	obB	+
BSH 12	+	+	obB
BSH 13	obB	+	+
BSH 14	obB	obB	+
BSH 15	+	+	sonstiges
BSH 16	obB	obB	sonstiges
BSH 17	+	obB	+
BSH 18	+	+	+
BSH 19	obB	obB	sonstiges
BSH 22	obB	obB	obB
BSH 23	+	obB	+
BSH 24	+	obB	sonstiges

Hellgrau unterlegt: Hunde mit Milztumor ohne Hinweise auf Leber- und Lungenbeteiligung

Dunkelgrau unterlegt: Hunde mit Lungentumor ohne sonographisch sichtbare Milzbeteiligung

Hellgraue Schrift: Hunde ohne röntgenologisch/sonographisch nachweisbare Tumordinfiltration

## 6.2.7 Zytologie

Die Diagnose „histiozytäres Sarkom“ wurde in unserer Arbeit entweder durch die Anfertigung von Feinnadelaspiraten mit anschließender zytologischer Untersuchung gestellt oder - soweit möglich - durch eine Sektion des Hundes bewiesen. Insgesamt gilt die Anfertigung von Feinnadelaspiraten mit anschließender zytologischer Untersuchung als eine schnelle, einfache und kostengünstige, sowie wenig risikoreiche Methode für den Patienten, die häufig zur Diagnosestellung führt (Cowell, Tyler et al. 1999) und durch den minimalinvasiven Charakter der Biopsie im Hinblick auf mögliche Komplikationen für den Patienten überlegen ist. Obwohl es für das histiozytäre Sarkom typische zytologische Charakteristika gibt, kann bei pleomorphen Tumoren eine Differenzierung zu bestimmten Sarkomen, Karzinomen und Rundzelltumoren schwer fallen, so dass die Durchführung einer Immunhistologie notwendig wird (Clifford and Skorupski 2007).

So stellte sich uns einerseits die Frage, inwieweit bei den von uns untersuchten Hunden die angefertigten zytologischen Präparate zur Diagnosestellung führten und welche Organe dabei zur Diagnosestellung am besten geeignet waren. Weiterhin interessierte es uns, inwieweit die Zytologie zur Abgrenzung zwischen einem histiozytären Sarkom dendritischen Ursprungs und einem hämophagozytären histiozytären Sarkom geeignet ist.

### 6.2.7.1 Zytologische Diagnosestellung

Die zytologische Untersuchung einer oder mehrerer Organe führte bei 21 der 25 Berner Sennenhunde (84%), von denen eine zytologische Untersuchung vorlag, zur Diagnosestellung. Bei Berner Sennenhund 16 wurde auf Grund der Zytologie der Verdacht auf eine systemische Histiozytose gestellt. Im Verlauf der Erkrankung konnte jedoch zu einem späteren Zeitpunkt anhand des Krankheitsverlaufes und erneuter zytologischer Untersuchungen ein histiozytäres Sarkom diagnostiziert werden. Die Diagnose „lokalisierendes histiozytäres Sarkom am Bein in Kombination mit einem hochgradigen Lymphomverdacht in Leber und Knochenmark“ wurde zytologisch bei BSH 12 diagnostiziert. In der Sektion konnte mittels Immunhistologie ein disseminiertes histiozytäres Sarkom in Leber, Milz und Lunge nachgewiesen

werden. Bei den beiden letzten Hunden (BSH 11 und 20) waren die entnommenen zytologischen Proben unspezifisch, es bestand jedoch der klinische Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom. Beide Hunde wurden einer Sektion unterzogen, bei der das histiozytäre Sarkom bewiesen wurde.

Betrachtet man weiterhin die Aussagekraft der vier in unserer Studie am häufigsten betroffenen Organe (Milz, Leber, Lunge, Lymphknoten), so führten die zytologischen Proben aus der Lunge in 75% (6/8) der Fälle zur Diagnose. Die zweitbeste Aussagekraft hatten die Lymphknotenaspirate, bei denen in 5 von 8 Präparaten (62,5%) histiozytäre Tumorzellen nachweisbar waren. Die Ausstriche aus Milz und Leber enthielten jeweils bei 56% (9/16) bzw. bei 46% (6/13) der entnommenen Proben Tumorzellen, die die Diagnose histiozytäres Sarkom ermöglichten.

Bei der Betrachtung dieser Zahlen muß jedoch beachtet werden, dass die Lunge und die Lymphknoten nur bei Vorliegen von röntgenologisch nachweisbaren Lungenzubildungen bzw. klinisch aufgefallenen Lymphknotenvergrößerungen punktiert wurden, während aus Milz und Leber auch aus sonographisch unverändert erscheinenden Organen Feinnadelaspirate im Rahmen eines Tumorscreenings entnommen worden waren. Deshalb ist es notwendig, die Daten aus Milz und Leber genauer zu betrachten: Bei 14 Hunden, bei denen eine Feinnadelaspiration aus der Milz vorgenommen wurde, lagen gleichzeitig sonographische Befunde vor. Von diesen Hunden zeigten 8 Tiere das sonographisch typische Erscheinungsbild eines histiozytären Sarkoms. Betrachtet man nun die zytologischen Präparate dieser 8 Berner Sennenhunde, so fällt eine diagnostische Aussagekraft von 62,5% (5/8) auf, womit die Aussagekraft der Milz mit den Lymphknoten gleichzusetzen ist. Umgekehrt zeigte ein Hund zytologisch eine Tumordinfiltration der Milz, obwohl sich diese sonographisch unauffällig dargestellt hatte.

Bei der Leber fand sich eine diagnostische Aussagekraft der Zytologie von 40%, da nur bei 2 der 5 Hunde mit sonographisch nachweisbaren Leberveränderungen histiozytäre Tumorzellen im zytologischen Ausstrich nachweisbar waren. Umgekehrt konnte bei 2 Tieren in der Zytologie ein histiozytäres Sarkom diagnostiziert werden, obwohl die Leber sonographisch keine Auffälligkeiten aufwies.

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass mittels zytologischer Untersuchungen bei 84% der Berner Sennenhunde in unserer Arbeit ein histiozytäres Sarkom diagnostiziert werden konnte, ohne dass es einer Biopsie oder

einer Immunhistologie bedurft hätte. Der Wert von 84% muß jedoch relativiert werden, da Berner Sennenhunde mit Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom, welches jedoch nicht sicher nachgewiesen werden konnte, nicht in die Daten unserer Studie einfließen.

Bei Vorliegen von Veränderungen in verschiedenen Organen bietet die Feinnadelaspiration aus Zubildungen in der Lunge die höchste Wahrscheinlichkeit (75%), den Tumor zu beweisen. Weiterhin interessant und deshalb an dieser Stelle festzuhalten ist die Tatsache, dass auch in sonographisch unverändert erscheinenden Organen (Leber und Milz) zytologisch Tumorzellen nachgewiesen werden konnten.

#### 6.2.7.2 Differenzierung zwischen hämophagozytären histiozytären Sarkom und histiozytärem Sarkom

Als letzter interessanter Punkt bei der Betrachtung der zytologischen Präparate ist die Frage, inwieweit eine zytologische Differenzierung der dendritischen Variante des Tumors (histiozytäres Sarkom) vom hämophagozytären histiozytären Sarkom (Ursprungszelle: Makrophage) möglich ist.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde in Tabelle 21 die Morphologie der histiozytären Zellen aufgeführt. Die Einteilung erfolgte dabei nach den 3 im Material- und Methodenteil (s. 4.2.1) beschriebenen Gruppen.

Die meisten der zytologischen Präparate erfüllten dabei die zytologischen Kriterien von dendritischen Zellen (Gruppe 1) und enthielten hochgradig atypische, inaktive histiozytäre Zellen mit einer hochgradigen Anisozytose und Anisokaryose mit Nukleoli und Mitosefiguren. Das Zytoplasma war dabei dunkelblau und enthielt teilweise feine, scharf umschriebene Vakuolen. Außerdem fanden sich einige bis zahlreiche mehrkernige Zellen und Riesenzellen (siehe auch Bild 3).

Alle Präparate der Haut und der Lunge, die zytologisch untersucht wurden, zeigten inaktive histiozytäre Zellen mit ausgeprägten Malignitätskriterien, die morphologisch zum Vorliegen von dendritischen Zellen passten. Lediglich das Feinnadelpräparat der Lunge von Berner Sennenhund 3 enthielt zusätzlich zu den beschriebenen atypischen, histiozytären Zellen auch zahlreiche phagozytotisch aktive Makrophagen. Diese Makrophagen unterschieden sich jedoch von den Makrophagen der Hunde

aus Gruppe 2, da sie vor allem eine Phagozytose von Detritus und Hämosiderin zeigten und weniger eine ausgeprägte Erythrophagie und Leukophagie, wie es beim hämophagozytären histiozytären Sarkom zu erwarten wäre (Moore, Affolter et al. 2006). Die vorhandenen Makrophagen bei diesem Hund sind demnach am ehesten als eine physiologische Immunreaktion zum Abbau von nekrotischem Tumorgewebe zu sehen.

Im Gegensatz zur Lunge variierte das zytologische Erscheinungsbild innerhalb der verschiedenen Berner Sennenhunde in der Leber, der Milz und den Lymphknoten beträchtlich. So dominierten jeweils bei 3 von 6 Hunden (50%) in Leber und Lymphknoten histiozytäre Zellen der Gruppe 1. In der Milz fanden sich bei 4/9 (44%) Berner Sennenhunden inaktive, atypische histiozytäre Zellen (Gruppe 1). Makrophagen mit ausgeprägter Phagozytose von Erythrozyten und/oder Leukozyten wurden in jeweils einem Leberpräparat und einem Lymphknotenaspirat ( $1/6 = 17\%$ ), sowie in zwei Milzpräparaten ( $2/9 = 22\%$ ) nachgewiesen.

Während bei der Betrachtung der hämatologischen und blutchemischen Veränderungen bzw. der Befunde der bildgebenden Untersuchungen bei einigen Hunden die Ergebnisse dieser Untersuchungen eindeutig für die eine oder die andere Tumorform sprachen, unterstützen die Befunde der Zytologie im Hinblick auf eine Tumorunterscheidung nur in einigen Fällen die vorher festgelegte Tumorzuzuordnung.

So sprachen bei Berner Sennenhund 5, 7 und 24 sowohl die vorliegende Hypocholoesterinämie als auch das Organverteilungsmuster für das Vorliegen eines hämophagozytären histiozytären Sarkoms: Jeder dieser Hunde zeigte auch in einem der zytologisch untersuchten Organe (BSH 5: Milz, BSH 7: Knochenmark, BSH 24: Leber) die bei der hämophagozytären Tumorvariante zu erwartenden phagozytotisch aktiven Makrophagen. Bei Berner Sennenhund 7 und 24 wiesen die histiozytären Zellen, die sich in zytologischen Präparaten aus anderen Organen fanden, jedoch nicht die typischen Kriterien von Makrophagen auf, was die Befunde uneindeutig macht oder für das Vorliegen der von MOORE et al. (2006) beschriebenen Mischform sprechen.

Von den fünf Hunden (BSH 3, 6, 11, 13, 14) mit einer für ein histiozytäres Sarkom typischen Tumorverteilung zeigte nur Berner Sennenhund 13 in den zytologischen

Ausstrichen der Lunge die typischen morphologischen Kriterien eines histiozytären Sarkoms, während drei der anderen Hunde in verschiedenen untersuchten Organen morphologisch unterschiedliche histiozytäre Zellen aufwiesen. Bei Berner Sennenhund 11 waren nur zytologische Präparate aus dem Knochenmark angefertigt worden, welche keine Tumorzellen enthielten.

Bei vier Hunden (BSH 17, 18, 22, 25) fielen in allen untersuchten zytologischen Präparaten, die Tumorzellen enthielten, zahlreiche histiozytäre Zellen der Gruppe 1 auf, womit bei diesen Hunden anhand der Zytologie der Verdacht auf ein histiozytäres Sarkom dendritischen Ursprungs bestand. Anhand der Befunde der Blutuntersuchungen und der bildgebenden Diagnostik war dies bei allen diesen Hunden möglich.

Teilweise war die zytomorphologische Festlegung der histiozytären Zellen im Hinblick auf ein zugrunde liegendes histiozytäres Sarkom (Gruppe 1) oder ein hämophagozytäres histiozytäres Sarkom (Gruppe 2) schwierig, was den hohen Anteil an Präparaten, die der Gruppe 3a und 3b zugeordnet wurden, zeigt. Da zum Zeitpunkt der Planung unserer Studie die hämophagozytäre Variante des histiozytären Sarkoms noch nicht bekannt war und damit Oberflächenmarker zur Unterscheidung nicht existierten, konnte keine immunhistologische Differenzierung der verschiedenen Formen des histiozytären Sarkoms durchgeführt werden, so dass die zugrunde liegende Zellmorphologie (Makrophage, dendritische Zelle) der Patienten unserer Studie nicht bewiesen werden konnte. So wird es in der Zukunft zur Absicherung unserer Daten weiterer klinischer Studien bedürfen, die mittels Biopsie und Immunhistologie die zugrunde liegende Ursprungszelle (Makrophage oder dendritische Zelle) sicher beweisen und mit den Befunden der Klinik, der Bildgebung und den Befunden der Blutuntersuchung, sowie den zytomorphologischen Besonderheiten vergleichen. Ein gesondertes Augenmerk sollte in diesem Fall auch auf die zytologische Beschreibung der Tumorzellen bei beiden Formen gelegt werden, um herausstellen, inwieweit eine zytologische Unterscheidung der Tumorvarianten in Zukunft möglich sein wird. In diesem Sinne muß in Zukunft bei Hunden mit histiozytärem Sarkom das Ziel eine sichere histopathologische Differenzierung der beiden Erkrankungsformen sein, um einerseits die von MOORE et al. (2006) aufgestellte These einer klinischen Unterscheidbarkeit zu untermauern und andererseits weitere Erkenntnisse zu klinischem Verlauf, Ansprechbarkeit auf Therapie und Prognose des

hämophagozytären histiozytären Sarkoms im Vergleich zum histiozytären Sarkom dendritischen Ursprungs zu erlangen.

Tab. 21: Tabellarische Darstellung der zytologischen Veränderungen in verschiedenen Organen. Die Morphologie der vorhandenen Tumorzellen wird nach der im Material- und Methodenteil festgelegten Einteilung beschrieben.

	<b>Lunge</b>	<b>Leber</b>	<b>Milz</b>	<b>LK</b>	<b>Haut</b>	<b>KM</b>
<b>BSH 1</b>	<b>1</b>	-	-	-	-	-
<b>BSH 2</b>	sonstiges	-	-	-	-	-
<b>BSH 3</b>	<b>3b</b>	-	-	-	-	obB
<b>BSH 4</b>	<b>1</b>	-	-	-	sonstiges	obB
<b>BSH 5</b>	-	-	<b>2</b>	-	-	obB
<b>BSH 6</b>	-	-	<b>2</b>	<b>3a</b>	sonstiges	sonstiges
<b>BSH 7</b>	-	-	<b>1</b>	-	-	<b>2</b>
<b>BSH 8</b>	-	-	-	<b>1</b>	-	obB
<b>BSH 9</b>	-	<b>1</b>	<b>3b</b>	-	-	sonstiges
<b>BSH 10</b>	-	-	-	-	-	-
<b>BSH 11</b>	-	-	-	-	-	obB
<b>BSH 12</b>	-	sonstiges	sonstiges	sonstiges	<b>1</b>	<b>3a</b>
<b>BSH 13</b>	<b>1</b>	sonstiges	sonstiges	-	sonstiges	sonstiges
<b>BSH 14</b>	<b>1</b>	<b>3a</b>	obB	-	-	<b>1</b>
<b>BSH 15</b>	-	<b>1</b>	sonstiges	-	-	<b>3a</b>
<b>BSH 16</b>	-	-	-	-	-	obB
<b>BSH 17</b>	<b>1</b>	-	<b>1</b>	-	-	<b>1</b>
<b>BSH 18</b>	-	<b>n.a.</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	sonstiges
<b>BSH 19</b>	-	sonstiges	sonstiges	<b>2</b>	<b>1</b>	sonstiges
<b>BSH 20</b>	-	-	-	-	-	obB
<b>BSH 21</b>	-	-	-	-	-	<b>1</b>
<b>BSH 22</b>	-	sonstiges	sonstiges	<b>1</b>	<b>1</b>	sonstiges
<b>BSH 23</b>	-	-	-	<b>n.a.</b>	-	<b>1</b>
<b>BSH 24</b>	-	<b>2</b>	<b>3a</b>	-	-	<b>3b</b>
<b>BSH 25</b>	-	<b>1</b>	<b>1</b>	-	<b>1</b>	sonstiges
<b>BSH 26</b>	-	-	<b>3a</b>	-	-	<b>1</b>

n.a.: nicht auswertbar, da sehr geringer Zellgehalt

## 6.2.8 Differenzierung zwischen reaktiver Histiozytose und histiozytärem Sarkom

Im Rahmen der Studie sollten sowohl Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom, als auch Berner Sennenhunde mit einer systemischen Histiozytose den hier aufgeführten Untersuchungen (inkl. Knochenmarkpunktion) unterzogen werden, da wir vor allem die zytologische Unterscheidbarkeit der histiozytären Erkrankungen untereinander vergleichen wollten. Während im angloamerikanischen Raum die systemische Histiozytose als relativ häufig beschrieben wird (Moore 1984; Affolter and Moore 2000), wurde im Untersuchungszeitraum kein BSH mit systemischer Histiozytose in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, vorgestellt, so dass keine vergleichenden zytologischen Untersuchungen vorgenommen werden konnten.

In der einzigen Studie, in der Angaben zur Vorkommenshäufigkeit der systemischen Histiozytose in Europa gemacht wurden, wird die systemische Histiozytose im Vergleich zum histiozytären Sarkom als sehr selten beschrieben (Voegeli, Welle et al. 2006). Von 54 Berner Sennenhunden waren 51 an einem histiozytären Sarkom und nur 3 Tiere an einer systemischen Histiozytose erkrankt. Diese Daten decken sich somit mit unseren Beobachtungen, dass die systemische Histiozytose in Deutschland sehr selten zu sein scheint, was sich durch unterschiedliche Stammbäume der Hunde in den USA und Europa erklären lassen kann. Die von VOEGELI et al. (2006) geäußerte Vermutung, dass die systemische Histiozytose „nur nicht erkannt wird“, halten wir für unwahrscheinlich, da im Untersuchungszeitraum die Sensibilisierung der Mitarbeiter der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, im Bezug auf eine mögliche histiozytäre Erkrankung bei allen vorgestellten Berner Sennenhunden sehr hoch war.

Eine andere mögliche Erklärung für das Fehlen jeglichen Hundes mit systemischer Histiozytose in 4 Jahren könnte an der Aufteilung der Klinik für Kleintiere in die Innere Medizin und die Chirurgie liegen. Die für den Besitzer zunächst am ehesten auffallenden Symptome bei der systemischen Histiozytose äußern sich zunächst in Hauttumoren und Augenveränderungen. Da Hunde mit Hauttumoren oft in der Chirurgie zur Tumorexzision vorgestellt werden und weiterhin die ophtalmologische Abteilung der Obhut der Kleintierchirurgie unterliegt, ist es denkbar, daß ein Teil der Patienten mit systemischer Histiozytose in der Chirurgie vorgestellt wurde und somit nicht in unseren Datenerhebungsbereich gefallen sind.

## 6.3 Auswertung Knochenmarkpunktion

Wie bereits erwähnt, kann anhand von klinischen und weiterführenden Untersuchungen schnell die Verdachtsdiagnose histiozytäres Sarkom gestellt werden. Zur sicheren Diagnosestellung ist jedoch eine Feinnadelaspiration oder eine Biopsie zur sicheren zytomorphologischen oder histopathologischen Diagnosestellung unumgänglich.

Wie sich auch bei unseren Patienten zeigte, kann die Entnahme aus tumorverdächtigen Organen durch eine ungünstige anatomische Lage der Veränderung (z.B. alleinige Vergrößerung der hilären Lymphknoten) oder durch das Vorliegen einer Thrombozytopenie erschwert oder sogar unmöglich werden. Die Durchführung einer Feinnadelaspiration aus dem Knochenmark ist hingegen fast immer möglich und einfach durchzuführen. Keiner der Hunde in unserer Arbeit zeigte punktionsbedingte Blutungen.

Im letzten Teil der Arbeit sind wir deshalb der Frage nachgegangen, wie häufig bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom bei routinemäßig entnommenen Knochenmarkpunktionen ein zytologischer Tumornachweis im Knochenmark gelingt, und in wie weit die Knochenmarkpunktion somit zur Verbesserung der Diagnostik dieses Tumors beitragen kann. Im gleichen Zusammenhang sollen einige Aspekte der Auswirkungen des Tumors auf andere Zellreihen aufgezeigt werden.

## 6.3.1 Histozytäre Zellen im Knochenmark

### 6.3.1.1 Vorkommenshäufigkeit von histozytären Tumorzellen

In den Daten unserer Arbeit konnten bei 39% (9/23) der Berner Sennenhunde atypische histozytäre Zellen im Knochenmark festgestellt werden, wobei sich nur bei 9% der Hunde (2/23) die zur Abgrenzung von anderen histozytären Erkrankungen charakteristischen Riesenzellen fanden. Bei reiner Betrachtung der zytologischen Knochenmarkpräparate ohne die Klinik des Hundes, das Verteilungsmuster der Läsionen und/oder die Beurteilung zytologischer Präparate aus anderen Organen war in unseren Daten somit nur bei zwei Berner Sennenhunden (BSH 21 und 23), die beide histozytäre Riesenzellen und mehr als 10% Tumorzellen im Knochenmark aufwiesen, anhand der Knochenmarkausstriche alleine die Diagnosestellung histozytäres Sarkom möglich. Bei den anderen sieben Hunden (30%) mit atypischen histozytären Zellen im Knochenmark konnte nur eine histozytäre Erkrankung ohne nähere Differenzierung festgestellt werden. Die Frage, woher sich der Unterschied zu den bisherigen Arbeiten ergibt, die eine Tumorerkrankung des Knochenmarkes bei 31%-91% der Hunde mit histozytärem Sarkom beschreiben, erscheint bei genauer Betrachtung der bisherigen Literatur erklärbar.

So wurde in drei der größeren Studien (Kohn, Arnold et al. 1993; Affolter and Moore 2002; Moore, Affolter et al. 2006) histologisches Material untersucht, welches im Rahmen von Sektionen entnommen wurde. Im Rahmen einer Sektion ist es möglich, gezielt Knochenmark aus makroskopisch veränderten Knochenbereichen zu entnehmen, was die Wahrscheinlichkeit, Tumorzellen zu finden, erhöht. In diesen drei Arbeiten fanden sich so bei 31% (Kohn, Arnold et al. 1993), bzw. bei 55% (Affolter and Moore 2002) und bei 91% (Moore, Affolter et al. 2006) der untersuchten Hunde Tumorzellen im Knochenmark. Angaben über den prozentualen Anteil an Tumorzellen im Verhältnis zu den sonstigen Vorläuferzellen fehlen in diesen Veröffentlichungen.

Die vierte größere Studie (Weiss 2006), die eine Tumorerkrankung des Knochenmarkes bei Hunden mit histozytärem Sarkom beschreibt, untersuchte zytologische Knochenmarkpräparate allerdings mit einer anderen Zielsetzung als unsere Arbeit. Die hier erwähnten 11 Hunde mit histozytärem Sarkom fallen in eine Gruppe von 717 Hunden, deren Knochenmarkausstriche im Hinblick auf eine

Klassifizierung von Knochenmarkerkrankungen untersucht wurden. Der Grund, warum bei den Hunden mit histiozytärem Sarkom eine Knochenmarkaspiration durchgeführt worden war, wird nicht erwähnt, allerdings erscheint es wahrscheinlich, dass es hämatologische Veränderungen waren. Wie viele Hunde mit histiozytärem Sarkom keine Knochenmarkinfiltration oder einen unklaren Knochenmarkbefund zeigten, bleibt unerwähnt.

Bleiben noch die vier Einzelfallberichte über eine zytologisch nachweisbare Knochenmarkbeteiligung bei Hunden mit histiozytärem Sarkom (Wellman, Davenport et al. 1985; Newlands, Houston et al. 1994; Weiss 2001; Dobson, Villiers et al. 2006), die eine häufige Tumorzellinfiltration des Knochenmarkes vermuten lassen, da sich in 6 von 7 untersuchten Knochenmarkproben Tumorzellen fanden. Da es sich hierbei aber nur um wenige Einzelfälle handelt, konnte auch hier von keinem der Autoren eine Aussage über die Häufigkeit einer zytologisch nachweisbaren Knochenmarkinfiltration bei Hunden mit histiozytärem Sarkom gemacht werden.

Aufgrund der von uns durchgeführten routinemäßigen Knochenmarkaspiration bei 23 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom erlauben unsere Daten somit erstmalig genaue Angaben zur Häufigkeit einer zytologisch nachweisbaren Tumorzellinfiltration im Knochenmark in vivo bei Hunden mit histiozytärem Sarkom. Anders als die bisherigen Veröffentlichungen vermuten lassen, konnte in unserer Arbeit nur bei 9% der Hunde anhand der Knochenmarkuntersuchung die Diagnose histiozytäres Sarkom gestellt werden.

#### 6.3.1.2 Anteil der histiozytären Tumorzellen

Weiterhin ergaben unsere Daten durch die Anfertigung von Myelogrammen bei allen 23 vorliegenden Knochenmarkausstrichen interessante neue Erkenntnisse über den Anteil an Tumorzellen im Knochenmark im Verhältnis zu physiologischen Vorläuferzellen.

Während in den meisten Arbeiten (siehe Tabelle 4, Seite 40) überhaupt keine Angaben zum Anteil der Tumorzellen im Knochenmark vorliegen (Kohn, Arnold et al. 1993; Newlands, Houston et al. 1994; Affolter and Moore 2002; Dobson, Villiers et al. 2006; Moore, Affolter et al. 2006), bleiben die Angaben in der Arbeit von Wellmann et al. (1985) mit „zahlreichen Tumorzellen“ nur ungenau. Die einzigen Studien, in denen

sich, soweit dem Autor bekannt, bisher Angaben zum Tumoranteil finden, sind zwei Veröffentlichungen von Weiss (Weiss 2001; Weiss 2006), in denen der Autor bei allen aufgeführten Hunden eine Infiltration mit mehr als 30% histiozytären Tumorzellen im Knochenmark beschreibt. Hier finden sich Widersprüche zu den von uns untersuchten Knochenmarkausstrichen: Während Weiss (2006) als eines der Hauptkriterien zur Abgrenzung zwischen einem histiozytären Sarkom und einem hämophagozytären Syndrom eine Infiltration mit mehr als 30% Tumorzellen im Knochenmark beschreibt, zeigte keiner der Berner Sennenhunde in unserer Arbeit 30% oder mehr Tumorzellen in den zytologischen Knochenmarkausstrichen, so dass dieses Kriterium, basierend auf unseren Ergebnissen zur Differenzierung der Erkrankungen, nicht weiter herangezogen werden sollte. Die beiden Berner Sennenhunde unserer Gruppe mit den meisten Tumorzellen im Knochenmark erreichten mit 19,9% (BSH 21) und 11,67% (BSH 24) bei weitem nicht die von WEISS (2006) proklamierte Grenze von 30%. Bei den anderen sieben Hunden mit atypischen histiozytären Zellen im Knochenmark waren sogar kaum mehr als 2% Tumorzellen (0,09%-2,66%) im Verhältnis zu physiologischen Vorläuferzellen nachweisbar.

Somit müssen die zytologischen Kriterien, die von Weiss zur Abgrenzung zwischen einem histiozytären Sarkom und einem gutartigen hämophagozytären Syndrom definiert wurden, erweitert werden: Zwar spricht das Vorliegen von mehr als 30% Tumorzellen, wie von Weiss definiert, nach wie vor für das Vorliegen eines histiozytären Sarkomes. Allerdings konnte bei keinem von 23 Hunden mit histiozytärem Sarkom in unserer Gruppe eine auch nur annähernd so hohe Infiltration nachgewiesen werden, so dass eine reine Abgrenzung der verschiedenen histiozytären Erkrankungen anhand des prozentualen Tumorzellanteils in Zukunft vermieden werden sollte.

### 6.3.1.3 Auszählungsmethoden der histiozytären Tumorzellen

Beim Vergleich der beiden von uns durchgeführten Auszählungsmethoden der histiozytären Zellen erwies sich die zeitabhängige Auszählung der prozentualen Auszählung, bezogen auf die Detektion von „Tumorzellen“, als geringgradig überlegen. So fanden sich bei der prozentualen Auszählung der 9 Hunde mit

atypischen histiozytären Zellen 2 Hunde (BSH 14 und 17) mit einer physiologischen Anzahl an histiozytären Zellen, während bei der zeitabhängigen Auszählung nur bei BSH 14 ein physiologischer Anteil an histiozytären Zellen auffiel. Bei beiden Methoden konnte jeweils ein Hund mit einer erhöhten Anzahl an physiologischen histiozytären Zellen (BSH 13: zeitabhängige Auszählung, BSH 22: prozentuale Auszählung) nachgewiesen werden.

Anhand dieser Tatsache kann also gezeigt werden, dass zur Detektion von histiozytären Tumorzellen im Knochenmark keine routinemäßige Anfertigung von Myelogrammen durchgeführt werden muß. Die genaue Musterung des zytologischen Präparates nach Tumorzellen scheint, soweit dies anhand der geringen Fallzahl gesagt werden kann, die sensitivere Methode zu sein. Diese Tatsache ist dadurch zu erklären, dass bei einem Durchmustern des Präparates selektiver nach histiozytären Zellen gesucht wird und dabei in der Regel weitaus größerer Bereiche bzw. mehr als 1000 Zellen in die Beurteilung einfließen können.

#### 6.3.1.4 Morphologie der histiozytären Tumorzellen

Die von WEISS genannten morphologischen Kriterien (2001 und 2006), die ein histiozytäres Sarkom charakterisieren und zur Abgrenzung zwischen einem histiozytären Sarkom und einem benignen hämophagozytären Syndrom dienen, weisen hingegen starke Übereinstimmungen mit unseren Untersuchungen auf. Die Morphologie der von uns untersuchten histiozytären Zellen war -wie auch von WEISS (2001 und 2006) beschrieben- variabel und reichte von wenigen inaktiven Makrophagen (BSH 14 und 15) ohne Malignitätskriterien über histiozytäre Zellen mit Anisozytose, Anisokaryose, erhöhtem Kern-Zytoplasma-Verhältnis, Makronukleose und feinen, hellen, intrazytoplasmatischen Vakuolen mit zum Teil atypischen Mitosefiguren (BSH 23). Eine Zytophagie war sowohl bei uns als auch bei WEISS (2006) in allen Ausstrichen vorhanden, jedoch nur bei einem geringen Prozentsatz ein dominierendes Kriterium. Die für ein histiozytäres Sarkom charakteristischen „Riesenzellen“ konnten in unserer Arbeit nur bei 2/9 (22%) der Hunde mit Tumorzellen im Knochenmark nachgewiesen werden. Das inkonstante Vorkommen von Riesenzellen in zytologischen Präparaten deckt sich damit auch mit verschiedenen Angaben in der Literatur (Brown, Thrall et al. 1994; Weiss 2001; Weiss 2006).

### 6.3.2 Differenzierung hämophagozytäres histiozytäres Sarkom zu histiozytärem Sarkom

Ein weiterer interessanter Punkt bei der Betrachtung der zytologischen Knochenmarkpräparate ist die Frage, inwieweit eine Unterscheidung der beiden Varianten des Tumors (histiozytäres Sarkom: dendritische Zelle versus hämophagozytäres histiozytäres Sarkom: Markophage) möglich ist, zumal laut Moore et al. (2006) eine Knochenmarkinfiltration bei 91% aller Hunde mit hämophagozytärem histiozytärem Sarkom sehr häufig ist. Lediglich bei einem der neun Hunde (BSH 7) mit einer Knochenmarkinfiltration dominierten phagozytotisch aktive Makrophagen, so dass hier anhand der Zellmorphologie die hämophagozytäre Variante vermutet werden kann. Zwei weitere Hunde (BSH 5 und 24), bei denen sowohl das Organverteilungsmuster als auch die Blutwerte für das Vorliegen eines hämophagozytären histiozytären Sarkoms sprechen können, zeigten keine (BSH 5) histiozytären Zellen im Knochenmark, oder die vorhandenen histiozytären Zellen lagen als Mischform zwischen den beiden Varianten vor (Gruppe 3b, BSH 24).

Zur sicheren Klärung, inwieweit sich zytologische Knochenmarkuntersuchungen zukünftig zur Unterscheidung der beiden Tumorvarianten eignen, müssen jedoch immunhistologische Methoden in Kombination mit einer unabhängigen zytologisch-morphologischen Untersuchung kombiniert werden.

### 6.3.3 Veränderungen anderer Zellreihen

Beim Vergleich der anderen Zellreihen im Knochenmark zwischen den Myelogrammen der Berner Sennenhunde und den 10 Beagle Hunden ergaben sich bei einigen Zellreihen Unterschiede innerhalb der Mittelwerte oder der Varianzen der beiden Hundegruppen.

Während sich im Hinblick auf die Mittelwerte vor allem unspezifische Unterschiede innerhalb einzelner kleinerer Zellgruppen ergaben (z.B. eosinophile Promyelozyten), zeigten die Varianzen anderer Zellgruppen zum Teil deutliche Unterschiede z.B. bei einigen anteilmäßig größeren Vorläuferzellen, wie den oxiphilen Normoblasten, und im Bereich der Monopoese. Da der Monozyt als histiozytäre Vorläuferzellen beim

histiozytären Sarkom eine gesonderte Rolle spielt, soll im Folgenden noch im Detail auf die Besonderheiten der Monopoese im Knochenmark und der Monozyten im peripheren Blut der untersuchten 33 Hunde eingegangen werden.

### 6.3.3.1 Monopoese

Die Monopoese der Berner Sennenhunde lag mit einem Mittelwert von  $7,1\% \pm 0,7\%$  ( $1,57\% - 14,1\%$ ) über dem Mittelwert von  $4,7 \pm 0,5\%$  der gesunden Beagle-Gruppe ( $2,62\% - 7,66\%$ ). Bei 10/23 (43%) Berner Sennenhunden fiel ein erhöhter Anteil an monozytären Vorläuferzellen auf, der den oberen Wert von  $7,66\%$  monozytärer Vorläuferzellen bei der Kontrollgruppe überstieg. Interessanterweise fanden sich auch 2 Berner Sennenhunde ( $8,7\%$ ), die den unteren Referenzbereich der gesunden Kontrollgruppe ( $< 2,62\%$ ) unterschritten. Die restlichen 11/23 Hunde lagen mit dem Anteil der Monopoese im Bereich der gesunden Kontrollgruppe.

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang die Frage, inwieweit sich bei den Hunden mit einer gesteigerten Monopoese auch vermehrt histiozytäre Tumorzellen im Knochenmark fanden. Die von uns erhobenen Daten zeigen, dass keine eindeutigen Rückschlüsse von der Monopoese auf das Vorhandensein von zytologisch nachweisbaren Tumorzellen im Knochenmark gezogen werden können. So wurden bei 4 der 10 Berner Sennenhunde mit einer gesteigerten Monopoese physiologische Makrophagen im Knochenmark nachgewiesen, während 3 Hunde mit zytologisch nachweisbaren Tumorzellen eine physiologische Monopoese aufwiesen. Bei den 6 anderen Berner Sennenhunden mit histiozytären Tumorzellen fand sich ein Anteil an monozytären Vorläuferzellen, der den oberen von der Kontrollgruppe festgelegten Wert von  $7,66\%$  überschritt. Aber auch bei diesen 6 Hunden korrelierte die Anzahl an histiozytären Tumorzellen nicht mit dem Anteil an monozytären Zellen. Die beiden Berner Sennenhunde mit dem höchsten Tumoranteil im Knochenmark (BSH 21:  $19,9\%$  und BSH 23:  $11,67\%$ ) zeigten mit  $8,16\%$  (BSH 21) und  $8,57\%$  (BSH 23) monozytären Vorläuferzellen nur eine geringgradig gesteigerte Monopoese, während der Hund mit dem höchsten Anteil an monozytären Vorläuferzellen (BSH 14 mit  $14,1\%$  monozytären Vorläuferzellen) nur  $0,09\%$  atypische histiozytäre Zellen im Knochenmark aufwies.

Bei der Gegenüberstellung der Monopoese und einer Tumordinfiltration des Knochenmarkes muß bedacht werden, dass die Monozyten nicht nur Vorläuferzellen der histiozytären Tumorzellen, sondern auch der physiologischen Makrophagen im Gewebe darstellen. Alle Situationen, in denen eine erhöhte Anzahl an Makrophagen benötigt wird, werden demnach durch eine erhöhte Knochenmarkproduktion von Monozyten begleitet. Eine reaktive Monozytose und damit auch eine vermehrte Stimulation der Monopoese im Knochenmark findet sich neben zahlreichen entzündlichen Erkrankungen und Erkrankungen, die mit Gewebsnekrose einhergehen, auch bei verschiedenen Neoplasien oder einem Kortisolexzess (Bienzle 2000).

Ein weiterer Punkt, der die schlechte Vergleichbarkeit der Monopoese mit dem Anteil an histiozytären Tumorzellen im Knochenmark erklären kann, ist die Tatsache, dass es sich beim histiozytären Sarkom um einen Tumor mit verschiedenen Organlokalisationen handelt, und dass das Knochenmark als Tumorlokalisation eine im Vergleich zu anderen Organen geringere Rolle zu spielen scheint, als bisher angenommen wurde. Eine Korrelation zwischen dem Tumoranteil in anderen Organen als dem Knochenmark und der Monopoese im Allgemeinen ist jedoch anhand unserer Daten nicht möglich, da keine absolute Quantifizierung der Tumorzellen in anderen Organen durchgeführt wurde.

Anhand der Physiologie der Monopoese und den vielfältigen Aufgaben der Monozyten ist es somit logisch, dass ein großer Anteil (43,5%) der Berner Sennenhunde (10/23) mit histiozytärem Sarkom in unserer Studie eine gesteigerte Monopoese zeigte. Nicht so klar ersichtlich ist das bei den beiden Hunden, die durch eine verminderte Monopoese auffielen. Bei diesen Hunden ist es wichtig, die anderen Zellreihen in die Interpretation mit einzubeziehen. Bei beiden Hunden zeigte das Knochenmark eine deutliche Steigerung der Erythropoese, die als Kompensation der in der Peripherie bestehenden Anämie vorlag. Somit handelt es sich bei beiden Hunden vermutlich nicht um eine absolute Verminderung der Monopoese, sondern nur um eine, im Vergleich zur hochgradig gesteigerten Erythropoese, relative Verminderung der Monopoese.

### 6.3.3.2 Monopoese im allgemeinen Literaturvergleich

Bei der Auswertung der Monopoese fielen weiterhin Unterschiede zwischen dem prozentualen Anteil an monozytären Vorläuferzellen bei der gesunden Kontrollgruppe aus 10 Beagle-Hunden mit den Literaturangaben bei gesunden Hunden auf. Alle dem Autor bekannten Arbeiten, die Myelogramme gesunder Hunde erstellt haben (siehe Tabelle 22), geben einen deutlich niedrigeren Referenzbereich für die Monopoese an, als er von uns bei den 10 Beagle Hunden ausgezählt wurde, obwohl die Angaben auch zwischen den Autoren schwanken. Ebenso finden sich im Literaturvergleich deutliche Unterschiede im Anteil der Histozyten im Knochenmark. Eine Erklärung für die deutlichen Unterschiede des prozentualen Anteils der Monopoese der von uns untersuchten Beagel zur bisherigen Literatur kann sich durch die in der Literatur zum Teil beschriebene schwere Unterscheidbarkeit zwischen den monozytären Vorläuferzellen und frühen Zellen der neutrophilen Granulopoese ergeben. So behaupten einige Autoren, dass Myeloblasten nicht von Monoblasten unterschieden werden können, und dass die Promonozyten eine Ähnlichkeit zu Myelozyten und Metamyelozyten aufweisen (Harvey 2001; Grindem, Tylor et al. 2008). Andere Autoren (Helmin and Saar 1984) hingegen beschreiben lichmikroskopisch nachweisbare Unterschiede zwischen den verschiedenen Formen der Monopoese und der Granulopoese. Die von HELMIN und SAAR (1984) genannten Kriterien zur Abgrenzung zwischen der Monopoese und der Granulopoese, wie die Zellgröße (Monopoese > Granulopoese), das Zytoplasma (Monozyten zeigen basophileres Zytoplasma) und die Chromatinstruktur (Monozyten mit gröber retikulär strukturierter basophilerer Chromatinstruktur), waren auch die für uns geltenden Kriterien zur Unterscheidung der Zellreihen.

Da im Rahmen unserer Studie keine immunzytologische Differenzierung der Vorläuferzellen vorgenommen wurde, bleibt offen, ob in unseren Daten eine Überschätzung der Monopoese erfolgte, oder ob in bisherigen Arbeiten eine Unterschätzung der monozytären Vorläuferzellen vorlag.

Die Vergleichbarkeit der Myelopoese der erkrankten 23 Hunde mit der gesunden Kontrollgruppe aus 10 Tieren ist in unserer Arbeit aber sichergestellt, da die Auszählung der Myelogramme aller 33 Hunde innerhalb einer kurzen Zeit von einer Person (Autor) durchgeführt wurde, die bei der Abgrenzung der Zellreihen immer die gleichen Kriterien heranzog.

Tabelle 22: Myelogramme klinisch gesunder, erwachsener Hunde von 8 Autoren der Jahre 1952-2002

	(Horn, Jahn et al. 1952)	(Melveger 1969)	(Penny 1974)	(Spurling 1977)	(Keller and Freudiger 1983)	(Meinkoth and Clinkenbeard 2000)	(Harvey 2001)	(Mischke, Busse et al. 2002)
Eigene Daten								
Monopoese	0,065%	0	k.A.	0,18%	0,0-0,4%	k.A.	0,4-2,0 %	0,1-1,8%
Histiozyten	5,32 %	0,34%	0,18%	0,39%	0,0-2,1%	0,4 ± 0,2%	0-0,4%	0,1-1,7%

### 6.3.4 Vergleich Knochenmark und Hämatologie

Der letzte Abschnitt der Arbeit betrachtet mögliche Zusammenhänge zwischen den Monozyten im peripheren Blut sowie der Monopoese einerseits und den histiozytären Zellen im Knochenmark andererseits. Unserer Daten zeigen klar, dass bei Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom anhand der Monozytenzahl im Blut keine Abschätzung der Monopoese im Knochenmark vorgenommen werden kann. Nur die Hälfte der Hunde mit einer gesteigerten Monopoese fiel durch eine Monozytose im Blut auf. Dies galt auch für den umgekehrten Fall, da nur 5 der 11 Hunde (45,5%) mit einer Monozytose im Blut eine Steigerung der Monopoese zeigten.

Eine Ursache für die schlechte Korrelation zwischen der Monopoese im Knochenmark und der Monozytenzahl im Blut lässt sich bei Kenntnis der Physiologie der Monozytenreifung und Differenzierung erklären: Im Gegensatz zu Granulozyten besitzt das Knochenmark keinen Speicher für Monozyten. Nach der Ausreifung wandern die Monozyten unmittelbar ins periphere Blut aus, von wo aus sie bei Bedarf ins Gewebe auswandern und sich zu Makrophagen differenzieren. Somit spiegelt sich ein erhöhter Gewebebedarf an Monozyten -anders als bei Granulozyten, wo dieser klassischerweise durch eine Neutrophilie begleitet wird- nicht zwangsweise durch eine Monozytose wieder (Bienzle 2000). Aus diesem Grund ist es auch nicht weiter verwunderlich, dass eine Tumordinfiltration des Knochenmarks nur bei 56% der Hunde (5/9) mit einer peripheren Monozytose vergesellschaftet war.

Abschließend bleibt also festzuhalten, dass die Messung der peripheren Monozytenzahl keinerlei Rückschlüsse auf eine mögliche Tumordinfiltration des Knochenmarks und/oder auf die absolute Zahl der Monopoese zulässt.

## 7 ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit verschiedenen Aspekten des histiozytären Sarkoms beim Berner Sennenhund.

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Diagnosen von 708 in 13 Jahren (01.06.1994-31.05.2007) an der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin der Justus-Liebig Universität Gießen vorgestellten Berner Sennenhunde retrospektiv mit dem Ziel ausgewertet, die Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms herauszuarbeiten. Bei 8,2 % dieser Berner Sennenhunde konnte zweifelsfrei ein histiozytäres Sarkom diagnostiziert werden, bei weiteren 7,5% war anhand der vorliegenden Daten ein histiozytäres Sarkom möglich. Aufgrund unserer Daten konnte somit das erste Mal eine genaue Angabe zur Vorkommenshäufigkeit des histiozytären Sarkoms an einer Klinikpopulation von Berner Sennenhunden gemacht werden. Der hohe Anteil dieser bisher nicht therapierbaren und vererbaren Erkrankung in der Berner Sennenhundepopulation in Deutschland sollte ein Anstoß für die Züchter sein, durch gezielte züchterische Maßnahmen gegen genetisch disponierte Erkrankungen zu selektieren, um damit die Langlebigkeit der Rasse zu verbessern.

Der zweite Teil der Arbeit beinhaltet die klinische Aufarbeitung von 26 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom, die in einem Zeitraum von 3,5 Jahren (01.12.2004-31.05.2007) in der Klinik für Kleintiere, Innere Medizin, vorgestellt worden waren. Neben der Beurteilung der Ergebnisse der klinischen Untersuchungen der Hunde erfolgte die Auswertung von Blutuntersuchungen (Hämatologie und klinische Chemie), von bildgebenden Verfahren (Sonographie und Röntgen) sowie von zytologischen Feinnadelaspiraten aus veränderten Organen. In Ergänzung zu bereits in der Literatur beschriebenen Befunden (Symptome, klinisches Erscheinungsbild, Blutbefunde, anatomische Lokalisation des Tumors etc.) ergaben sich unter anderem folgende neue Erkenntnisse: Es konnte erstmalig ein Wert für die mittlere Überlebenszeit nach Diagnosestellung von erkrankten Hunde konkretisiert werden:  $33,3 \pm 44,4$  Tage. Außerdem konnte gezeigt werden, dass mittels zytologischer Untersuchungen aus veränderten Organen bei 84% der Patienten eine sichere Diagnosestellung möglich war und nicht wie bisher proklamiert die Diagnose histiozytäres Sarkom nur mittels Biopsie und Immunhistochemie gestellt werden kann. Ein weiterer interessanter Aspekt war die Tatsache, dass im Untersuchungszeitraum kein Hund mit systemischer Histiozytose vorgestellt wurde,

so dass die bisher aus der angloamerikanischen Literatur abgeleitete Annahme eines häufigen Vorkommens dieser Erkrankung beim Berner Sennenhund in Deutschland keine Gültigkeit zu haben scheint.

Im letzten Teil der Arbeit wurden bei 23 Berner Sennenhunden mit histiozytärem Sarkom zytologische Knochenmarkuntersuchungen durchgeführt, um festzustellen inwieweit diese Methode zur Verbesserung der Diagnostik des Tumors helfen kann. Anhand unserer Daten konnte gezeigt werden, dass eine zytologisch nachweisbare Tumordinfiltration im Knochenmark bei Hunden mit histiozytärem Sarkom (39%; 7/23 BSH) seltener ist als nach der bisherigen Literatur angenommen werden konnte. Eine zytologische Diagnosebestätigung anhand von Knochenmarkpunktionen allein gelang nur bei 9% aller Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom und verbesserte somit nicht, wie zu Beginn der Arbeit erhofft, die diagnostischen Möglichkeiten bei der Erkennung dieser Erkrankung. Die zytologische Knochenmarkuntersuchung kann in Zukunft aber als ergänzende Untersuchung vor allem im Hinblick auf eine bereits stattgefundene Metastasierung hilfreich sein.

Weiterhin konnte durch unsere Arbeit gezeigt werden, dass der prozentuale Anteil der histiozytären Zellen im Knochenmark mit 0,09% bis 19,9% zum Teil deutlich niedriger liegt, als der in der Literatur angegebene Wert von 30%. Diese Tatsache erschwert die Unterscheidbarkeit zwischen dem gutartigen hämophagozytären Syndrom und dem histiozytärem Sarkom, die sich bisher angeblich über den prozentualen Anteil der histiozytären Zellen im Knochenmark unterscheiden ließen.

## 8 SUMMARY

The present study investigates different aspects of histiocytic sarcoma in Bernese Mountain Dogs (BMD).

First, in order to determine the frequency of occurrence of histiocytic sarcoma within the Bernese Mountain Dog population, medical records of 708 Bernese Mountain Dogs presented to the Small Animal Clinic of the Justus-Liebig University (Internal Medicine department) over a period of 13 years (01.06.1994-31.05.2007) were retrospectively analysed with regards to the final diagnosis. In 8.2 % of these dogs, histiocytic sarcoma was diagnosed; and in another 7.5 % data were indicative of histiocytic sarcoma. This is the first report detailing the prevalence of histiocytic sarcoma in this defined dog population. The frequent finding of this non-curable, hereditary disease which carries a grave prognosis should prompt the breeders to improve their selection and breeding programs to support the longevity of the breed.

In the second part of the study, data of additional 26 Bernese Mountain Dogs with histiocytic sarcoma were studied retrospectively. They had been presented to the Small Animal Clinic (Internal Medicine department) over a period of 3.5 years (01.12.2004-31.05.2007). Besides assessing clinical data of these dogs, results of haematology and biochemistry panels, additional blood work performed, diagnostic imaging procedures (radiographs, ultrasound) and cytological findings from fine needle aspirates of different organs were also analysed. In addition to findings described in other studies (for example symptoms, clinical data, blood values, anatomical localisation of the tumour), new insights about the disease could be gained: For the first time the mean survival time of dogs with histiocytic sarcoma, was determined with  $33.3 \pm 44.4$  days from the time of diagnosis. It was demonstrated that cytological examination of abnormal organs could identify histiocytic sarcoma correctly in 84% of the cases, contradicting the belief that diagnosis of histiocytic sarcoma can only be made based on biopsy and immunohistochemistry. Interestingly, during the study period no dog with systemic histiocytosis was admitted to the hospital. As this is not consistent with previously published data, the present study may indicate that the prevalence of systemic histiocytosis in Bernese Mountain Dogs in Germany is not comparable to the USA.

In the last part of the study, cytologic examination of bone marrow aspirates from 23 Bernese Mountain Dogs with histiocytic sarcoma was performed, to investigate whether this method improves the diagnostic accuracy to detect the disease. Our data revealed a lower number of dogs with neoplastic infiltration of the bone marrow than previously reported (39%; 7/23 BMD). Making the definitive diagnosis of histiocytic sarcoma exclusively based on bone marrow cytology was possible in only 9% of all dogs. Thus, bone marrow cytology does not – as expected at the beginning of the study – improve diagnostic accuracy in detecting histiocytic sarcomas. However, bone marrow evaluation may provide useful additional information in the detection of metastatic disease.

Furthermore, we demonstrated a much lower percentage of histiocytic cells within the diseased bone marrow (0.09% to 19.9%) than reported in other studies (30%), a fact that may make differentiation of histiocytic sarcoma from benign haemophagocytic syndrome extremely difficult, as this was traditionally based on the percentage of histiocytic cells within the bone marrow.

## 9 ANHANG

### 9.1 Anhang Diagnosegruppen

#### **Diagnosegruppe Abdomen (14/708):**

Splenitis (4), Peritonitis nach Pyometra (3), Pankreatitis (3), Hämaskos (1), Pankreasabszess (1), Zubildung mit zystischem Charakter (1), Bauchkrämpfe unklarer Genese (1)

#### **Diagnosegruppe Atmungstrakt (30/708):**

Pneumonie inkl. Aspirationspneumonie (13), Bronchitis/Tracheobronchitis (5), eosinophile Tracheobronchitis (2), Bronchiektasie (1), bullöses Emphysem (1), Pyothorax (1), Pneumothorax nach Trauma (1), atelektatischer Lungenlappen (1), interstitielle Lungenzeichnung (1), Lungenödem (1), Lungenembolie (1), Erkrankung des Atmungstraktes ohne Diagnose (2)

#### **Diagnosegruppe Autoimmune Erkrankungen (16/708):**

Immunhämolytische Anämie (6), Allergie (6), Immunvermittelte Thrombopenie (2), Lupus Erythematodes (1), Systemische Histiozytose (1)

#### **Diagnosegruppe Bewegungsapparat (19/708)**

Diskopathie (3), Arthritis (2), Panostitis (1), Myositis (1), HWS-Syndrom (1), Fraktur HWS (1), Hüftgelenksdysplasie (1) orthopädisches Problem ohne Diagnose (9)

#### **Diagnosegruppe Blutbildende Organe (22/708):**

Anämie (10), Thrombopenie und Anämie (2), Panzytopenie (2), hämorrhagische Diathese (2), unklassifizierte histiozytäre Erkrankung (1), sekundäre Erythrozytose (1), Koagulopathie (1), hämophagozytäres Syndrom (1), Hämophilie B (1), myelodysplastisches Syndrom (1)

**Diagnosegruppe Endokrinologie (9/708):**

Diabetes mellitus (2), Hypoparathyreoidismus (2), Hypothyreose (2), Hypoadrenokortizismus (1), adrenaler Hyperadrenokortizismus (1), exokrine Pankreasinsuffizienz (1)

**Diagnosegruppe Genitaltrakt und harnableitende Wege (48/708):**

Pyometra (10), Benigne Prostatahyperplasie (9), Prostatazyste (8), Zystitis (8), Prostatitis (2), Vaginitis (2), Ovarialzysten (1), Prostataabszess (1), Mastitis (1), Glandulär-zystische Endometriumshyperplasie (1), Hämaturie (1), Inkontinenz (1), intravaginaler Abszess mit Peritonitis (1), Dysurie (1), gestauter Urether (1)

**Diagnosegruppe Haut und Haare (36/708):**

Dermatose (11), Dermatitis (8), Pyodermie (5), lokale Pyodermie (3), Sarkoptes (2), tiefe Pyodermie (2), Alopezie X (1), Ekzem (1), Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* (1), Hauterkrankung ohne Diagnose (2)

**Diagnosegruppe Herz-Kreislauf (44/708):**

Rhythmusstörungen (13), Herzabklärung ohne Befund (8), Persistierender Ductus Arteriosus = PDA (7), Subaortenstenose = SAS (4), Perikarderguß (3), Klappeninsuffizienzen (1), Rechtsherzvergrößerung (1), Fallotsche Tetralogie (1), Ventrikel Septum-Defekt =VSD (1), PDA und VSD (1), PDA und SAS (1), Dilatative Kardiomyopathie (1), Myocarditis und Lipomatosis cordis (1), Herzmißbildung mit Lungenödem (1)

**Diagnosegruppe Infektionskrankheiten (26/708):**

Parvovirose (16), Borreliose (6), Ehrlichiose (1), Babesiose (1), Myiasis (1), Infektion (1)

**Diagnosegruppe Lebererkrankungen (11/708):**

Hepatopathie (6), Portosystemischer Lebershunt (4), Hepatitis (1)

**Diagnosegruppe Missbildungen (0/708):**

Keine Patienten

**Diagnosegruppe Magen-Darmtrakt (62/708):**

Gastroenteritis/Colitits (29), Hämorrhagische Gastroenteritis (6), Enterales Proteinverlust-Syndrom (6), Fremdkörper (6), Koprostase (3), Magendrehung (2), Invagination (1), Futtermittelunverträglichkeit (2), Ileus (1), paralytischer Ileus (1), Inflammatory bowel disease = IBD (1), Perinealhernie (1), Magen-Darm-Erkrankung ohne Diagnose (3)

**Diagnosegruppe Nierenerkrankungen (129/708):**

Niereninsuffizienz (119), Nephritis (3), Proteinverlust-Nephropathie (3), Azotämie (1), Niereninfarkt (1), chronische Nephropathie (1), Pyelonephritis mit Schrumpfnieren und Osteorenalem Syndrom (1)

**Diagnosegruppe Oberer Digestionstrakt (6/708):**

Ösophagusdilatation (3), Fremdkörper im Ösophagus (1), Würgen ungeklärter Ursache (1), Zubildung im linken Oberkiefer kaudal der Backenzähne (1)

**Diagnosegruppe Oberer Respirationstrakt (14/708):**

Rhinitis (8), Tonsillitis (2), Laryngitis (2), Erkrankung des oberen Respirationstraktes ohne Diagnose (2)

**Diagnosegruppe Sinnesorgane (4/708):**

Otitis (3), Chorioretinitis (1)

**Diagnosegruppe Sonstiges (77/708):**

Internistische Abklärung: obB (10), Narkoseabklärung (8), Fieber (6), Epistaxis (3), Schock (3), Lymphadenitis (2), Bluttransfusion nach Trauma (2), Wunde (1), Adipositas (1), reaktive Hyperplasie der Lymphknoten (1), Senilität (1), Hämatom (1), Proteinverlust-Syndrom (1), Impfreaktion (1), Thoraxerguß (1), Hitzschlag (1), keine Diagnose (34)

**Diagnosegruppe Vergiftungen (4/708):**

Kumarinvergiftung (2), Methämoglobinvergiftung (1), Vergiftung (1)

**Diagnosegruppe Zentrales Nervensystem (38/708):**

Epilepsie (13), Meningitis (7), Anfälle unklarer Genese (5), Ataxie unklarer Genese (2), Fibrocartilaginäre Embolie (2), Diskusprolaps (1), Halswirbelsäulen-Syndrom (1), Facialisparese mit Kieferlähmung (1), Paraparese ungeklärter Genese (1), Neuropathie (1), Erkrankung des zentralen Nervensystems ohne Diagnose (4)

## 9.2 Anhang Signalement

Signalement der 26 Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom

BSH	Vorstellungs- zeitpunkt	Geburtstag	Alter in Jahren	Todestag	Überlebens- zeit in Tagen	Geschlecht	Gewicht	Sektion
BSH 1	24.05.2004	01.07.1994	9,9	27.05.2004	3	w	39	Ja
BSH 2	05.06.2004	03.03.1996	8,3	07.06.2004	2	w	45	Nein
BSH 3	03.12.2004	01.06.1997	7,5	10.01.2005	38	wk	41,5	Nein
BSH 4	14.12.2004	01.03.1997	7,8	21.01.2005	38	w	46	Nein
BSH 5	21.03.2005	01.06.2000	4,8	unbekannt	unbekannt	m	?	Nein
BSH 6	25.04.2005	01.01.2001	4,3	04.07.2005	70	m	39	Nein
BSH 7	26.04.2005	29.03.1997	8,1	12.07.2005	77	wk	35	Nein
BSH 8	26.04.2005	17.12.1998	6,4	29.04.2005	3	wk	32	Ja
BSH 9	27.04.2005	01.02.2000	5,2	01.07.2005	65	w	40	Ja
BSH 10	24.05.2005	08.04.1998	7,1	27.05.2005	3	wk	35,6	Ja
BSH 11	02.08.2005	21.10.1999	5,8	21.09.2005	50	w	36,5	Ja
BSH 12	16.09.2005	01.06.1996	9,3	11.10.2005	25	w	38	Ja
BSH 13	26.09.2005	14.11.1997	7,9	18.10.2005	22	mk	65	Ja
BSH 14	26.10.2005	05.05.2000	5,5	19.01.2006	85	wk	34	Nein
BSH 15	07.11.2005	01.01.1999	6,9	07.11.2005	0	w	38	Nein
BSH 16	19.04.2006	08.12.2000	5,4	30.10.2006	194	wk	44	Nein
BSH 17	28.04.2006	13.04.1999	7,0	28.04.2006	0	wk	37,5	Nein
BSH 18	05.07.2006	22.12.1999	6,5	21.07.2006	16	mk	41	Nein
BSH 19	22.08.2006	11.01.2000	6,6	19.10.2006	58	m	49	Nein
BSH 20	19.09.2006	01.11.2001	4,9	01.11.2006	43	m	40	Ja
BSH 21	05.10.2006	01.02.2001	5,7	09.10.2006	4	w	30,2	Nein
BSH 22	02.01.2007	21.02.1999	7,9	unbekannt	unbekannt	m	46	Nein
BSH 23	27.03.2007	01.02.1998	9,2	29.03.2007	2	w	30	Nein
BSH 24	13.04.2007	01.01.2002	5,3	13.04.2007	0	w	29,5	Ja
BSH 25	16.05.2007	01.01.1999	8,4	16.05.2007	0	wk	32	Ja
BSH 26	31.05.2007	15.12.1999	7,5	31.05.2007	0	mk	45	Ja

## 9.3 Anhang Hämatologie

Hämatologische Daten der 26 untersuchten Berner Sennhunde

BSH	Leuk 10 <sup>9</sup> /l	Lym 10 <sup>9</sup> /l	Mono 10 <sup>9</sup> /l	Eo 10 <sup>9</sup> /l	Segm 10 <sup>9</sup> /l	Stab 10 <sup>9</sup> /l	Throm G/l	Ery 10 <sup>6</sup> /μl	Htk %	Retis 10 <sup>9</sup> /l
Referenz	6,0 - 17,0	1,0 - 3,6	0,04 - 1,35	0,0 - 1,25	3,0 - 11,5	< 0,5	150 - 500	5,5 - 8,5	37 - 55	0-60
BSH 1	12,2	1,71	0,49		9,88		76	6,56	42	
BSH 2	37,4	1,49	2,24		33,24		341	4,45	32	93,9
BSH 3	13,6	2,70	1,08	0,36	9,35		359	6,99	49	
BSH 4	21,3	3,14	1,82		15,61		290	5,12	34	
BSH 5	17,5	1,05	1,57		14,35	0,53	83	2,22	21	369,9
BSH 6	14,6	2,55	1,00		10,54		72	6,83	48	
BSH 7	16,5	2,97	1,16	0,66	11,55	0,17	67	4,67	37	385,3
BSH 8	5,8	0,46	0,52	0,06	4,70	0,06	66	1,78	15	274,8
BSH 9	23,8	1,67	2,14	0,00	19,75	0,24	216	2,83	23	483,4
BSH 10	10,3	2,91	0,85	0,02	6,07		21	1,56	13	154,8
BSH 11	22,0	1,76	1,76	0,22	18,26	0,00	781	4,93	36	284,4
BSH 12	10,0	0,80	0,30	0,00	7,70	1,20	77	4,07	27	149,4
BSH 13	14,5	2,99	1,33	0,43	9,55		191	7,32	49	
BSH 14	24,6	3,69	1,97	0,49	18,45	0,00	485	6,38	42	
BSH 15	17,6	0,88	1,06	0,00	15,31	0,35	419	5,29	34	14,9
BSH 16	42,1	0,42	0,42	0,42	40,42	0,42	451	3,93	27	49,3
BSH 17	18,7	1,88	1,80	0,33	14,63		131	5,10	35	
BSH 18	26,6	0,77	1,46	0,19	24,07		246	5,45	35	105,2
BSH 19	12,8	2,80	0,84	0,59	8,50		315	5,28	36	
BSH 20	11,8	0,91	1,34	0,19	9,27		83	7,18	47	
BSH 21	19,9	2,43	1,82	0,22	15,28		780	5,34	37	
BSH 22	17,3	3,51	1,71	0,40	11,63		611	6,43	44	
BSH 23	10,3	0,88	1,13	0,06	8,06		33	7,97	45	
BSH 24	37,3	7,92	4,00	0,23	24,81		240	1,52	16	486,5
BSH 25	19,7	1,48	1,08	0,08	17,00		334	4,32	29	350,4
BSH 26	16,5	2,45	1,38	0,09	12,50		33	2,52	19	227,9

schwarze Schrift und heller Hintergrund: Erhöhung über Referenzwert  
 weiße Schrift und dunkler Hintergrund: Erniedrigung unter Referenzwert

## 9.4 Anhang Blutchemie

Blutchemische Daten der 26 Berner Sennenhunde

BSH	Ha mmol /l	Krea μmol/ l	Na mmol /l	Ch mmol /l	Ka mmol /l	Ca mmol /l	Ca mmol /l Nova	Ph mmol /l	Tp g/l	Alb g/l	Glob g/l	Glu mmol /l	Chol mmol /l	Tri mmol /l	Bili μmol/ l	AP U/l	ALT U/l	GLDH U/l
Referenz	3,57- 8,57	35- 106	141- 152	100- 120	3,6- 5,3	1,32- 1,51	1,16- 1,31	0,70- 1,60	54,0- 71,0	26,0- 33,0	27,0- 44,0	3,66- 6,31	3,50- 7,00	0,29- 3,88	< 3,40	< 97	< 55	< 12
BSH 1	<b>8,90</b>	<b>147</b>	<b>153</b>	120	4,7	1,47		1,36	<b>80,0</b>	26,0	<b>54,0</b>	3,80	5,90	0,84	<b>3,60</b>	<b>98</b>	25	<b>15</b>
BSH 2	<b>10,60</b>	<b>112</b>	148	118	4,1	1,37		1,39	61,1		39,4	<b>6,40</b>	5,20	1,08	2,10	<b>407</b>	<b>521</b>	<b>25</b>
BSH 3	5,00	106	150	118	4,2	<b>1,24</b>		0,99	58,6	29,3	29,3	4,90	3,67	0,76	1,92	60	<b>56</b>	12
BSH 4	4,21	86	150	<b>121</b>	4,4	<b>1,29</b>		1,31	67,3	<b>17,7</b>	<b>49,6</b>	4,25	<b>8,08</b>	1,00	2,31	<b>197</b>	19	12
BSH 5	5,98	51	151	120	4,5	1,38		<b>1,61</b>	<b>45,8</b>	<b>22,6</b>	<b>23,2</b>	5,00	<b>2,66</b>	0,66	<b>9,36</b>	<b>643</b>	52	<b>21</b>
BSH 6	<b>11,60</b>	<b>167</b>	148	114	4,1	<b>1,85</b>		1,36	<b>78,9</b>	28,8	<b>50,1</b>	4,95	6,31	0,42	3,05	<b>132</b>	<b>61</b>	<b>22</b>
BSH 7	3,72	94	145	120	4,6	1,36			<b>50,4</b>	<b>22,1</b>	28,3	5,02	<b>1,58</b>	0,67	<b>4,81</b>	<b>155</b>	55	9
BSH 8	<b>17,02</b>	94	145	120	5,0	1,36			<b>42,0</b>	<b>19,7</b>	<b>22,3</b>	5,09	<b>7,39</b>	0,53	<b>5,56</b>	<b>344</b>	<b>139</b>	<b>14</b>
BSH 9	<b>13,74</b>	70	145	117	4,5	<b>1,22</b>			<b>47,6</b>	<b>21,7</b>	<b>25,9</b>	<b>3,58</b>	5,16	0,72	<b>8,76</b>	<b>350</b>	53	<b>29</b>
BSH 10	<b>9,70</b>	51	148	<b>122</b>	4,3	<b>1,31</b>		1,11	<b>38,3</b>	<b>22,2</b>	<b>16,1</b>	6,20	<b>2,78</b>	0,54	<b>14,52</b>	<b>356</b>	<b>83</b>	<b>32</b>
BSH 11	<b>12,20</b>	56	147	111	4,1	1,33		1,57	<b>72,2</b>	<b>24,8</b>	<b>47,4</b>	4,30	<b>9,27</b>	0,62	1,00	<b>245</b>	<b>62</b>	8
BSH 12	<b>15,00</b>	96	146	110	4,8	<b>1,24</b>		<b>2,34</b>	<b>64,0</b>	<b>22,1</b>	41,9	5,03	4,34	0,60	1,27	<b>180</b>	<b>33</b>	4
BSH 13	7,15	92	147	108	4,3	1,45		1,18	<b>72,4</b>	<b>30,2</b>	42,2		5,26	1,61	1,16	<b>133</b>	<b>77</b>	5
BSH 14	6,24	<b>119</b>	143	114	4,2	1,46		1,43	69,1	<b>22,1</b>	<b>47,0</b>	3,75	4,59	0,68	2,95	58	21	2
BSH 15	<b>14,45</b>	95	151	119	4,0	<b>1,23</b>		<b>1,95</b>	<b>61,0</b>	<b>18,5</b>	<b>42,5</b>	<b>1,79</b>	<b>9,58</b>	1,41	<b>73,97</b>	<b>1334</b>	38	1
BSH 16	5,14	53	<b>158</b>	111	4,6	1,50		<b>1,71</b>	<b>71,5</b>	<b>24,7</b>	<b>46,8</b>	4,31	6,42	0,97	<b>3,58</b>	<b>934</b>	<b>184</b>	5
BSH 17	3,72	88	147	113	4,2	1,46		1,52	57,5	<b>23,1</b>	34,4	5,58	<b>3,20</b>	1,11	<b>10,14</b>	40	18	5
BSH 18	<b>24,73</b>	<b>200</b>	141	108	4,6	<b>1,64</b>		<b>1,89</b>	<b>59,6</b>	<b>25,6</b>	34,0	5,38	4,99	0,87	1,75	<b>108</b>	28	1
BSH 19	7,68	77	<b>155</b>	117	4,4	1,47		1,38	<b>76,6</b>	<b>28,6</b>	<b>48,0</b>	4,90	6,63	1,83	2,61	27	30	3
BSH 20	6,80	74	<b>155</b>	113	4,7			<b>1,69</b>	67,7	30,5	37,2	5,35	5,66	0,83	<b>4,24</b>	<b>553</b>	<b>487</b>	11
BSH 21	7,85	42	152	113	4,5		1,30	<b>1,68</b>	<b>51,1</b>	<b>22,9</b>	28,2	5,30	<b>8,24</b>	1,05	1,60	73	46	<b>13</b>
BSH 22	7,37	94	147	112	4,1		<b>1,38</b>	1,39	59,6	22,4	37,2	5,95	5,12	0,55	2,18	79	55	3
BSH 23	7,94	70	139	107	4,6		<b>1,32</b>	1,40	<b>46,0</b>	<b>21,8</b>	<b>24,2</b>	<b>3,58</b>	5,53	0,59	3,50	83	<b>98</b>	1
BSH 24	8,09	56	<b>140</b>	<b>125</b>	4,6		1,29	1,07	<b>41,3</b>	<b>23,5</b>	<b>17,8</b>	<b>6,39</b>	<b>2,70</b>	0,59	<b>8,89</b>	72	35	4
BSH 25	<b>19,40</b>	<b>222</b>	<b>134</b>	<b>106</b>	<b>3,2</b>		1,21	<b>1,98</b>	<b>60,8</b>	<b>31,2</b>	29,6	5,71	6,26	1,12	<b>11,08</b>	<b>674</b>	<b>214</b>	6
BSH 26	<b>10,50</b>	88	<b>134</b>	114	4,1		1,16	1,52	<b>39,8</b>	<b>20,7</b>	<b>19,1</b>	<b>6,51</b>	4,51	0,87	<b>20,6</b>	<b>202</b>	49	8

## 9.5 Anhang Myelogramme

Ergebnisse der Knochenmarkuntersuchungen von 23 Berner Sennenhunden und 10 Beagle Hunden

### Abkürzungen:

Mb	Myeloblasten
Pm	Promyelozyten
Mz	Myelozyten
Mm	Metamyelozyten
St	Neutrophile Stabkernige
Se	Neutrophile Segmentkernige
Epm	Eosinophile Promyelozyten
Emz	Eosinophile Myelozyten
Emm	Eosinophile Metamyelozyten
Est	Stabkernige Eosinophile Granulozyten
Esg	Segmentkernige Eosinophile Granulozyten
Eg	Eosinophile Granulopoese gesamt
Ba	Basophile Granulozyten
Pn	Pronormoblasten
Bn	Basophile Normoblasten
Pn	Polychromatische Normoblasten
On	Oxiphile Normoblasten
Lz	Lymphozyt
Lb	Lymphatischer Blast
Pz	Plasmazelle
Mo	Monozytäre Vorläuferzellen
Mi	Mitose
Un	Unklassifizierte Zellen
Ma	Mastzellen
Mp	Myelopoese
Ep	Erythropoese
M/E	M/E-Verhältnis (Verhältnis aus myeloischen und erythroiden Zellen)
M r	Megakaryopoese reif
M ur	Megakaryopoese unreif
M un	Megakaryopoese unklassifiziert
M ge	Megakaryopoese gesamt
Gf	Ausgezählte Gesichtsfelder
M/Gf	Megakaryozyten pro Gesichtsfeld
u/r	Megakaryopoese unreif/reif
H <sub>z</sub>	Histiozytäre Zellen
H <sub>z</sub> /3	Histiozytäre Zellen in 3 Minuten

## Myelogramme der 23 Berner Sennenhunde mit histiozytärem Sarkom

BSH	Mb	Pm	Mz	Mm	St	Se	Epm	Emz	Emm	Est	Esg	Eg	Ba	Pn	Bn	Pn	On	Lz	Lb
BSh 3	0,99	0,39	1,77	3,25	9,26	23,15	0,30	0,39	0,99	0,99	1,87	4,54	2,17	2,27	3,45	11,63	24,53	5,71	0,89
BSh 4	1,30	1,30	2,80	3,60	8,89	41,96	0,20	0,40	0,40	1,30	2,00	4,30	0,10	0,70	1,10	4,90	8,19	4,80	1,10
BSh 5	0,68	0,68	0,68	2,34	4,59	17,17	0,00	0,00	0,39	0,29	0,39	1,07	0,00	3,02	4,39	22,73	33,95	1,27	0,88
BSh 6	0,79	0,99	1,98	2,87	11,77	19,58	0,00	0,40	0,30	1,19	1,29	3,18	0,10	1,88	5,34	10,68	22,95	8,31	1,38
BSh 7	0,69	0,69	2,36	3,25	7,68	17,52	0,30	0,59	0,59	1,08	1,08	3,64	0,10	3,15	3,64	15,55	23,23	3,25	0,98
BSh 8	0,29	0,68	2,23	3,39	6,49	8,23	0,00	0,00	0,10	0,10	0,68	0,88	0,10	2,71	7,84	21,78	37,37	2,71	0,48
BSh 9	0,00	0,00	0,30	1,58	2,08	7,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,10	0,20	0,00	2,28	10,79	19,01	50,89	2,48	0,00
BSh 11	0,19	0,29	0,29	2,60	7,02	24,62	0,10	0,10	0,10	0,48	0,58	1,36	0,00	1,73	2,98	16,54	29,62	3,66	1,06
BSh 12	1,67	0,69	2,55	7,56	12,66	15,7	0,00	0,20	0,20	0,10	0,29	0,79	0,00	1,08	0,98	4,80	5,79	19,82	7,85
BSh 13	0,95	0,19	2,29	4,58	12,21	34,92	0,00	0,19	0,38	0,48	0,67	1,72	0,10	0,95	1,24	7,16	12,88	6,58	1,81
BSh 14	0,09	0,56	1,86	1,76	4,45	60,67	0,09	0,09	0,46	0,46	1,20	2,30	0,00	0,19	0,19	3,25	4,45	4,73	0,37
BSh 15	1,09	2,78	9,34	8,55	7,85	29,62	0,00	0,60	0,40	1,09	1,39	3,48	0,00	0,60	0,10	1,19	1,09	20,48	1,59
BSh 16	1,68	4,14	2,76	6,61	10,95	33,93	0,00	0,49	0,49	0,20	0,69	1,87	0,10	1,18	4,14	8,78	12,13	3,16	1,38
BSh 17	0,28	1,03	1,22	2,53	5,24	24,04	0,19	0,09	0,65	0,47	0,65	2,05	0,28	1,40	2,99	14,03	30,68	3,18	2,25
BSh 18	0,29	0,48	1,44	4,21	4,98	50,1	0,00	0,00	0,19	0,19	0,19	0,57	0,00	0,67	0,86	6,23	16,00	1,63	0,38
BSh 19	0,09	0,28	1,76	4,92	7,05	21,07	0,00	0,09	0,37	0,46	0,83	1,75	0,00	1,95	4,08	15,49	22,63	4,73	2,04
BSh 20	0,78	2,05	4,87	8,09	8,97	19,4	0,10	0,58	1,07	0,68	0,58	3,01	0,10	1,85	3,70	9,94	18,23	3,31	2,63
BSh 21	0,10	0,2	0,50	1,79	5,07	35,82	0,00	0,00	0,10	0,10	0,70	0,90	0,00	0,20	1,00	1,79	2,98	13,03	2,79
BSh 22	0,68	0,58	0,68	2,44	3,51	40,35	0,00	0,10	0,39	0,68	1,07	2,24	0,00	0,88	3,02	12,48	15,98	5,36	1,27
BSh 23	0,50	1,99	2,09	9,77	12,66	24,13	0,00	0,30	0,50	0,20	1,00	2,00	0,00	0,40	0,70	2,29	13,46	2,59	1,50
BSh 24	0,20	1,00	2,67	2,29	3,18	15,22	0,00	0,30	0,00	0,30	0,20	0,80	0,00	3,18	6,77	18,61	33,33	2,29	0,50
BSh 25	0,30	0,98	2,76	5,31	5,71	12,5	0,00	0,10	0,20	0,10	0,10	0,50	0,10	2,46	6,10	18,31	37,6	2,76	0,20
BSh 26	0,00	0,87	2,03	2,42	1,94	12,97	0,10	0,19	0,29	0,00	0,39	0,97	0,00	1,84	3,29	13,75	42,79	3,87	0,48
Beagle 1	2,66	2,76	4,93	8,97	17,46	0,39	0,69	1,28	0,89	0,49	0,10	3,74	2,66	2,47	7,40	8,38	16,86	8,78	1,68
Beagle 2	0,97	0,97	6,22	10,79	14,97	0,10	0,39	0,78	0,49	0,97	0,00	2,73	0,97	1,17	3,21	18,27	30,13	5,64	0,19
Beagle 3	2,36	1,87	6,59	6,50	18,31	0,10	0,49	0,69	0,69	0,39	0,00	2,36	2,36	2,66	5,02	12,01	22,83	11,91	0,98
Beagle 4	1,39	2,58	8,34	10,63	19,07	0,30	0,20	0,30	0,70	0,50	0,00	2,00	1,39	2,28	3,38	11,42	21,45	9,33	1,79
Beagle 5	1,10	3,79	5,48	5,88	9,57	0,60	1,40	0,80	0,70	0,40	0,00	3,90	1,10	2,59	2,39	19,14	30,01	8,18	0,30
Beagle 6	2,59	5,19	8,48	8,58	22,85	0,50	1,10	0,70	0,40	0,50	0,10	3,20	2,59	2,00	1,40	8,98	15,47	11,98	1,20
Beagle 7	0,76	0,85	3,97	7,28	36,58	0,00	0,19	0,19	0,19	1,13	0,09	1,70	0,76	0,28	0,66	9,17	13,42	13,80	0,57
Beagle 8	1,45	1,93	6,08	9,46	23,26	0,19	0,10	0,97	0,39	2,22	0,00	4,38	1,45	2,41	3,28	8,78	12,64	13,80	1,25
Beagle 9	0,38	0,95	4,54	9,74	41,15	0,00	0,09	0,19	0,28	0,76	0,28	1,32	0,38	1,41	2,55	7,19	8,42	14,76	0,76
Beagle 10	1,36	1,95	9,16	12,38	18,90	0,29	0,29	0,49	0,29	0,39	0,10	1,75	1,36	0,68	1,66	10,23	22,71	6,63	2,53

BSH	Pz	Mo	Mi	Un	Ma	Mp	Ep	M/E	Mr	Mur	Mun	Mge	Gf	M/Gf	u/r
BSH 3	0,99	2,86	1,48	0,30	0,00	45,52	41,87	1,09	48	18	6	72	25	2,88	0,38
BSH 4	0,60	12,99	0,30	0,80	0,00	64,24	14,89	4,31	16	4	0	20	25	2,00	0,25
BSH 5	0,00	4,10	2,15	0,29	0,00	27,22	64,10	0,42	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BSH 6	1,68	4,45	0,99	0,69	0,00	41,25	40,85	1,01	50	15	9	74	25	2,96	0,30
BSH 7	2,26	6,20	2,36	0,79	0,00	35,93	45,57	0,79	53	14	1	68	25	2,72	0,26
BSH 8	0,00	2,80	1,45	0,29	0,00	22,27	69,70	0,32	82	2	2	86	25	3,44	0,02
BSH 9	0,10	1,98	0,40	0,69	0,00	11,19	82,97	0,13	54	30	0	84	25	3,36	0,56
BSH 11	0,58	6,15	0,87	0,48	0,00	36,35	50,87	0,71	29	53	0	82	25	3,28	1,83
BSH 12	1,86	13,54	1,08	0,49	0,00	41,61	12,66	3,29	75	43	1	119	25	4,76	0,57
BSH 13	1,62	9,26	1,05	0,48	0,00	56,97	22,23	2,56	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BSH 14	0,56	14,10	0,28	0,09	0,00	71,71	8,07	8,89	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BSH 15	0,70	9,74	0,50	0,80	0,00	62,72	2,98	21,05	50	11	0	61	19	3,21	0,22
BSH 16	0,69	4,54	1,18	0,79	0,00	62,03	26,23	2,34	108	76	3	187	25	7,48	0,70
BSH 17	0,84	5,33	1,31	1,12	0,00	36,67	49,11	0,75	26	13	0	39	25	1,56	0,50
BSH 18	0,19	10,63	0,48	0,48	0,00	62,36	23,75	2,63	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BSH 19	1,76	7,42	1,30	1,02	0,00	37,57	44,16	0,85	43	39	2	84	25	3,36	0,91
BSH 20	2,44	8,58	1,07	0,78	0,00	47,27	33,72	1,40	106	22	0	128	25	5,12	0,21
BSH 21	4,88	8,16	0,30	0,60	0,00	44,38	5,97	7,43	54	8	0	62	25	2,48	0,19
BSH 22	1,27	7,41	1,17	0,19	0,00	50,49	32,36	1,56	20	4	2	26	22	1,18	0,20
BSH 23	2,89	8,57	0,70	2,09	0,00	53,14	16,85	3,15	126	68	22	216	25	8,64	0,54
BSH 24	1,09	4,88	0,60	1,29	0,00	25,37	61,89	0,41	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
BSH 25	0,60	1,57	1,48	0,79	0,00	28,15	64,47	0,44	221	128	7	356	25	14,24	0,58
BSH 26	0,29	8,23	0,29	1,65	0,00	21,20	61,67	0,34	42	8	0	50	25	2,00	0,19
Beagle 1	1,97	5,62	2,17	1,38	0,00	42,90	35,11	1,22	143	101	15	259	25	10,36	0,70
Beagle 2	0,68	2,62	1,07	0,19	0,00	36,73	52,77	0,70	257	147	9	413	25	16,52	0,57
Beagle 3	0,69	3,25	1,38	0,69	0,00	38,48	42,52	0,90	130	54	12	196	25	7,84	0,42
Beagle 4	0,89	2,78	1,49	0,30	0,00	44,49	38,53	1,15	241	104	3	348	25	13,92	0,43
Beagle 5	1,20	4,19	1,30	0,30	0,00	30,31	54,14	0,56	86	28	8	122	15	8,13	0,33
Beagle 6	1,30	4,59	1,00	0,60	0,00	51,20	27,84	1,84	55	4	0	59	25	2,36	0,07
Beagle 7	0,95	7,66	1,13	0,28	0,00	51,98	23,53	2,21	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Beagle 8	2,51	6,27	1,64	0,68	0,00	46,62	27,12	1,72	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Beagle 9	0,66	4,45	1,14	0,28	0,00	58,37	19,58	2,98	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.
Beagle 10	1,17	5,56	1,95	0,49	0,00	46,39	35,28	1,31	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.

BSH	H <sub>z</sub>	H <sub>z</sub> /3	Morphologie der histiozytären Zellen
<b>BSH 3</b>	0,30	4	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 4</b>	0,30	1	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 5</b>	0,00	0	Keine histiozytären Zellen
<b>BSH 6</b>	0,40	9	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 7</b>	2,66	32	Histiozytäre Zellen teilweise in kleinen Gruppen, einige schwach phagozytotisch aktiv, einige deutlich aktiv mit Erythrophagie oder Detritus, teilweise erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, teilw. mehrere deutliche Nukleoli => <b>Makrophagen-Morphologie</b>
<b>BSH 8</b>	0,29	0	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen),
<b>BSH 9</b>	0,20	1	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 11</b>	0,10	6	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 12</b>	1,08	17	Inaktive hist. Zellen mit Makrozytose, keine Nukleoli, dominierend hohe Mengen eines hellbasophilen Zytoplasmas, vereinzelt Erythrophagie und Phagozytose von Detritus, vereinzelt Zellen mit hohem Kern-Zytoplasma-Verhältnis und feinen Vakuolen, keine Riesenzellen (Lymphom laut Befund) 3a
<b>BSH 13</b>	0,00	1	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 14</b>	0,09	1	vereinzelt inaktiv ansonsten <b>physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 15</b>	0,50	9	Teilw. physiologische Makrophagen mit Erythrophagie und Fett, zum Teil inaktive Makrophagen (glattes, hellbasophiles Zytoplasma ohne Phagozytose, niedriges Kern-Zytoplasma-Verhältnis) 3a
<b>BSH 16</b>	0,00	13	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen), teilweise doppelkernig
<b>BSH 17</b>	0,19	10	Große histiozytäre Zellen mit Makronukleose und Makrozytose, feinen Vakuolen und Nukleoli, keine Riesenzellen, teilw. Phagozytose von Erythrozyten und Leukozyten, wenige physiologische Hämosiderophagen => <b>dendritische Zellen</b>
<b>BSH 18</b>	0,10	0	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 19</b>	0,00	4	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 20</b>	0,19	1	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen)
<b>BSH 21</b>	19,90	121	hist. Tumorzellen in Gruppen, z.T. Bröckel nur aus Tumorzellen, vereinzelt Riesenzellen, basophiles Zytoplasma, die meisten Zellen mit feinen, hellen intrazytoplasmatischen Vakuolen, teilw. erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, nur vereinzelt phagozytotisch aktiv, teilw. Makronukleose, feine Chromatinstruktur mit teilw. Nukleoli, keine Mitosen, teilw. Doppelkernig => <b>dendritische Zellen</b>
<b>BSH 22</b>	0,49	2	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Erythrophagen und Hämosiderophagen),
<b>BSH 23</b>	11,67	160	Bröckel z.T. nur aus histiozytären Zellen, hgr. Anisokaryose und Anisokaryose, Makronukleose, > 95% inaktiv, teilweise feine helle intrazytoplasmatische Vakuolen, teilw. erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, feine Chromatinstruktur mit undeutl. Nukleoli, viele atypische Mitosefiguren, teilweise Riesenzellen (> 50µm), teilweise doppelkernige Zellen => <b>dendritische Zellen</b>
<b>BSH 24</b>	2,09	20	Hist. Zellen in Gruppen in Bröckeln, teilw. Phagozytose (insgesamt schwach), teilweise Vakuolen und erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, vereinzelt doppelkernig, Zellen ohne Phagozytose mit feinem hellblauen Zytoplasma, teilweise feinen Nukleoli, keine Riesenzellen und keine Mitosen => <b>dendritische Zellen und Makrophagen</b>
<b>BSH 25</b>	0,00	3	<b>Physiologische Makrophagen</b> (Phagozytose von Erythrozyten und Detritus)
<b>BSH 26</b>	2,32	11	überwiegend inaktiv mit Vakuolen, Phagozytose wenn vorhanden nur sehr schwach (Erythrophagie und Detritus), teilweise erhöhtes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, keine atypischen Mitosen, keine Riesenzellen => <b>dendritische Morphologie</b>
<b>Beagle 1</b>	0,39	3	
<b>Beagle 2</b>	0,10	2	

<b>Beagle 3</b>	0,10	3	Physiologische Makrophagen mit Erythrophagie, vereinzelt Leukophagie und Hämosiderin
<b>Beagle 4</b>	0,40	9	
<b>Beagle 5</b>	0,10	3	
<b>Beagle 6</b>	0,30	2	
<b>Beagle 7</b>	0,09	0	
<b>Beagle 8</b>	0,10	0	
<b>Beagle 9</b>	0,00	0	
<b>Beagle 10</b>	0,00	2	

## 9.6 Anhang Statistik Myelogramme

### Statistische Daten Myelogramme

Zellreihe	Mittelwert od. <i>Median</i>		p-Wert	
	BSH (n = 23)	Beagle (n=10)	Mittelwert	Varianz
Myeloblasten	0.5926 ± 0.1054	0.6280 ± 0.2009	0,8653	0,1825
Neutr. Promyelozyten	0.9930 ± 0.1985	1.502 ± 0.2483	0,1485	0,2815
Neutr. Myelozyten	2,030 (0,29-9,34)	1,94 (0,85-5,19)	0,7391	
Neutr. Metamyelozyten	4.161 ± 0.4990	6.379 ± 0.5602	0,0133 *	0,1764
Neutr. Stäbe	7.140 ± 0.6953	9.021 ± 0.6426	0,1095	0,0633
Neutr. Segment	25.64 ± 2.818	22.21 ± 3.051	0,4752	0,1480
Eos. Promyelozyten	0,00 (0,00-0,30)	0,24 (0,00-0,60)	0,0096 **	
Eos. Myelozyten	0.2261 ± 0.04281	0.4940 ± 0.1405	0,0229 *	0,0015
Eos. Metamyelozyten	0.3722 ± 0.05688	0.6390 ± 0.1112	0,0245 *	0,1589
Eos. Stäbe	0.4800 ± 0.08330	0.5020 ± 0.07295	0,8724	0,0460 *
Eos. Segment	0.7800 ± 0.1089	0.7750 ± 0.1802	0,9805	0,3485
Eos. gesamt	1.918 ± 0.2608	2.708 ± 0.3334	0,0915	0,3064
Basophile Granulozyten	0,00 (0,00-0,30)	0,045 (0,00-0,28)	0,7689	
Pronormoblasten	1.590 ± 0.1969	1.795 ± 0.2702	0,5603	0,3942
Basophile Normoblasten	3.421 ± 0.5550	3.095 ± 0.6148	0,7301	0,1655
Polychro. Normoblasten	11.34 ± 1.373	11.36 ± 1.305	0,9956	0,0745
Oxyphile Normoblasten	21.77 ± 2.832	19.39 ± 2.306	0,6076	0,0291 *
Lymphozyten	5.640 ± 1.088	10.48 ± 1.013	0,0110 *	0,0661
Lymphatische Blasten	1.470 ± 0.3303	1.125 ± 0.2300	0,5174	0,0102 *
Plasmazellen	1.213 ± 0.2368	1.202 ± 0.1915	0,9781	0,0279
Monozyten	7.108 ± 0.7463	4.699 ± 0.5084	0,0513	0,0087 **
Mitosen	0.9909 ± 0.1197	1.427 ± 0.1235	0,0367 *	0,1166
Erythropoese	38.13 ± 4.738	35.64 ± 3.697	0,7469	0,0221 *
Myelopoese	42.85 ± 3.341	44.75 ± 2.585	0,7270	0,0209 *
M/E-Verhältnis	1,090 (0,13-21,05)	1,265 (0,56- 2,98)	0,9531	
Megakaryopoese	4.148 ± 0.7462	9.855 ± 2.036	0,0032*	0,0730
Megas unreif/reif	0.4672 ± 0.09606	0.4200 ± 0.08786	0,7906	0,0817
Histiozyten	0,29 (0,00-19,90)	0,10 (0,00-0,40)	0,1760	
Histiozyten zeitabhängig	4,00 (0,00-160,00)	2,00 (0,00-9,00)	0,0996	

## 10 LITERATURVERZEICHNIS

Affolter, V. K. and P. F. Moore (2000). "Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells." Am J Dermatopathol **22**: 40-8.

Affolter, V. K. and P. F. Moore (2002). "Localized and Disseminated Histiocytic Sarcoma of Dendritic Cell Origin in Dogs." Vet Pathol **39**: 74-83.

Affolter, V. K. and P. F. Moore (2006). "Feline Progressive Histiocytosis." Vet Pathol **43**: 646-655.

Baines, S. J., R. Bujdoso, et al. (2000). "Maturation states of dendritic cells in canine cutaneous histiocytoma." Vet Dermatol **11**: 9-10.

Bienzele, D. (2000). Monocytes and Makrophages. In: Schalm's Veterinary Hematology. B. F. Feldmann, J. G. Zinkl and N. C. Jain. Baltimore, Philadelphia, Published by: Lippincott Williams and Wilkins. **Fifth Edition**: 318-325.

Bomhardt, D. V. (2001). "Epidemiologie und Diagnostik von Tumoren bei Hund und Katze." Tierärztliche Praxis **29**: 35-40.

Bonnett, B. N., A. Egenvall, et al. (1997). "Mortality in insured Swedish dogs: rates and causes of death in various breeds." Vet Record **141**: 40-44.

Brearley, M. J., K. A. Dunn, et al. (1994). "Systemic histiocytosis in a Bernese mountain dog." J Small Anim Pract **35**: 271-274.

Brown, D. E., M. A. Thrall, et al. (1994). "Cytology of Canine Malignant Histiocytosis." Vet Clin Pathol **23**: 118-122.

Carioto, L. (1997). "Malignant histiocytosis in a Bernese mountain dog presenting as a mandibular mass." Can Vet J **38**: 105-107.

Clifford, C. A. and K. A. Skorupski (2007). Histiocytic Diseases. In: Small Animal Clinical Oncology. S. J. Withrow and D. M. Vail. St. Louis, Published by: Saunders Elsevier. **Fourth Edition**: 814-823.

Cowell, R. L., R. D. Tyler, et al. (1999). Bone Marrow. In: Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. R. L. Cowell, R. D. Tyler and J. H. Meinkoth. St. Louis, Published by: Mosby. **Second Edition**: 284-304.

Craig, L. E., M. E. Julian, et al. (2002). "The Diagnosis and Prognosis of Synovial Tumors in Dogs: 35 Cases." Vet Pathol **39**: 66-73.

Cruz-Arámbulo, R., R. Wrigley, et al. (2004). "Sonographic features of histiocytic neoplasms in the canine abdomen." Vet Radiol Ultrasound **45**: 554-558.

Dobson, J., E. Villiers, et al. (2006). "Histiocytic sarcoma of the spleen in flat-coated retrievers with regenerative anaemia and hypoproteinaemia." Vet Record **158**: 825-829.

- Egenvall, A., B. N. Bonnett, et al. (2000). "Gender, age and breed pattern of diagnoses for veterinary care in insured dogs in Sweden during 1996." Vet Record **146**: 551-557.
- Egenvall, A., B. N. Bonnett, et al. (2000). "Gender, age, breed and distribution of morbidity and mortality in insured dogs in Sweden during 1995 and 1996." Vet Record **146**: 519-525.
- Egenvall, A., B. N. Bonnett, et al. (2000). "Age pattern of mortality in eight breeds of insured dogs in Sweden." Vet Medicine **46**: 1-14.
- Eichelberg, H. and R. Seine (1996). "Lebenserwartung und Todesursachen bei Hunden. 1. Zur Situation bei Mischlingen und verschiedenen Rassehunden." Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **109**: 292-303.
- Favara, B. E., A. C. Feller, et al. (1997). "Contemporary Classification of Histiocytic Disorders." Medical and Pediatric Oncology **29**: 157-166.
- Fulmer, A. K. and G. E. Mauldin (2007). "Canine histiocytic neoplasia: An overview." CVJ **48**: 1041-1050.
- Grindem, C. B., R. D. Tylor, et al. (2008). The bone marrow. In: Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. R. L. Cowell, R. D. Tyler, J. H. Meinkoth and D. B. DeNicola. St. Louis, Published by: Mosby Elsevier. **Third Edition**: 422-450.
- Harvey, J. W. (2001). Bone Marrow Examination. In: Atlas of Veterinary Hematology. J. W. Harvey. Philadelphia, Published by: W.B. Saunders Company. **First Edition**: 93-123.
- Helmin, D. and C. Saar (1984). "Morphologische Untersuchungen am Monozyten des Hundes." Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **97**: 13-18.
- Horn, V. U., U. Jahn, et al. (1952). "Das Knochenmarkzellbild im Sternalpunktat des gesunden Hundes." Arch. exp. Veterinärmedizin **7**: 177-191.
- Kaim, U., A. Moritz, et al. (2006). "The regression of a canine Lanerhans cell tumor is associated with increased expression of IL-2, TNF- $\alpha$ , INF- $\beta$  and iNSO mRNA." Immunology **118**: 472-482.
- Keller, P. and U. Freudiger (1983). In: Atlas zur Hämatologie von Hund und Katze. Berlin und Hamburg, Published by: Paul Parey.
- Kohn, B., P. Arnold, et al. (1993). "Maligne Histiocytose beim Hund: 26 Fälle (1989-1992)." Kleintierpraxis **38**: 409-424.
- Larroche, C. and L. Mouthon (2004). "Pathogenesis of hemophagocytic syndrome." Autoimmun Rev **3**: 69-75.
- Linek, M. and L. Mecklenburg (2001). "Multiple kutane Histiocytose bei einem Flat Coated Retriever." Kleintierpraxis **46**: 507-511.

- Meinkoth, J. H. and K. D. Clinkenbeard (2000). Normal Hematology of the dog. In: Schalm´s Veterinary Hematology. B. F. Feldmann, J. G. Zinkl and N. C. Jain. Baltimore, Philadelphia, Published by: Lippincott Williams and Wilkins. **Fifth Edition:** 1057-1063.
- Melveger, B. E. (1969). "Sternal bone marrow biopsie in the dog." Lab Anim Care **19**: 866-868.
- Mischke, R., L. Busse, et al. (2002). "Quantification of Thrombopoietic Activitiy in Bone Marrow Aspirates of Dogs." The Veterinary Journal **169**: 269-274.
- Mischke, R., L. Busse, et al. (2002). "Einfluß des Alters auf das Myelogramm des Hundes." Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **115**: 288-296.
- Moore, P. F. (1984). "Systemic Histiocytosis in Bernese Mountain Dogs." Vet Pathol **21**: 554-563.
- Moore, P. F. (1986). "Utilization of Cytoplasmic Lysozyme Immunoreaktivität as a Histiocytic Marker in Canine Histiocytic Disorders." Vet Pathol **23**: 757-762.
- Moore, P. F. and V. K. Affolter (2002). Canine and Feline Histiocytic Disease. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine. S. J. Ettinger and E. C. Feldmann. St. Louis, Published by: Elsevier Saunders. **Sixth Edition:** 779-783.
- Moore, P. F., V. K. Affolter, et al. (2006). "Canine Hemophagocytic Histiocytic Sarcoma: A Proliferative Disorder of CD11d+ Macrophages." Vet Pathol **43**: 632-645.
- Moore, P. F. and A. Rosin (1986). "Malignant Histiocytosis of Bernese Mountain Dogs." Vet Pathol **23**: 1-10.
- Moore, P. F., M. D. Schrenzel, et al. (1996). "Canine Cutaneous Histiocytoma Is an Epidermotropic Langerhans Cell Histiocytosis That Expresses CD1 and Specific  $\beta$ 2-Integrin Molecules." Am J Pathol **148**: 1699-1708.
- Moritz, A. (1993). Dissertation: Die Aussagekraft der Knochenmarkzytologie beim Hund. Medizinische und Gerichtliche Veterinärklinik, Professur für Innere Krankheiten der Kleintiere. Gießen, Justus-Liebig-Universität: 1-122.
- Moritz, A. (2005). Knochenmarkuntersuchung. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. W. Kraft and U. M. Dürr. Stuttgart, Published by: Schattauer. **Sixth Edition:** 93-110.
- Mylonakis, M. E., M. J. Day, et al. (2005). "Type of smear may influence thrombopoietic cell counts in the bone marrow of clinicla healthy dogs." Vet Clin Path **34**: 358-361.
- Nagata, M., M. Hirata, et al. (2000). "Progressive Langerhans´cell histiocytosis in a puppy." Vet Dermatol **11**: 241-246.
- Newlands, C. E., D. M. Houston, et al. (1994). "Hyperferritinemia associated with malignant histiocytosis in a dog." JAVMA **205**: 849-851.

- Padgett, G. A., B. R. Madewell, et al. (1995). "Inheritance of histiocytosis in Bernese mountain dogs." J Small Anim Pract **36**: 93-98.
- Penny, R. H. C. (1974). "The bone marrow of the dog and cat." J Small Anim Pract **15**: 553-562.
- Pileri, S. A., T. M. Grogan, et al. (2002). "Tumors of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases." Histopathol **41**: 1-29.
- Ramirez, S., J. P. Douglass, et al. (2002). "Ultrasonographic Features of Canine Abdominal Malignant Histiocytosis." Vet Radiol Ultrasound **43**: 167-170.
- Ramsey, I. K., J. S. McKay, et al. (1996). "Malignant Histiocytosis in three Bernese mountain dogs." Vet Record **138**: 440-444.
- Reusch, C., A. Hörauf, et al. (1994). "A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs." Vet Record **134**: 411-415.
- Rosin, A., P. F. Moore, et al. (1986). "Malignant Histiocytosis in Bernese Mountain Dogs." J Vet Med Associ **188**: 1041-1045.
- Schäffer, E. H., L. Quintanilla-Martinez, et al. (2003). "Okulare Manifestation der malignene Histiocytose beim Berner Sennenhund." Tierärztliche Praxis **31**: 211-217.
- Schalm, O. W. (1978). "Histiocytic medullary reticulosis." Canine Pract **5**: 42-44.
- Schmidt, M. L., G. Rutteman, et al. (1992). "Canine malignant histiocytosis (MH): Clinical an radiographic findings." Tijdschrift voor Diergeneeskunde **117**(1): 43-44.
- Scott, D. W., W. H. Miller, et al. (1979). "Lymphoreticular neoplasia in a dog ressembling malignant histiocytosis (histiocytic medullary reticulosis) in man." Cornell Vet **69**: 176-197.
- Shaiken, L. C., S. M. Evans, et al. (1991). "Radiographic findings in canine malignant histiocytosis." Vet Rad **32**: 237-242.
- Skorupski, K. A., C. A. Clifford, et al. (2007). "CCNU for the Treatment of Dogs with Histiocytic Sarcoma." J Vet Intern Med **21**: 121-126.
- Spurling, N. W. (1977). The hematology of the dog. In: Archer and Jeffcott Comparativ Clinical Haematology. Oxford, Published by: Blackwell.
- Thio, T., M. Hilbe, et al. (2006). "Malignant Histiocytosis of the Brain in Three Dogs." J Comp Pathol **134**: 241-244.
- Tizard, I. R. (2004). Dendritic Cells and Antigen Processing. In: Veterinary Immunology. I. R. Tizard. Philadelphia, Published by: Saunders. **Seventh Edition**: 56-66.

Uno, Y., Y. Momio, et al. (1993). "Malignant histiocytosis with multiple skin lesions in a dog." J Vet Med Science **55**: 1059-1061.

Vaden, S. L. (2005). Glomerular Disease. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine. S. J. Ettinger and E. C. Feldmann. St. Louis, Published by: Elsevier Saunders. **Fifth Edition**: 1786-1800.

Visonneau, S., A. Cesano, et al. (1997). "Successful Treatment of Canine Malignant Histiocytosis with the Human Major Histocompatibility Complex Nonrestricted Cytotoxic T-Cell Line TALL-104." Clin Cancer Res **3**: 1789-1797.

Voegeli, E., M. Welle, et al. (2006). "Das histiozytäre Sarkom beim Berner Sennenhund in der Schweiz: Eine retrospektive Studie über seine genetische Disposition." Schweiz Arch Tierheilkd **148**: 281-288.

Walton, R. M., J. F. Modiano, et al. (1996). "Bone Marrow Cytological Findings in 4 Dogs and a Cat With Hemophagocytic Syndrome." J Vet Intern Med **10**: 7-14.

Waters, C. B., W. B. Morrison, et al. (1994). "Giant cell variant of malignant fibrous histiocytoma in dogs: 10 cases (1986-1993)." JAVMA **295**(10): 1420-1424.

Weiss, D. J. (2001). "Cytologic Evaluation of Benign and Malignant Hemophagocytic Disorders in Canine Bone Marrow." Vet Clin Pathol **30**: 28-34.

Weiss, D. J. (2002). "Flow Cytometric Evaluation of Hemophagocytic Disorders in Canine Bone Marrow." Vet Clin Pathol **31**: 36-41.

Weiss, D. J. (2006). "A retrospective study of the incidence and the classification of bone marrow disorders in the dog at a veterinary teaching hospital (1996-2004)." J Vet Intern Med **20**: 955-961.

Weiss, D. J. (2007). "Hemophagocytic syndrome in dogs: 24 cases (1996-2005)." JAVMA **230**(5): 697-701.

Weiss, D. J., M. Blauvelt, et al. (2000). "Flow Cytometric Evaluation of Canine Bone Marrow Differential Cell Counts." Vet Clin Pathol **29**: 97-104.

Wellman, M. L., D. J. Davenport, et al. (1985). "Malignant histiocytosis in four dogs." JAVMA **187**: 919-921.

## 11 DANKSAGUNG

Mein erster Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. A. Moritz. Neben der Betreuung meiner wissenschaftlichen Arbeit habe ich durch ihn seit Beginn meines Studiums und natürlich als Mitarbeiterin in der Klinik für Kleintiere die Begeisterung für die Innere Medizin gelernt und dank vieler gemeinsamer Gespräche, Diskussionen und Fortbildungen mein Wissen der Inneren Medizin stetig ausbauen können.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Natali Bauer, die bei der Planung der Studie beteiligt war und die mich bei der Erstellung der Daten unterstützt hat. Sie hatte immer ein offenes Ohr bei Fragen und Problemen. Außerdem war es Natali, die mich in die Geheimnisse der zytologischen Diagnostik eingearbeitet hat und somit den Grundstein für die Durchführung der Arbeit gelegt hat. Natali, an dieser Stelle nochmals lieben Dank für Alles.

In diesem Rahmen möchte ich mich auch bei der Gesellschaft für kynologische Forschung (GKF) bedanken, die durch ihre finanzielle Unterstützung meine Arbeit erst möglich gemacht hat.

Dem Deutschen Club für Berner Sennenhunde (DCBS), und hier im besonderen Frau Lorenz und Herrn Jährling, möchte ich für die Bekanntmachung meiner Arbeit in Züchlerkreisen danken.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. Eckhardt aus Weilburg, der sich seit Jahren in seiner Praxis mit den histiozytären Erkrankungen beim Berner Sennenhund beschäftigt, und der uns regelmäßig Hunde zur Unterstützung der Dissertation überwiesen hat.

Herrn Prof. Dr. Nolte von der tierärztlichen Hochschule Hannover danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Außerdem möchte ich Herrn Prof. Dr. Burkhardt für viele lehrreiche Gespräche und interessante Anregungen bei der Arbeit danken.

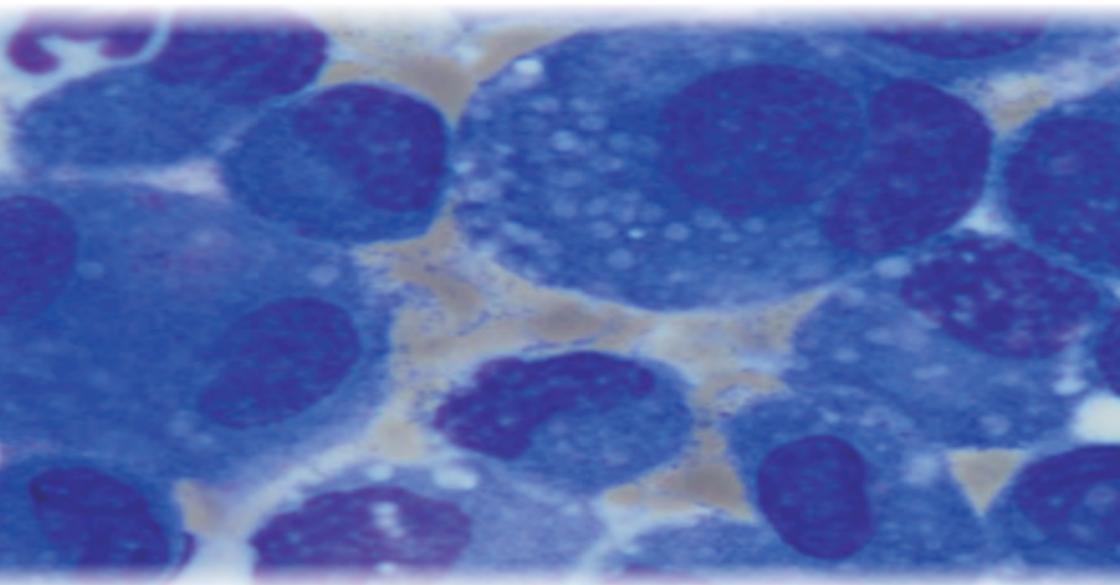
Ein weiterer Dank geht an alle Kollegen und Kolleginnen, die in irgendeiner Weise an der Erstellung der Arbeit beteiligt waren: Allen Kollegen aus der Zytologie -liebe Martina, lieber Alex, liebe Steffi- danke ich für die Unterstützung bei der Auswertung der Proben und vor allem für die schöne gemeinsame Zeit am Mikroskop! Dem Laborteam, und hier im besonderen Elisabeth, danke ich für die labordiagnostische Auswertung der Proben und ein immer sehr kollegiales Miteinander.

Weiterhin möchte ich natürlich allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen der Klinik für Kleintiere für viele lustige, schöne und lehrreiche gemeinsame Jahre danken. Hierbei geht mein ganz besonderer Dank an Silke, die mich seit dem ersten Tag meines Studiums in allen Lebenslagen begleitet hat. Du bist die beste Freundin, die man sich wünschen kann. Alles Gute für deine Zeit in England!

Mein ganz herzlicher Dank geht noch an meine Eltern, denen ich dieses Buch gewidmet habe. Sie haben mich mein ganzes Leben lang in jeder Form unterstützt und begleitet und mich zu dem gemacht was ich bin. Neben dem persönlichen Dank, der über die Erstellung der Arbeit hinausgeht, möchte ich meinem Vater außerdem noch für das Korrekturlesen der Arbeit und die konstruktive Kritik bei einigen fachlichen Problemen danken.

Lieber Christian es gibt keine Worte die ausdrücken können wie froh ich bin, Dich gefunden zu haben...Danke für Alles!!!... und auch für den „Exkurs in die deskriptive Statistik“.

...und zu allerletzt danke ich natürlich allen meinen Freunden und M.U.T.I.G 99....



*édition scientifique*  
**VVB LAUFERSWEILER VERLAG**

VVB LAUFERSWEILER VERLAG  
STAUFENBERGRING 15  
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890  
redaktion@doktorverlag.de  
www.doktorverlag.de

ISBN 3-8359-5569-1

