

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**MAMMATUMOREN BEI DER HÜNDIN:
IMMUNHISTOCHEMISCHER NACHWEIS VON METASTASEN UND
MIKROMETASTASEN IM AXILLARLYMPHKNOTEN UND IM
KNOCHEN**

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ulrich Arnicke
Tierarzt aus Osnabrück

Berlin 1998
Journal-Nr. 2251

**Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin**

Dekan:	Univ. - Prof. Dr. K. Hartung
Erster Gutachter:	Univ. - Prof. Dr. R. Rudolph
Zweiter Gutachter:	Univ. - Prof. Dr. L. Brunnberg

Tag der Promotion: 20. 02. 1999

meiner Mutter

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literaturübersicht	
2.1. Anatomie und Histologie der Milchdrüse der Hündin	
2.1.1. Aufbau	2
2.1.2. Lymphatische Entsorgung der Mammarkomplexe	2
2.1.3. Blutgefäßsystem der Gesäugeleiste	3
2.2. Anatomie und Histologie der Lymphgefäße und Blutgefäße	
2.2.1. Lymphgefäße	3
2.2.2. Blutgefäße	3
2.3. Anatomie und Histologie der Lymphknoten und Knochen	
2.3.1. Makroskopischer Aufbau und Feinaufbau des Lymphknotens	3
2.3.2. Funktionseinheiten des Lymphknotens	3
2.3.3. Lymph- und Blutgefäßversorgung des Lymphknotens	4
2.3.4. Makroskopischer Aufbau und Feinaufbau des Knochens	4
2.3.5. Lymph- und Blutgefäßversorgung des Knochens (Röhrenknochen)	4
2.4. Mammatumoren bei der Hündin	
2.4.1. Epidemiologie	5
2.4.2. Ätiologie	5
2.4.3. Klassifikation und Morphologie	6
2.4.3.1. Klassifikationsschema maligner Mammatumoren (Einteilungsmöglichkeit)	6
2.4.3.2. Kriterien für Malignität	7
2.4.3.3. Bedeutung der Klassifikation für die Prognose (Karzinome)	8
2.4.4. Metastasierung	8
2.4.4.1. Lymphogene Metastasierung und Lymphangiosis carcinomatosa	9
2.4.4.2. Hämatogene Metastasierung und Hämangiosis carcinomatosa	10
2.4.4.3. Invasionsmechanismen und Metastasierungsmechanismen von Tumorzellen	10
2.4.4.4. Definition Metastase und Mikrometastase	11
2.4.4.5. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Axillarlymphknoten	11
2.4.4.6. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Knochen	11
2.4.4.7. Einfluß von Metastasen auf die Prognose	12

2.5.	Mammatumoren bei der Frau	
2.5.1.	Vorkommen, histologische Klassifizierung und Stadieneinteilung	13
2.5.2.	Mammakarzinom und Metastasierung	13
2.5.2.2.	Metastasierung von Mammatumorzellen in die Axillarlymphknoten	13
2.5.2.3.	Metastasierung von Mammatumorzellen in die Knochen	14
2.6.	Das Zytoskelett	
2.6.1.	Die Moleküle des Zytoskeletts	15
2.6.2.	Intermediärfilamente	15
2.6.3.	Zytokeratine	15
2.6.3.1.	Expression von Zytokeratinen in der Milchdrüse, in Mammakarzinomen und deren Metastasen beim Menschen	16
2.6.3.2.	Expression von Zytokeratinen in der Milchdrüse, in Mammatumoren und deren Metastasen beim Hund	16
2.6.4.	Zytokeratinantikörper	17
2.6.5.	Immunhistochemische Anfärbung von Zytokeratinen	18
2.6.6.	Spezifität und Sensitivität der Methoden	18

3. Eigene Untersuchungen

3.1.	Material und Methoden	
3.1.1.	Untersuchtes Gewebe und Routineproben	19
3.1.2.	Bearbeitung des Materials	
3.1.2.1.	Probenentnahme	
3.1.2.1.1.	Probenentnahme Mammarleiste und Weiterverarbeitung des Materials	19
3.1.2.1.2.	Probenentnahme Axillarlymphknoten und Weiterverarbeitung des Materials	19
3.1.2.1.3.	Probenentnahme Knochen und Weiterverarbeitung des Materials	20
3.1.2.1.4.	Vorliegende Proben	20
3.1.2.2.	Schnittanfertigung (für HE- und Immunfärbung)	
3.1.2.2.1.	Herstellung von histologischen Schnitten aus der Mammarleiste	20
3.1.2.2.2.	Herstellung von histologischen Schnitten Axillarlymphknoten	21
3.1.2.2.3.	Herstellung von histologischen Schnitten Knochen	21
3.1.2.2.4.	Vorliegende histologische Schnitte	22
3.1.2.3.	Färbung	
3.1.2.3.1.	HE-Färbung der histologischen Schnitte (Mammarleiste und Axillarlymphknoten)	22
3.1.2.3.2.	Immunfärbung der histologischen Schnitte	22
3.1.3.	Immunhistochemie	
3.1.3.1.	Immunhistochemische Methodik	22
3.1.3.2.	Verwendete Seren, Antiseren, Substrate und Lösungen	23
3.1.3.3.	Methodik der Vorversuche	24

3.1.3.4.	Das immunhistochemische Färbeverfahren	24
3.1.3.5.	Die einzelnen Schritte des Färbeverfahrens	25
3.1.3.6.	Methodik der Hauptversuche	26
3.1.3.7.	Kontrollen für die Immunhistochemie	
3.1.3.7.1.	Methodische Kontrolle (Positivkontrolle)	26
3.1.3.7.2.	Immunhistochemische Kontrolle (Negativkontrolle)	26
3.1.4.	Beurteilung der histologischen Schnitte	
3.1.4.1.	Beurteilung der HE-gefärbten Schnitte aus der Mammarleiste	26
3.1.4.1.1.	Beurteilungsschema Mammatumoren	27
3.1.4.1.2.	Mögliche Diagnosen der Mammatumoren	28
3.1.4.2.	Beurteilung der immungefärbten Schnitte aus der Mammarleiste	28
3.1.4.3.	Beurteilung der HE-gefärbten Schnitte Axillarlymphknoten	28
3.1.4.3.1.	Beurteilungsschema Axillarlymphknoten	29
3.1.4.3.2.	Mögliche Diagnosen von HE-gefärbten Axillarlymphknoten	31
3.1.4.4.	Beurteilung der immungefärbten Schnitte Axillarlymphknoten	31
3.1.4.4.1.	Beurteilungsschema Axillarlymphknoten	31
3.1.4.4.2.	Mögliche Diagnosen von immungefärbten Axillarlymphknoten	33
3.1.4.5.	Beurteilung der immungefärbten Schnitte Knochen	33
3.1.4.5.1.	Beurteilungsschema Knochen	34
3.1.4.5.2.	Mögliche Diagnosen von immungefärbten Knochen	35
3.1.4.6.	Auswertung der Färbeergebnisse Axillarlymphknoten und Knochen in Verbindung mit anderen Parametern	
3.1.4.6.1.	Lokalisation des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen	35
3.1.4.6.2.	Größe des Tumors und Metastasen	36
3.1.4.6.3.	Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Metastasen	36
3.2.	Ergebnisse	
3.2.1.	Vorstellung der Hunde	37
3.2.2.	Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung	37
3.2.3.	Beschreibung der Veränderungen an der Mammarleiste und Mammatumordiagnosen	
3.2.3.1.	Tabellen der Mammatumordiagnosen	38
3.2.4.	Beschreibung der Veränderungen an den Axillarlymphknoten und Diagnosen	40
3.2.4.1.	Tabellen und Diagramme aller Axillarlymphknotendiagnosen	
3.2.4.1.1.	HE-gefärbte Lymphknoten	41
3.2.4.1.2.	Immungefärbte Lymphknoten	43
3.2.4.2.	Lokalisation der Axillarlymphknotenmetastasen	
3.2.4.2.1.	HE-Schnitte	46

3.2.4.2.2.	Immunschnitte	47
3.2.4.3.	Vergleich zwischen Axillarlymphknotenmetastasen und Axillarlymphknotenmikrometastasen	48
3.2.4.4.	Ergebnisvergleich zwischen histologischen HE- und immunhistochemischen Befunden	48
3.2.5.	Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Knochenschnitte	50
3.2.5.1.	Tabellen und Diagramme aller Knochenmetastasendiagnosen	50
3.2.5.2.	Lokalisation der Knochenmetastasen (Immunschnitte)	54
3.2.6.	Auflistung der Diagnosen Mammarleiste und Metastasen	55
3.2.7.	Beziehung zwischen Tumordiagnose und Metastasen	55
3.2.7.1.	Beziehung zwischen Tumordiagnose und Axillarlymphknotenmetastasen	55
3.2.7.2.	Beziehung zwischen Tumordiagnose und Knochenmetastasen	57
3.2.7.3.	Beziehung zwischen Tumordiagnose und weiteren Metastasen	58
3.2.8.	Lokalisation des Tumors und Metastasen	59
3.2.8.1.	Lokalisation des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen	60
3.2.9.	Größe des Tumors und Metastasen	60
3.2.9.1.	Größe des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen	60
3.2.10.	Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Metastasen	61
3.2.10.1.	Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Axillarlymphknotenmetastasen	61
3.2.11.	Lokalisation, Größe, multiples und solitäres Auftreten des Tumors sowie Knochenmetastasen	62
3.2.12.	Lokalisation, Größe, multiples und solitäres Auftreten des Tumors sowie weitere Metastasen	64
3.2.13.	Beziehung zwischen histologischen Befunden des Tumors und Metastasen	65
3.2.13.1.	Mitoserate der Tumorzellen und Metastasen	65
3.2.13.2.	Tumorzellbild und Tumorzellkernbild und Metastasen	66
3.2.13.3.	Stromaausbildung und Metastasen	68
3.2.13.4.	Tumorkapsel und Metastasen	69
3.2.13.5.	Wachstumsart des Tumors und Metastasen	69
3.2.13.6.	Entzündungsreaktion und Metastasen	71
3.2.13.7.	Nekrosenausbildung und Metastasen	71
3.2.13.8.	Blutungen und Metastasen	72
3.2.13.9.	Gefäßeinbrüche im Tumor und in der Tumorumgebung sowie Metastasen	73
3.2.13.10.	Lymphangiosis und Hämangiosis carcinomatosa und Metastasen	73
3.2.14.	Metastasierungsraten	74
3.2.14.1.	Axillarlymphknotenmetastasen und Fernmetastasen	74

4. Diskussion	76
5. Zusammenfassung	95
6. Summary	97
7. Anhang	99
7.1. Bildteil	119
7.2. Abkürzungsverzeichnis	121
8. Literaturverzeichnis	122
9. Lebenslauf	
10. Danksagung	

1. Einleitung

In der Veterinärmedizin nehmen Mammatumoren einen außergewöhnlichen Stellenwert ein. Erstens stellen sie die häufigste Neoplasie der Hündin dar; zweitens sind sie von besonderer Bedeutung, weil sie klinisch leicht erkennbar und therapeutisch besser zugänglich sind als die meisten anderen Geschwulsterkrankungen beim Hund; und drittens liegt bereits eine größere Zahl an Veröffentlichungen aus Klinik und Pathologie zu diesem Thema vor.

Immer wieder werden Untersuchungen an Mammatumoren beim Hund mit vorliegenden Sachverhalten beim Mammakarzinom der Frau verglichen. Mitunter werden canine Mammatumoren als Modell für biologisches Verhalten eines Tumors herangezogen und es wird die Aussagefähigkeit ihrer histopathologischen Befunde in der Humanmedizin diskutiert.

So interessiert besonders das sichere Kennzeichen für Malignität einer Geschwulst, die Metastasierung. Dem praktizierenden Tierarzt können Kenntnisse über vorhandene Metastasen für das weitere Vorgehen bei der Behandlung seiner Patienten helfen. In der Pathologie interessieren insbesondere vorgegebene Wege der Tumorzellen im Organismus und Zielorgane beziehungsweise Zielgewebe bestimmter metastasierungspotenter Primärtumoren.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, mit Hilfe der immunhistochemischen Darstellung von Mikrometastasen und Metastasen im Axillarlymphknoten und im Knochen bei Mammatumorträgern Lücken im Bild über das Metastasierungsverhalten von Mammatumoren der Hündin zu schließen. Hierzu wurden nach Klassifizierung der vorliegenden malignen Mammageschwulste die Axillarlymphknoten und ausgewählte Knochen immunhistochemisch aufgearbeitet und ausgewertet.

Eingehende Untersuchungen über Axillarlymphknotenmetastasen und Knochenmetastasen bei Mammatumoren der Hündin wurden in der Veterinärmedizin bisher nicht durchgeführt.

2. Literaturübersicht

2.1. Anatomie und Histologie der Milchdrüse der Hündin

2.1.1. Aufbau

Das Gesäuge der Hündin besteht in der Regel aus je fünf Mammarkomplexen (je 3-6 Komplexe), getrennt in der Medianen vom Sulcus intermammarius. Inkonstant sind somit beidseits von kranial bis kaudal zwei thorakale, zwei abdominale und ein inguinaler Komplex vorhanden (CHRISTENSEN 1979, HABERMEHL 1984).

Ein Mammarkomplex setzt sich zusammen aus einem Corpus mammae mit 16 bis 20 Glandulae mammae und 16 bis 20 Ductus lactiferi (Milchsammelgänge), die in 16 bis 20 Ductus papillares samt Ostia papillaria in einer Papilla mammae (Zitze) münden (HABERMEHL 1984, BUDRAS und FRICKE 1987).

Die Milchdrüse ist eine zusammengesetzte tubuläre Drüse mit verzweigten alveolären Endstücken.

Ihr Parenchym besteht aus Drüsenepithelien mit umgebendem Stroma.

Die kleinste, bindegewebig umhüllte Einheit stellt das Drüsenläppchen mit sezernierenden Drüsenschläuchen und -endstücken (Alveolen) dar. Ausgekleidet werden die Alveolen von einschichtigem Drüsenepithel, welches je nach Funktionszustand der Drüse von flach nach isoprismatisch bis hochprismatisch variiert.

Die einzelnen sezernierenden Epithelzellen sitzen einer Basalmembran auf und werden netzartig von Myoepithelzellen umgeben, welche mit kontraktile intrazellulären Elementen die Funktion glatter Muskelzellen erfüllen. Zwischen den Alveolen befindet sich wenig lockeres Bindegewebe mit Gefäßkapillaren.

Wachstum und Funktion der Drüsenzellen unterliegen hormonellen Einflüssen. Hierbei spielen Östrogene, das Wachstumshormon und Prostaglandine (Wachstum), sowie Östrogene, Progesterone und Prolaktin (Funktion) eine Rolle.

Die Zellen der kranialen thorakalen Komplexe sind funktionell weniger aktiv als die der übrigen Komplexe (CHRISTENSEN 1979, HABERMEHL 1984, LIEBICH 1990, NELSON und KELLY 1974).

2.1.2. Lymphatische Entsorgung der Mammarkomplexe

Die Lymphe der Mammarleiste wird von einem kaudalen Lymphocentrum (Lymphocentrum inguinale superficiale; Nll. inguinales superficiales), einem kranialem Lymphocentrum (Lymphocentrum axillare; Lymphonodus axillaris und Lymphonodus axillaris accessorius) und dem Lymphocentrum thoracicum ventrale (Lymphonodus sternalis cranialis) drainiert. Der Lymphonodus axillaris accessorius kommt nur bei etwa jedem 4. Hund vor (VOLLMERHAUS 1984, SAUTET et al. 1992, EVANS 1993, ROGERS et al. 1993).

Gemäß der Literaturmitteilungen fließt die Lymphe vom inguinalen Komplex (I) und vom kaudalen abdominalen Komplex (A2) direkt ins Lymphocentrum inguinale superficiale, während der abdominal kraniale Komplex (A1), der kaudale thorakale Komplex (T2) und der kraniale thorakale Komplex (T1) direkt vom Lymphocentrum axillare und Lymphocentrum thoracicum ventrale entsorgt werden. Lymphgefäßanastomosen bestehen zwischen I und A2, zwischen A2 und A1 und zwischen A1 und T2, so daß sowohl ein kaudaler Abfluß von Lymphe aus T2 und A1, als auch ein kranialer Abfluß von Lymphe aus I und A2 möglich ist. Allerdings ist die individuelle Variation in der Lymphgefäßausstattung bei Hündinnen beachtlich.

Kontralaterale Lymphgefäßanastomosen sind nicht vorhanden (VOLLMERHAUS 1984, SAUTET et al. 1992, EVANS 1993, ROGERS et al. 1993, BAUM 1918, WILKINSON 1971, GRAU 1974, THEILEN und MADEWELL 1979, CHRISTENSEN 1979, MIALOT et al. 1980, MAGNOL und ACHACHE 1983, MOULTON 1990).

Den Lymphzentren nachgeschaltet sind schließlich die Cisterna chyli (Lendenzisterne), der Ductus thoracicus oder direkt das Venensystem (VOLLMERHAUS 1984, FISHER und FISHER 1967).

2.1.3. Blutgefäßsystem der Gesäugeleiste (Venöse Entsorgung)

Die Mammarkomplexe A1, A2 und I führen ihr venöses Blut über die Vena epigastrica caudalis superficialis der Vena pudenda externa zu, wo es via Vena pudendoepigastrica, Vena iliaca externa und Vena iliaca communis in die Vena cava caudalis gelangt. Die Komplexe T2 und T1 sowie kraniale Abschnitte von A1 entsenden das venöse Blut über Rami mammarii zur Vena epigastrica cranialis superficialis, wobei der weitere Fluß über die Vena thoracica interna zur Vena cava cranialis führt (WILKENS 1984, BUDRAS und FRICKE 1987).

2.2. Anatomie und Histologie der Lymphgefäße und Blutgefäße

2.2.1. Lymphgefäße (Lymphkapillaren)

Die Lymphkapillaren, welche sich zu Kapillarnetzen vereinigen, die die Lymphe weitergeben, sind blind beginnende Kanäle, die durch ihren Feinbau die Drainagefunktion gewährleisten. Sie sind mit einem einschichtigen Endothel ausgekleidet und sie besitzen im Gegensatz zu den Blutkapillaren eine nur schwach entwickelte oder lückenhafte Basalmembran.

In bestimmten Organen fehlen Lymphgefäße, unter anderem im Parenchym des Knochenmarks (VOLLMERHAUS 1984, LIEBICH 1990).

2.2.2. Blutgefäße (Blutkapillaren und Venolen)

Blutkapillaren bilden ein feinverzweigtes Netz zwischen Arteriolen und postkapillären Venolen.

Ihr Endothel ist je nach Kapillartyp geschlossen, fenestriert oder offen, dementsprechend kann in bestimmten Kapillaren (Sinuskapillaren) auch die Basalmembran fehlen.

Venolen besitzen im Vergleich zu Kapillaren einen dickeren Wandaufbau mit vereinzelt intramuralen glatten Muskelfasern (VOLLMERHAUS 1984, LIEBICH 1990).

2.3. Anatomie und Histologie der Lymphknoten und Knochen

2.3.1. Makroskopischer Aufbau und Feinaufbau des Lymphknotens

Lymphknoten sind runde bis bohnenförmige Gebilde unterschiedlicher Größe. So ist der Axillarlymphknoten beim Hund 3-5 mm groß.

Die Lymphknoten sind von einer bindegewebigen Kapsel umgeben, von der schmale Septen (Trabekel) als Stützgerüst in die Tiefe des Organs ziehen. Das Lymphknotenparenchym wird von Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen gebildet (VOLLMERHAUS 1984, LIEBICH 1990).

2.3.2. Funktionseinheiten des Lymphknotens

Ein Lymphknoten läßt sich in eine äußere, subkapsuläre Rindenzone (Cortex) mit Lymphfollikeln, eine parakortikale (thymusabhängige) Zone und eine innere Markzone (Medulla) aus lymphoretikulärem Gewebe einteilen (LIEBICH 1990).

2.3.3. Lymph- und Blutgefäßversorgung des Lymphknotens

Afferente Lymphgefäße durchtreten die Lymphknotenkapsel an der konvexen Seite des Lymphknotens und erweitern sich subkapsulär zum Randsinus. Sie ziehen an den bindegewebigen Trabekeln (Intermediärsinus) entlang zum Lymphknotenmark (Marksinus), wo sie ein weitgekammertes Kavernensystem bilden. Dieses schließt sich zu einem Gefäß zusammen, das als efferentes Lymphgefäß den Lymphknoten über den Hilus verläßt (LIEBICH 1990).

Arterien und Venen gelangen bzw. verlassen das Organ über den Hilus (LIEBICH 1990).

2.3.4. Makroskopischer Aufbau und Feinaufbau des Knochens

Wirbeltierknochen teilt man nach der Form in Röhrenknochen (*Ossa longa*), platte und breite Knochen (*Ossa plana*) und in kurze Knochen (*Ossa brevia*) ein. Die langen Röhrenknochen werden in Epiphysis, Diaphysis und Metaphysis unterteilt.

Die Hartteile des Knochens werden vom bindegewebigen Periosteum ummantelt, in welchem unter anderem zahlreiche Nerven und Blutgefäße verlaufen.

Als Hartteile des Knochens finden sich die *Substantia compacta* aus Lamellenknorpelgewebe und darin befindlichen Kanälen mit Blutgefäßen (Haversche Kanäle), die *Substantia corticalis*, sowie die *Substantia spongiosa* im Knocheninneren. Das *Cavum medullare* und die *Cellulae medullares* der *Substantia spongiosa* enthalten das Knochenmark (*Medulla ossium*), welches beim wachsenden Tier als Blutbildungsorgan dient (aktives, rotes Knochenmark) und beim adultem Tier etwa zur Hälfte als Fettmark vorliegt. Das Knochenmark besitzt ein feines Netzwerk von Retikulumzellen, in dem Entwicklungsformen von Blutzellen, Blutgefäße und Fettzellen anzutreffen sind (NICKEL et al. 1984 (a), BUDRAS und FRICKE 1987, LIEBICH 1990).

Wie alle anderen Binde- und Stützgewebe ist das Knorpelgewebe mesenchymalen Ursprungs (LIEBICH 1990).

2.3.5. Lymph- und Blutgefäßversorgung des Knochens (Röhrenknochen)

Die intensive Blutversorgung des Knochens wird von vier verschiedenen untereinander anastomosierenden Versorgungssystemen übernommen.

Das Periost wird von zahlreichen Periostalgefäßen versorgt, welche in die Knochenoberfläche eintreten und über *Rami perforantes* und *Canales perforantes* in die Haverschen Kanäle der *Substantia compacta* ziehen. Querverbindungen zwischen den Kanälen sind vorhanden.

Arteria und *Vena epiphysialis* versorgen die Epiphyse, *A.* und *V. metaphysialis* die Metaphyse. Die größten Gefäße, die *Vasa nutritia* der Diaphyse, versorgen die Markräume. Im mittleren Abschnitt der Diaphyse treten die *Vasa nutritia* über den *Canalis nutritius* in den Markraum ein, verästeln sich in die Sinuside des Knochenmarks und versorgen zusätzlich die *Substantia compacta* von innen nach außen (in gegensätzlicher Richtung der *Aa. et Vv. periostales*) (BUDRAS und FRICKE 1987).

Lymphgefäße befinden sich nicht im Knochenmark (LIEBICH 1990).

2.4. Mammatumoren bei der Hündin

2.4.1. Epidemiologie

Die Neoplasien der Mamma stellen bei der Hündin die am häufigsten verbreitete Tumorerkrankung dar. Mehr als 50 % der Neoplasien der Hündin sind Mammatumoren (BOSTOCK 1986, WITHROW und MACEWEN 1996), wobei der Hauptanteil der Tumoren Karzinome sind. Der Hund weist unter den Haustieren die höchste Inzidenz für Geschwülste der Mamma auf (BRODEY et al. 1983).

Bis zum heutigen Zeitpunkt wurden keine geographischen Häufigkeiten im Vorkommen von Mammatumoren festgestellt, wie sie beispielsweise aus der Humanmedizin bekannt sind.

Eine Rassendisposition für Mammatumoren ist nicht deutlich, jedoch lassen sich aus verschiedenen Studien Tendenzen ablesen. Danach sind Dackel, Cocker-Spaniel und Pudel überdurchschnittlich häufige Mammatumorträger, Deutscher Schäferhund, Boxer und Mischlingshunde unterdurchschnittlich oft betroffen (FRESE 1985, BOMHARD und DREIACK 1977, ESKENS 1983, MAC VEAN et al. 1978).

Betrachtet man das Alter der erkrankten Hunde, so läßt sich ein kontinuierlicher Anstieg der Erkrankungsrate bis zum 10.-11. Lebensjahr feststellen, danach fällt die Erkrankungsrate wieder ab (SIMON et al. 1996, ELSE und HANNANT 1979, SCHNEIDER 1970).

Mehrere Autoren wählten den Hund als Modell für Neoplasien der weiblichen Brust, basierend auf vielen Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Spezies. So lassen sich Gemeinsamkeiten in der Epidemiologie, in der hormonellen Abhängigkeit des Krankheitsgeschehens, in der Morphologie, in präkanzerösen Veränderungen und vor allem im biologischen Verhalten der Tumoren erkennen (FRESE 1985).

2.4.2. Ätiologie

Über die Ursachen der Mammatumoren beim Hund ist nur wenig bekannt (FRESE 1985). Als sicher anzusehen ist jedoch, daß ätiologisch ein multifaktorielles Geschehen vorliegt (FERGUSON 1985). So werden Ernährung, Umwelteinflüsse, immunologische Faktoren, genetische Prädisposition, Viren, Zyklusunregelmäßigkeiten, Ovar- und Endometriumsveränderungen, Gravidität und Pseudogravidität von zahlreichen Autoren aufs Unterschiedlichste bewertet.

Endokrine Faktoren spielen in der Tumorentstehung scheinbar eine bedeutsame Rolle. So ist ein protektiver Effekt durch eine frühe Ovarioektomie bei der Hündin bekannt (FRANK et al. 1979, HAMILTON et al. 1977). SCHNEIDER et al. (1969) fanden heraus, daß Hündinnen, die vor dem ersten Östrus kastriert wurden, ein etwa 0,5 % hohes Mammatumorrisiko haben. Bei Hündinnen, die einen Östrus vor dem Kastrieren hatten, steigt das Mammatumorrisiko auf 8 % und solche Hündinnen mit zwei oder mehr Östren vor dem Kastrieren haben ein Risiko von 26 %. Nach Kastration im Alter von 2,5 Jahren besteht im Tumorrisiko kein Unterschied mehr zu nicht kastrierten Hündinnen.

Applikation von Progesteron und Progestagenen zur Läufigkeitsunterdrückung wird ebenfalls Tumorigenität zugeschrieben (GILES et al. 1978, FRESE 1985), wobei die Gabe von Progestagenen (Kontrazeptiva) stimulierende Wirkung auf die Somatotropinsekretion (Wachstumshormon) haben soll (EL ETREBY et al. 1979).

Unter Einsatz von Prolaktin-Hemmern zur Unterdrückung der Scheinträchtigkeit verkleinern sich klinisch manifeste Mammatumoren (GUTBERLET et al. 1998).

Zahlreiche Untersuchungen beschäftigen sich mit Östrogen- und Progesteronrezeptoren in gesundem und tumorösem Mammagewebe. Hierbei fällt auf, daß 92 % aller benignen Mammatumoren und 50-72 % aller malignen Mammatumoren Träger solcher Rezeptoren sind. Interessanterweise sind höher maligne Tumoren eher rezeptornegativ (GUTBERLET et al. 1998).

2.4.3. Klassifikation und Morphologie

Das morphologische Erscheinungsbild von Mammatumoren variiert beträchtlich (BOSTOCK und OWEN 1976).

Nach der World Health Organisation (MISDORP und HAMPE 1974) werden Mammatumoren nach ihrer Histogenese in epitheliale, mesenchymale und Mischtumoren eingeteilt.

Vor sowie nach dem Klassifizierungsvorschlag der WHO, der auf den Untersuchungen von MISDORP et al. (1971, 1972, 1973) basiert, gab es aufgrund der histologischen Variabilität der Mammatumoren verschiedenste untereinander nicht vergleichbare und nicht allgemein anerkannte Einteilungsvorschläge (MISDORP 1964, MOULTON et al. 1970, MONLUX et al. 1977, GILBERTSON et al. 1983, BOSTOCK 1986, MOULTON 1990).

Das im Vergleich zum Menschen und zu anderen Tierarten beim Hund oft zu beobachtende Phänomen, nämlich die häufige Beteiligung von Myoepithelzellen beim Mammatumorgeschehen (DESTEXHE et al. 1993), trug zu mißverständlichem Gebrauch der Nomenklatur in der Tumorklassifizierung bei. Da Zellen, die offensichtlich myoepithelialer Herkunft sind, recht unterschiedliche Differenzierungsbilder zeigen (SCHLOTKE 1976), besteht eine große Unsicherheit in der Beurteilung ihrer Abstammung (MISDORP 1976) sowie der Malignität solcher Veränderungen. Auch deshalb wurde 1994 von GUTBERLET eine Überarbeitung der WHO-Klassifikation vorgelegt.

70 bis 80 % aller Mammatumoren treten in den beiden abdominalen und dem inguinalen Komplex auf (ELSE und HANNANT 1979, BOSTOCK 1986, MOULTON 1990, GUTBERLET et al. 1998).

Angaben über multiples Auftreten von Neoplasien in der Gesäugeleiste variieren von 43 % (ELSE und HANNANT 1979) bis zu 80 % (GUTBERLET et al. 1998).

Bis zu 72 % der erkrankten Hündinnen haben in beiden Gesäugeleisten Tumoren (GUTBERLET et al. 1998), dabei können Tumoren unterschiedlicher Dignität in gleichen oder beiden Leisten nebeneinander lokalisiert sein (OWEN 1979, FERGUSON 1985).

2.4.3.1. Klassifikationsschema maligner Mammatumoren (Einteilungsmöglichkeit)

Eine Studie aus Hannover besagt, daß 75,6 % aller Tumoren des Gesäuges beim Hund maligner Natur sind (SIMON et al. 1996), während andere Autoren von niedrigeren Zahlen ausgehen (BOSTOCK 1986, KÄLIN et al. 1985). In einer Untersuchung von HELLMEN et al. (1993) enthielt das Material 30 % benigne Tumoren, 68 % maligne Tumoren und 2 % Dysplasien.

In Anlehnung der von GUTBERLET (1994) vorgelegten Überarbeitung der WHO-Klassifikation liegt folgendes Klassifikationschema für maligne Mammatumoren vor:

epithelial

Adenokarzinom

Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie

komplexes Karzinom (Drüsen- und Myoepithel maligne)

Myoepithelkarzinom

solides Karzinom

Spindelzellkarzinom

anaplastisches Karzinom

andere Karzinome (z. B. Plattenepithelkarzinom)

mesenchymal

Fibro-, Osteo-, Chondrosarkom

kombinierte Sarkome

Lymphosarkom

Liposarkom

Mastzellensarkom

epithelial und mesenchymal

Karzinom (maligner Misch-Tumor)

Kombination von malignen und benignen Tumoren

unklassifizierte Tumoren

2.4.3.2. Kriterien für Malignität

Die Metastasierungsfähigkeit eines Tumors wird als eindeutiges Malignitätszeichen gewertet (RIEDE und WEHNER 1986). Dabei kann schon ein Einbruch von Tumorzellen in Gefäße als potentieller Hinweis für die Metastasierungsgefahr eines Tumors herangezogen werden (GUTBERLET und RUDOLPH 1996). Allein die Fähigkeit von Tumorzellen zur Induzierung der Angiogenese zeigt deren Tendenz, die Metastasierungskaskade auszulösen (WATERS 1995).

Ein bösartiger Tumor wächst in charakteristischer Weise schnell, infiltriert die unmittelbare Tumorumgebung, invasiert Leitungsstrukturen und neigt nach seiner operativen Entfernung zu Rezidiven (RIEDE und WEHNER 1986).

Klinische Anzeichen für das Vorhandensein eines malignen Mammatumors können neben den oben genannten Charakteristika plattenartiges, mehrere Mammarkomplexe einschließendes Wachstum, Ulzeration durch die äußere Haut, unscharfe Begrenzungen, Rötung oder Blaufärbung der äußeren Haut, sowie Schmerzhaftigkeit oder Juckreiz sein (BOSTOCK und OWEN 1976, FERGUSON 1985, GUTBERLET et al. 1998).

Allerdings sollte zur Diagnoseabsicherung immer eine histologische Gewebsuntersuchung bzw. zytologische Begutachtung von gewonnenem Tumorbiopat erfolgen.

Somit können die aufgeführten klinischen Anzeichen nur als Hinweis für das Vorhandensein eines bösartigen Tumors dienen, als beweisendes Kriterium für Malignität können sie bis auf Tumormetastasierung und Rezidivbildung nicht herangezogen werden. Der vielleicht zuverlässigste klinische Indikator für mögliche Bösartigkeit ist die rasche Größenzunahme eines Tumors (ELSE und HANNANT 1979).

Die pathologisch-histologischen Parameter zur Beurteilung eines malignen Tumors sind infiltrierendes, invasives und destruierendes Zellwachstum; Fehlen, Inkonzanz oder Durchbruch der Tumorkapsel; hoher Zellgehalt; Vorhandensein von Nekrosen, vermehrter Stromareaktion, zahlreichen Blutgefäßen, ausgeprägten Blutungen und lymphozytären Infiltraten; uneinheitliche Zellgröße und polymorphe Kerngröße; häufige Zelltypen (Entdifferenzierung) und Mitosen; Fragmentation oder Fehlen von Basalmembranen; Verschiebung der Kern-Plasma Relation zugunsten des Kerns; Heterochromasie und vermehrter DNS-Gehalt und Vorhandensein mehrerer, vergrößerter Nukleoli (RIEDE und WEHNER 1986, GUTBERLET 1994, BRATULIC et al. 1996, BENAZZI et al. 1993).

2.4.3.3. Bedeutung der Klassifikation für die Prognose (Karzinome)

Aufgrund des histologischen Befundes und der sorgfältigen Klassifizierung einer Probe aus Mammatumorgewebe läßt sich nach heutiger Erfahrung vom Tumortyp auf dessen tendenzielle Bösartigkeit schließen. Aus zahlreichen Sektionsstudien und Verlaufsuntersuchungen bei Mammaneoplasien der Hündin ergibt sich eine Rangfolge, wie sich ein bestimmter Tumor im Hinblick auf das weitere Krankheitsgeschehen in der Regel verhält.

Da das Vorkommen von multiplen Tumoren in den Gesäugeleiten des gleichen Individuums ein häufig zu beobachtendes Phänomen darstellt (FERGUSON 1985), sollte jede einzelne Veränderung separat beurteilt und das bösartige Potential der Geschwulsterkrankung an dem als aggressivsten identifizierten Tumor festgemacht werden (HARVEY 1976).

Liegt neben den entarteten Drüsenepithelien eine myoepitheliale Komponente vor, so scheint es von außerordentlicher Wichtigkeit zu sein, die Myoepithelien nach ihrem Differenzierungszustand zu beurteilen. In dem Sinne wird der Begriff des komplexen Karzinoms neu definiert. Liegt lediglich eine Myoepithelhyperplasie vor, so sollte die Diagnose Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie lauten, ist das Myoepithel neoplastisch entartet, heißt die Diagnose komplexes Karzinom (GUTBERLET et al. 1998).

Erwiesenermaßen wachsen Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie (alte Bezeichnung: komplexes Karzinom) eher expansiv mit seltenen Lymphgefäß- und Blutgefäßeinbrüchen (FRESE 1985, MISDORP und HART 1976, MISDORP et al. 1972). Als bösartiger läßt sich das Adenokarzinom (nur Drüsenepithelien entartet) einstufen, aufgrund infiltrativem, invasivem Wachstum mit häufiger zu beobachtenden Gefäßeinbrüchen (FRESE 1985, MISDORP et al. 1972). Das Gleiche gilt für das neu definierte komplexe Karzinom. Solide Karzinome wachsen in stromaarmen, soliden Tumormassen mit häufigen Gefäßeinbrüchen und hoher Metastasierungsrate (FRESE 1985, MISDORP et al. 1972, KÄLIN et al. 1985, MOULTON 1990). Anaplastische Karzinome fallen schon makroskopisch durch plattenartiges, mehrere Mammarkomplexe einschließendes Wachstum auf. Histologisch findet sich ein polymorphes Zellbild mit massiver Lymphangiosis carcinomatosa (FRESE 1985, MISDORP et al. 1973, DELLA SALDA et al. 1993).

Nach KÄLIN et al. (1985) verhalten sich solide und anaplastische Karzinome besonders bösartig.

Zusammenfassend läßt sich folgende Rangfolge von Karzinomen der Milchdrüse nach deren Malignität aufstellen:

Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie < Adenokarzinom < komplexes Karzinom < solides Karzinom < anaplastisches Karzinom.

2.4.4. Metastasierung

Unter Metastasierung im weiteren Sinne versteht man die Verschleppung eines Krankheitsprozesses von einer Körperstelle an eine andere. Dabei wird der am neuen Ort entstandene Krankheitsprozeß Metastase genannt (RIEDE und WEHNER 1986). Prozesse, die an der Verschleppung maligner Zellen beteiligt sind und ihr An- und Weiterwachsen in entfernteren Körperregionen verwirklichen, faßt man unter dem Begriff Metastasierung im engeren Sinne zusammen.

Das ultimative Anzeichen einer Krebserkrankung ist die Metastase (MISDORP 1976, FERGUSON 1985).

Für WEISS (1984) sind Tumorinvasion und Metastasierung allgemeingültige pathobiologische Prinzipien. Obwohl Mensch und Hund phylogenetisch weit auseinanderliegen, gelten für beide Spezies die gleichen pathobiologischen Prinzipien. Nach GILBETSON et al. (1983) ist das biologische Verhalten von caninen Mammaneoplasien gleich dem humaner Läsionen.

Nach heutigen Erkenntnissen müssen Tumorzellen bestimmte Eigenschaften besitzen, um metastasierungspotent sein zu können. Diese Eigenschaften werden in der Metastasierungskaskade zusammengefaßt: Angiogenesis, Verlust der Zell-Zell-Kontakte und der Zell-Gewebsadhäsion, Basalmembrandegradation, Gewebsdestruktion und Invasion, Gefäßeinbruch, Endotheladhäsion und intravaskuläres Überleben, Gefäßaustritt, Wachstum an einem entfernten Ort (BLOOD und ZETTER 1990, MAHADEVAN und HART 1990, AZNAVOORIAN et al. 1993, STETLER-STEVENSON 1990, WATERS 1995, HÜLSKEN et al. 1994, WILHELM et al. 1994).

Nach MOULTON (1990) metastasieren ca. 25 % der histologisch als bösartig diagnostizierten epithelialen Mammatumoren, während in einer post mortem Studie über 155 Hunde mit histologisch bösartigen Tumoren von MISDORP und HART (1979) 83 % der Hunde Metastasen ausgebildet hatten. In einer Retrospektivstudie über 100 Sektionen von Hündinnen mit malignen Mammageschwulsten hatten sogar 93 % der Hunde Metastasen (BRODEY et al. 1983).

Nach einer Literaturzusammenstellung von MOULTON (1990) sind von metastasierenden Mammatumoren der Hündin folgende Organe betroffen: Regionäre Lymphknoten (64 %), Lunge (53 %), Gehirn (15 %), Leber (13 %), Niere (11 %), Herz (11 %), Skelett (10 %).

2.4.4.1. Lymphogene Metastasierung und Lymphangiosis carcinomatosa

Eine lymphogene Metastasierung liegt vor, wenn Tumorzellen nach aktiver oder passiver Invasion (CARR 1983, CARR et al. 1987) in das Lymphgefäßsystem auf dem Lymphwege verschleppt werden und zu Metastasen (zum Beispiel in den regionären Lymphknoten) heranwachsen. Der Einbruch in die Lymphgefäße erfolgt sehr häufig, da diese keine Basalmembran aufweisen (siehe Kap. 2.2.1.). Es kann schon ein Steckenbleiben und eine Vermehrung von Tumorzellen im Lymphgefäß erfolgen (Lymphangiosis carcinomatosa), meist erfolgt diese jedoch im regionären Lymphknoten.

Die Tumorzellen lagern sich vorerst im subkapsulären Randsinus ab und siedeln sich später in Durchflußrichtung im Lymphknoten an (siehe Kap. 2.3.3.) und proliferieren oder werden von der Immunantwort des Wirtes vernichtet (GILSON 1995). Vom regionären Lymphknoten aus können die Tumorzellen zu nachgeschalteten Lymphknoten oder über große Lymphgefäße, zum Beispiel den Ductus thoracicus, in die Blutbahn gelangen. Das lymphatische System hat persistierende lympho-venöse Verbindungen (FISHER und FISHER 1967, MALEK et al. 1965).

Eine primär lymphogene Metastasierung zeigt sich oft mit Fortschreiten des Krankheitsprozesses als eine lympho-hämatogene Kombination (WEISS 1984). Auch MISDORP und HART (1979) beschreiben diese indirekte hämatogene Streuung von Tumorzellen über die Lymphknoten hinaus. 50 % bis 60 % der Krebszellen passieren den Lymphknoten schnell und gelangen in efferente Lymphbahnen (5 %-15 %) oder über Anastomosen in das Venensystem (35 %-50 %) (CARR 1983, CARR et al. 1987, FISHER und FISHER 1967).

Als Faustregel gilt, daß Karzinome bevorzugt lymphogen, Sarkome dagegen bevorzugt hämatogen metastasieren (WEISS 1984).

2.4.4.2. Hämatogene Metastasierung und Hämangiosis carcinomatosa

Bei der hämatogenen Metastasierung gelangen Tumorzellen entweder über die Lymphgefäße und Lymphknoten in das Blutgefäßsystem oder es erfolgt deren Invasion direkt in die Wände kleiner Venen (RIEDE und WEHNER 1986). MISDORP und HART (1979) beschreiben bei 53 % der von ihnen untersuchten Mammatumoren eine lymphogene Verbreitung, in 64 % der Fälle eine hämatogene. Eine Untersuchung von GUTBERLET und RUDOLPH (1996) zeigt einen hohen Prozentsatz von Hämangiosis bzw. Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa im Verhältnis zur reinen Lymphangiosis carcinomatosa.

Weitere Untersuchungen haben gezeigt, daß das Verständnis für die hämatogene Verbreitung bösartiger Zellen nicht nur einfach auf der Basis von anatomisch vorgegebenen Wegen erfolgen darf (HART 1982, PAULI et al. 1990). Es lassen sich jedoch Gesetzmäßigkeiten in der Ausbreitung von tumorösen Zellen im Organismus aufstellen. Der Weg von Geschwulstzellen der Mamma führt über Körpervenen in die Hohlvenen, dann in den rechten Vorhof des Herzens, von dort in das rechte Herz und schließlich über die Arteria pulmonalis in die Lunge, was dem Cavatyp der Metastasierung entspricht. Von dieser Tochtergeschwulst ausgehend, können Tumorzellen invasiv in Lungenvenen einwachsen, um sich dann über Venae pulmonales, linken Herzvorhof, linke Herzkammer und Aorta über die gesamte Körperperipherie ausbreiten. Findet nun eine Absiedelung von Tumorzellen in der Peripherie statt, so werden diese als Einzelmetastasen bezeichnet (WEISS und KARBE 1990). Eine Absiedelung von Tumorzellen in fernen Organen (zum Beispiel Leber, Knochen) ohne eine Lungenbeteiligung (genannt: Bypassing) ist nach MISDORP und HART (1979) sehr ungewöhnlich.

2.4.4.3. Invasions- und Metastasierungsmechanismen von Tumorzellen

Der Verlust der räumlichen Kontrolle führt zur Entwicklung von invasivem Verhalten der Tumorzellen (WATERS 1995). Desweiteren müssen die Zellen die Kompetenz besitzen, die in Kap. 2.4.4. beschriebene Metastasierungskaskade zu durchlaufen. So muß ein Tumor größer als 2 mm im Durchmesser sein, um angiogenetisch kompetente Zellen zu besitzen (FOLKMANN 1990). Neu geformte Tumorzellvenolen sind hyperpermeabel und repräsentieren eine weniger effektive Barriere für Tumorzelldurchtritt als normale Gefäße.

Aus zahlreichen Untersuchungen wird deutlich, daß Tumorzellen Strukturproteine und Stoffwechsellzyme entweder vermindert, gar nicht oder vermehrt exprimieren.

So stehen die Fähigkeiten von Tumorzellen, anhängende Gewebeabschnitte zu zerstören (Invasibilität) und ihre Metastasierungskompetenz im Zusammenhang mit der Expression von Matrix-Metalloproteinasen (MMP) (BIRKEDAL-HANSEN et al. 1993, KORCZAK et al. 1991).

In metastatischen Tumorzellen wurden höhere Aktivitäten von Matrix-Metalloproteinasen, beispielsweise der 92 kDA (MMP 9) Typ IV-Kollagenase, nachgewiesen als in nichtmetastatischen Zellen (DAVIES et al. 1993, JUAREZ et al. 1993).

Die Adhäsion von Tumorzelle zu Tumorzelle ist in invasiven und in metastatischen Krebsformen oft herabgesetzt (MORTON et al. 1993). Dabei spielt wahrscheinlich die verminderte bzw. fehlende Expression von E-Cadherin eine entscheidende Rolle.

Metastatische Tumorzellen scheinen im Blutstrom mit Blutplättchen und immunkompetenten Zellen, wie NK-Zellen und Makrophagen, zu interagieren (HONN et al. 1992, GORELIK et al. 1984, FIDLER 1985).

Das Verweilen von Tumorzellen im peripheren Kapillarbett und der Austritt in das Parenchym des Zielorgans hängt mit einer Serie von komplexen Interaktionen der Tumorzellen mit Kapillarendothelien, Basalmembranen und extrazellulärer Matrix zusammen (HONN und TANG 1992, WEISS et al. 1988).

2.4.4.4. Definition Mikrometastase

Eine allgemein anerkannte Definition des Begriffs der Mikrometastase ist bislang nicht bekannt (GALEA et al. 1991). Erstens herrscht Unklarheit darüber, ab wann eine Mikrometastase beginnt (GEORGII 1984) und zweitens steht eine genaue Differenzierung zwischen Mikro- und Makrometastase ebenfalls aus.

Sind nun, wie von verschiedenen Autoren behauptet, nachweislich einzelne Tumorzellen schon eine Mikrometastase oder sind vereinzelt Tumorzellen zum Beispiel im Randsinus des Lymphknotens oder im Knochenmark nur ein passageres Phänomen im Metastasierungsprozess und entsprechend nicht eine etablierte Metastase ?

Kein Zweifel sollte jedoch darüber bestehen, daß eine einzelne Tumorzelle oder einzelne Zellen eine potentielle Metastase darstellen und daß ein Lymphknoten beispielsweise mit nur einer einzelnen Tumorzelle als metastasenpositiv angesehen werden sollte (DOERR 1984, HÜBNER 1984).

WATERS (1995) liefert als biologische Definition der Mikrometastase eine präangiogenetische Läsion mit weniger als 2 mm im Durchmesser.

2.4.4.5. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Axillarlymphknoten

Untersuchungen über Mammatumormetastasen in den Inguinallymphknoten sind beim Hund zahlreich vorhanden (COTCHIN 1958, DAHME und WEISS 1958, VAN OOYEN und MISDORP 1967, FIDLER und BRODEY 1967 (a), MISDORP et al. 1971, 1972, 1973, NERURKRAR et al. 1989, BUSCH 1993).

Vergleichbare Studien über das Vorkommen sowie die prognostische Wichtigkeit von Axillarlymphknotenmetastasen beim Hund sind bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vorhanden, obwohl eine Untersuchung von MISDORP und HART (1979) keinen Unterschied in der lymphogenen Metastasierung kaudaler und kranialer Mammarkomplexe feststellen konnte. Genaue Zahlen liegen jedoch nicht vor.

2.4.4.6. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Knochen

Die Metastasierung in das Skelettsystem erfolgt ausschließlich auf hämatogenem Weg oder durch Invasion. Es gibt einige Veröffentlichungen, die sich mit Knochenmetastasen in der Veterinärmedizin befassen. Ihr gemeinsamer Tenor ist der, daß sie bei der Hündin viel seltener vorkommen als bei der Frau (MISDORP und DEN HERDER 1966, FIDLER und BRODEY 1967 (a), GOEDEGEBUURE 1979). In einer Literaturzusammenstellung von MOULTON (1990) wird die Häufigkeit von Skelettmetastasen bei malignen Mammatumoren mit 10 % angegeben.

Allerdings sind Mammatumoren insgesamt die häufigste Quelle für Knochenmetastasen (RUSSELL und WALKER 1983).

Würde das Skelett gründlicher untersucht, würden vielleicht häufiger Metastasen gefunden, wie es in der Humanmedizin üblich ist (MOULTON 1990), obwohl es sicher auch Schwierigkeiten in Diagnose und Differentialdiagnose (Osteosarkom, Osteomyelitis) gibt (MISDORP 1976).

Weiterhin wird festgehalten, daß klinische Symptome von Knochenmetastasen beim Tier oft fehlen (GIBBS et al. 1985).

Die Prädilektionsstellen für Knochenmetastasen beim Hund gleichen denen in der Humanmedizin (GOEDEGEBUURE 1979, BRODEY et al. 1983). Es sind das Axialskelett mit Wirbelsäule (speziell Lendenwirbelsäule), Becken und Rippen, hinzu kommen die proximalen Epi- und Metaphysen der langen Röhrenknochen Humerus und Femur. Distal von Oberarm- und Oberschenkelknochen sind Knochenmetastasen selten anzutreffen (REMMELE 1984, BARTH 1990, TOBIAS 1991, CAMPANACCI 1991, DIEL et al. 1994).

In einer Studie aus den Niederlanden (GOEDEGEBUURE 1979) wurden 98 bösartige canine Tumoren epithelialen Ursprungs auf Knochenmetastasen untersucht. Es ergab sich eine Häufigkeit von 21 % (Tumoren mesenchymalen Ursprungs hatten eine geringere Häufigkeit). Jedoch geben die Autoren zu bedenken, daß auf das Vorhandensein von Mikrometastasen in ihrer Studie nicht geachtet wurde. Als Denkanstoß, warum beim Hund Knochenmetastasen selten diagnostiziert werden, geben sie erstens an, daß sich Metastasen vor dem Tod des Hundes nicht komplett ausbilden konnten. Zweitens gibt es beim Hund viel weniger klinische und röntgenologische Untersuchungen als bei der Frau; Obduktionen werden in der Veterinärmedizin möglicherweise weniger gründlich durchgeführt. Drittens werden viele Metastasen im Skelettsystem als Primärtumoren mißinterpretiert.

Auch schon KAS et al. gaben 1969 zu Bedenken, daß röntgenologische und post mortem Untersuchungen beim Menschen gründlicher als beim Hund durchgeführt würden.

Aus den Literaturangaben wird deutlich, daß die Autoren zwar Knochenmetastasen bei Mammatumoren der Hündin als seltenes Ereignis ansehen, trotzdem aber darauf hinweisen, daß gründlichere Untersuchungen ausstehen.

2.4.4.7. Einfluß von Metastasen auf die Prognose

Der Einfluß von Lymphknotenmetastasen auf die Prognose, in der Humanmedizin wichtigster prognostischer Faktor (BÄSSLER 1978), wird in der veterinärmedizinischen Literatur unterschiedlich gewertet. Für VON SANDERSLEBEN (1959) und GILBERTSON et al. (1983) besteht sehr wohl ein Zusammenhang von regionärer Lymphknotenmetastasierung und ungünstiger Prognose, währenddessen diese von MISDORP und HART (1979) und OWEN (1979) nicht so gesehen wird.

Es ist für die Prognose in jedem Fall bedeutungsvoll, alle relevanten Lymphknoten zu extirpieren und jedes gewonnene Gewebe zur histologischen Untersuchung einzuschicken (VON SANDERSLEBEN 1968, BOSTOCK 1986).

Selten, wenn nicht sogar niemals tötet jedoch eine bösartige Lymphadenopathie den Patienten (GILSON 1995), wenn es nicht Metastasen in lebenswichtige Organen sind.

So haben Fernmetastasen, insbesondere Lungen-, Leber-, Knochen- und Hirnmetastasen, einen ungünstigen prognostischen Faktor, gerade weil sie bei betroffenen Hunden einen hohen Prozentsatz der Todesursachen ausmachen oder einen Euthanasiegrund darstellen.

Unter diesem Aspekt scheint es nicht sinnvoll zu sein, kritiklos Lymphknoten zu entfernen, wenn systemische Metastasen vorliegen.

2.5. Mammatumoren bei der Frau

2.5.1. Vorkommen, histologische Klassifizierung und Stadieneinteilung

Das Mammakarzinom (Brustkrebs) ist in den entwickelten Ländern das häufigste Karzinom der Frau (MAASS 1994). Brustkrebs manifestiert sich meistens in der fünften Lebensdekade. Neueren Analysen zufolge muß jede achte Frau damit rechnen, im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs zu erkranken (FEUER et al. 1993).

Duktale Mammakarzinome leiten sich von den Epithelien der Milchgänge ab. Es werden intraduktale Karzinome von invasiven duktalem Karzinomen (mit 80 % häufigster Karzinomtyp der Brustdrüse) unterschieden. Lobuläre Karzinome lassen sich von den Läppchenazini ableiten, wobei ein lobuläres Carcinoma in situ und ein invasives lobuläres Karzinom unterschieden wird. Seltene Sonderformen sind das tubuläre Karzinom, das papilläre Karzinom, das muzinöse Karzinom und das medulläre Karzinom.

Die internationale Klassifikation nach dem TNM-System der Union Internationale contre le Cancer (UICC) kombiniert die Teilbefunde T (Primärtumor), N (regionale Lymphknoten) und M (Fernmetastasen) zu einer klinischen Stadieneinteilung des Brustkrebs in vier Stadien (I-IV).

2.5.2. Mammakarzinom und Metastasierung

Mammakarzinome der Frau metastasieren sowohl lymphogen als auch hämatogen.

Hämatogene Metastasen sind am häufigsten im Knochen (70 %) zu finden, gefolgt von Lunge (60 %) und Leber (50 %) (WITTEKIND und RIEDE 1986).

2.5.2.2. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Axillarlymphknoten

Die Drainage der Brustdrüsenlymphe der Frau erfolgt über drei Gefäßsysteme: Oberflächliche Lymphgefäße, den Plexus subareolaris und tiefe Lymphgefäße des Drüsenkörpers (DOERR et al. 1978). 75 % der mammären Lymphe fließt über sechs regionale axilläre Lymphknotengruppen, die sich aus 30-40 Einzellymphknoten zusammensetzen (HAAGENSEN 1972). Durch die axillären Lymphknoten wird ein Netzwerk zwischen Brustdrüse und der Zirkulation der Vena subclavia ausgebildet (MISDORP 1976).

Bei der Frau wird dem Auffinden von Mammakarzinometastasen in regionären Lymphknoten eine unbestrittene prognostische Bedeutung angemessen. Der Lymphknotenbefall ist bis heute sogar der wichtigste Prognosefaktor des primären Mammakarzinoms (JONAT et al. 1994).

In diesem Zusammenhang ist die Lokalisation des Primärtumors innerhalb eines tributären Lymphabflußgebietes ein grundlegendes Phänomen, dem die Metastasierungsrichtung zum jeweiligen Lymphknoten zugrunde liegt (BÄSSLER 1978, MÜLLER et al. 1984).

Ein im oberen äußeren Quadranten der Brust gelegener Tumor setzt Axillarlymphknotenmetastasen (HAAGENSEN 1972), während ein zentral gelegener Tumor über tiefe Lymphgefäße in sternale Lymphknoten metastasiert. 50-60 % der Mammakarzinome sind im oberen äußeren Quadranten der Brust lokalisiert.

Allgemeingültig anerkannt ist ferner, daß die Größe des Primärtumors mit lymphogener Metastasierung korreliert (GEPPERT et al. 1984). Tumoren >2 cm weisen häufiger Lymphknotenmetastasen auf als Tumoren <2 cm. Danach ist ein direkter Zusammenhang zwischen Tumorgröße und einer Verschlechterung der Prognose nachweisbar (CARTER et al. 1989).

Eine Studie von STOSIEK et al. (1996) befaßt sich mit der prognostischen Bedeutung von Mikrometastasen im Axillarlymphknoten beim Mammakarzinom. Es ergab sich als Gesamtaussage, daß zusätzlich immunhistochemisch gefundene Mikrometastasen im ansonsten metastasenfreen regionalen Lymphknoten als echte, prognostisch relevante Metastasen anzusehen sind.

2.5.2.3. Metastasierung von Mammatumorzellen in die Knochen

Trotz radikaler regionärer Therapieverfahren (Chirurgie, Strahlentherapie) und fehlendem Nachweis einer hämatogenen Streuung von Tumorzellen mit konventionellen diagnostischen Verfahren (Radiologie, Nuklearmedizin) zum Zeitpunkt der Primäroperation, entwickeln etwa 50 % der Patienten mit epithelialen Malignomen innerhalb von 5 Jahren Fernmetastasen (ORUZIO et al. 1997). Die meisten dieser Knochenmetastasen lassen sich auf Karzinome der folgenden vier Organe zurückführen: Brustdrüse, Prostata, Lunge und Niere (CAMPANACCI 1991).

Es wird davon ausgegangen, daß das Skelett von Frauen mit Mammakarzinomen in 50 % bis 70 % der Fälle Metastasen enthält (JOHNSTON 1970, REMMELE 1984, BARTH 1990), dabei ist die Knochenmarkhöhle häufigste Metastasierungslokalisation (EWERBECK 1992). Die Sinusoide des roten Knochenmarks, die Orte der Hämatopoese, sind aufgrund der großen vaskulären Verteilung prädestiniert für die Absiedelung von Metastasen (RUSSELL und WALKER 1983).

Histologische Untersuchungen von Knochenmarksbiopsien sind derzeit wohl die zuverlässigste Methode, um eine Metastasierung zu erfassen (VYKOUPIIL et al. 1984), wobei die Immunhistochemie mit monoklonalen Antikörpern gegen intrazelluläre Bestandteile von Epithelialzellen (Zytokeratine) den „Goldstandard“ bezüglich des Nachweises von Mikrometastasen im Knochenmark darstellt (ORUZIO et al. 1997).

Erstaunlich ist, daß beim Brustkrebs der Frau Knochenmetastasen frequenter sind als Lungenmetastasen, bzw. daß Knochenmetastasen ohne Lungenmetastasen zu finden sind. Eine mögliche Erklärung hierfür liefert CAMPANACCI (1991): Es besteht eine direkte Verbindung des venösen Plexus der Wirbelsäule mit dem venösen Netz der thorakalen und abdominalen Wand (also mit dem venösen Entsorgungsnetz der Brustdrüse). Die Verbindung dieser beiden Venensysteme wird durch klappenlose Anastomosen hergestellt, in denen sich bei intraabdominalem und intrathorakalem Druckanstieg der Blutfluß umkehrt, das Blut also von thorakoabdominal in das vertebrale Venensystem fließt. Das vertebrale Venensystem seinerseits hat direkte Verbindung zu den Venen des Stammskeletts und proximalen Femurs. Das vertebrale Venensystem existiert auch beim Hund (OWEN 1969).

2.6. Das Zytoskelett

2.6.1. Die Moleküle des Zytoskeletts

Die intrazellulären Bestandteile einer Zelle, die solche vielfältigen Aufgaben wie zum Beispiel Zellstabilität, Formgebung der Zelle, Zellbewegung und Zellteilung ermöglichen, lassen sich mit dem Begriff der Filamentsysteme zusammenfassen. Die Filamentsysteme der Zelle setzen sich aus Eiweißfasern zusammen, welche charakteristisch für jedes System sind und durch deren Nachweis der jeweilige Zelltyp erkennbar ist.

Die fünf Filamentsysteme sind in folgender Tabelle zusammengefaßt (nach LOBECK 1990):

Filamentsystem	Proteine
Intermediärfilamente	Desmin, Vimentin, Gliafasern, Neurofilamente, Zytokeratine
Mikrofilamente	Aktin, Aktinin, Filamin, Myosin, Talin, Tropomyosin, Villin, Vinculin
Mikrotubuli	Tubulin, MAP, Dynein
Lamine	Lamine
Spectrin	Spectrin

2.6.2. Intermediärfilamente

Die Intermediärfilamente, die der Zelle eine hohe Stabilität verleihen, sind die am wenigsten löslichen Bestandteile des Protoplasmas (LIEBICH 1990). Sie weisen im Hinblick auf ihren Polypeptidcharakter eine hohe Zellspezifität auf. Elektronenmikroskopisch lassen sich fünf Subtypen unterscheiden, deren Vorkommen bestimmten Zellen zuzuordnen ist.

Subtypen der Intermediärfilamente:

Typ	Vorkommen
Vimentin	mesenchymale Zellen
Neurofilamente	Neurone, Ganglienzellen
Desmin	Muskelzellen
Gliafilamente	Astrozyten
Zytokeratine	epitheliale Zellen

2.6.3. Zytokeratine

Zytokeratine werden von epithelialen Zellen exprimiert, nicht-epitheliale Gewebe enthalten keine Zytokeratinfilamente (OSBORN und WEBER 1983, ALTMANNSSBERGER 1988, LOBECK 1990). Bis heute wurden 20 verschiedene Subtypen (zwölf saure Zytokeratine=Typ I, acht basische Zytokeratine=Typ II) von Zytokeratinen in der Humanmedizin beschrieben, welche jeweils für bestimmte epitheliale Gewebe charakteristisch sind (MOLL et al. 1982, DESTEXHE et al. 1993).

Zytokeratine haben ein Molekulargewicht von 40 bis 70 Kilodalton. Sie werden durchnummeriert von Nr.1-20 (MOLL et al. 1982, TSENG et al. 1982, SUN et al. 1984, COOPER et al. 1984, MOLL 1988).

Unterschiedliche Aminosäuresequenzen, ihr isoelektrischer Punkt (IP) und das Molekulargewicht (MG) charakterisieren die einzelnen Zytokeratine (MOLL et al. 1982, HANOKOGLU und FUCHS 1983, WEBER und GEISLER 1984, STEINERT et al. 1985, COOPER et al. 1985).

Zytokeratintyp	Zytokeratin-Nr.	MG	IP
Typ I/A sauer	9-20	40-64 kd	4,8-5,7
TypII/B basisch	1-8	54-70 kd	5,8-8,0

Nr.: Nummer, MG: Molekulargewicht, kd: Kilodalton, IP: isoelektrischer Punkt

Saure und basische Zytokeratine treten jeweils in bestimmter Kombination in epithelialen Geweben auf, zum Beispiel CK (Zytokeratin) 1/9, CK 8/18 (SUN et al. 1984, MOLL 1986).

2.6.3.1. Expression von Zytokeratinen in Epithelzellen der Milchdrüse, in Mammakarzinomen und deren Metastasen beim Menschen

Zytokeratine eignen sich vortrefflich als Epithelzellmarker und werden in immunhistopathologischen und immunzytologischen Diagnostikverfahren in der Humanmedizin zur Klassifizierung wenig differenzierter Tumoren und deren Metastasen und zur Identifizierung von Tumorzellemboli und Mikrometastasen in nichtepithelialen Geweben wie dem Knochenmark eingesetzt (LOBECK 1990, ORUZIO et al. 1997).

WELLS et al. (1984), BUSSOLATI et al. (1986) und STOSIEK et al. (1986) waren die ersten Arbeitsgruppen, die Epithelzellmarker zum Nachweis von Mikrometastasen in den regionalen Lymphknoten von Organkarzinomen beim Menschen nutzten.

Die Epithelzellen der nicht tumorös veränderten Brustdrüse exprimieren im einschichtigen Epithel CK 7 und CK 8/18, myoepitheliale Zellen exprimieren CK 5/14 und CK 5/17 und die Zellen der Epithelien der Drüsenendstücke exprimieren CK 19 (ALTMANNBERGER et al. 1981 a und b, 1985, 1986, 1988, OSBORN und WEBER 1983, MIETTINEN et al. 1984, BARTEK et al. 1985 a und b, CASELITZ et al. 1985, NAGLE et al. 1986, ASCH und ASCH 1986).

Für ein Organ charakteristische Zytokeratinmuster bleiben sowohl in karzinomatös veränderten Geweben (HYNES und DESTREE 1978), wie auch in Metastasen von diesen Geweben erhalten. Das bedeutet, daß neoplastische Mammaepithelien die gleichen Zytokeratine exprimieren wie nicht-tumorös veränderte Epithelien. Somit läßt sich ein Rückschluß von gefundenen Metastasen auf das Ausgangsepithelgewebe herstellen.

2.6.3.2. Expression von Zytokeratinen in Epithelzellen der Milchdrüse, in Mammatumoren und deren Metastasen beim Hund

Bis zum heutigen Zeitpunkt gab es mehrfach von einigen veterinärmedizinischen Arbeitsgruppen Versuche, Zytokeratine in caninem Mammagewebe, caninem neoplastisch entarteten Mammagewebe und dessen Metastasen mit verschiedenen kommerziellen Antikörpern aus der Humanmedizin nachzuweisen.

Aus ausgewählten Literaturangaben ergibt sich, daß folgende Zytokeratine immunhistochemisch an caninen Mammageweben nachgewiesen werden konnten:

<u>Quelle</u>	<u>Zytokeratine</u>	<u>Gewebe</u>	<u>Antikörper</u>	<u>Methode</u>
WALTER, KLING (1995)	CK 8/18, 7, 10, 13, 14, 18, 19	MG, nMG	AE1, CAM 5.2, Ks 7.18, CKB1, DE K10, AE8	APAAP
GRIFFEY et al. (1993)	CK 8, 10, 14, 18, 19	MG, hMG, nMG	AE1/AE3, 13H5, 312C8-1	ABC
DESTEXHE et al. (1993)	CK 8, 18, 19	MG, nMG	CAM 5.2, Clone 170.2.15	ABC
VOS et al. (1993)	CK 7, 8, 14, 18, 19	MG	RCK 102, CAM 5.2, RCK 105, RGE 53, LP2K, RCK 107	ABC
VOS et al. (1993)	CK 7, 8, 14, 18, 19	nMG, Met	RCK 102, CAM 5.2, RCK 105, RGE 53, LP2K, RCK 107	ABC

CK: Zytokeratin, MG: Mammagewebe, nMG: neoplastisches Mammagewebe, hMG: hyperplastisches Mammagewebe, Met: Metastasen, APAAP: Alkalische Phosphatase, Anti-Alkalische Phosphatase Komplex, ABC: Avidin Biotin Peroxidase Komplex

Aus den Färbeversuchen ergab sich ferner, daß spezifische Zytokeratinmuster für bestimmte Epithelzellen der Mamma gelten:

<u>Zytokeratin</u>	<u>Epithelzelle</u>	<u>Quelle</u>
CK 7, 8, 18, 19	Gang- und Düseneithel	WALTER, KLING (1995) VOS et al. (1993)
CK 10, 13, 14	Myoepithel	WALTER, KLING (1995)
CK 14	Basal-/Myoepithel	VOS et al. (1993)

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei caninen Mammageweben und neoplastisch veränderten Mammageweben aufgrund spezifischer Reaktionen humaner monoklonaler Antikörper die gleichen Zytokeratine exprimiert werden wie in Brustdrüsengewebe des Menschen (WALTER und KLING 1995). Ferner zeigt metastatisches Tumorgewebe gleiche Zytokeratinmuster wie der Primärtumor, obwohl Reaktionsverluste festzustellen sind (VOS et al. 1993).

2.6.4. Zytokeratinantikörper

Zur Zeit wird eine breite Palette von kommerziellen Zytokeratinantikörpern in Forschung und Praxis human- und veterinärmedizinisch genutzt.

Innerhalb des alpha-helikalen Mittelstückes der Zytokeratinfilamente besteht Aminosäuresequenzhomologie (FUCHS et al. 1981, GEISLER und WEBER 1981, HANUKOGLU und FUCHS 1982). Die Sequenzidentität wechselt innerhalb des zentralen Anteils, wobei ein Maximum zu Beginn oder am Ende des zentralen Anteils erreicht wird. Die letzten 20 Aminosäuren des zentralen Stückes stellen das Epitop dar, daß ein monoklonaler Antikörper erkennt (GEISLER et al. 1985).

Hier nun die Aufstellung von Antikörpern aus der Humanmedizin und ihre Zytokeratinspezifität:

Antikörper	Zytokeratinspezifität	Hersteller
AE1	CK 10, 14, 16, 19	ICN
AE3	CK 1, 5, 8	ICN
CAM 5.2	CK 8/18	Becton Dickinson
Ks 7.18	CK 7	Progen
DE-K10	CK 10	Dako
CKB1	CK 14	Sigma
13H5	CK 18	S. H. Dairkee
312C8-1	CK 14	Enzo Diag., NY
Clone 170.2.15	CK 19	Boehringer Mannheim
RCK 102	CK 5, 8	Euro-Diagnostics B. V.
RCK 105	CK 7	Euro-Diagnostics B. V.
RGE 53	CK 18	Euro-Diagnostics B. V.
LP2K	CK 19	Amersham Ltd.
RCK 107	CK 14	F. Ramaekers

CK: Zytokeratin

2.6.5. Immunhistochemische Anfärbung von Zytokeratinen

Mittels der APAAP-Methode (Alkalische Phosphatase, Anti-Alkalische Phosphatase Komplex) zur immunhistochemischen Anfärbung der Zytokeratine (CORDELL et al. 1984, DENK 1986, BOENISCH 1989, DUHM 1990) wird die Reaktion von Substrat und Antikörper sichtbar gemacht.

Bei der APAAP-Methode bindet sich ein monoklonaler Antikörper aus der Maus an das nachzuweisende Antigen (s. a. Kap. 2.6.4.). Anschließend wird ein Brückenantikörper zugesetzt. Er stammt aus dem Kaninchen und ist gegen den Antikörper der Maus gerichtet. Der Brückenantikörper verbindet den Primärantikörper mit dem APAAP-Komplex. In den Verdünnungspuffern ist Kälberserum zugesetzt, welches eine unspezifische Bindung des Primärantikörpers an andere Strukturen des Gewebeschnittes reduziert.

Schließlich erfolgt die Sichtbarmachung des Enzymkomplexes mit Fast-Red Substrat.

Hierfür wird Levamisol verwendet, ein „Endogene Alkalische Phosphatase Blocker“. Der Enzymkomplex wird zu einem leuchtend roten Chromagen umgesetzt, was sich lichtmikroskopisch leicht nachweisen läßt.

Weitere geeignete Färbemethoden für die immunhistochemische Anfärbung von Zytokeratinen sind u. a.:

- ABC-Methode (MEPHAM et al. 1979, DENK 1986, BOENISCH 1989)
- PAP-Methode (DENK 1986, BOENISCH 1989, DUHM 1990)

2.6.6. Spezifität und Sensitivität der Methoden

In der Humanmedizin sind Immunhistochemie und Immunzytologie unter Verwendung von monoklonalen Antikörpern und der APAAP-Methode die Standardtechnik für den Nachweis von Mikrometastasen und Tumorzellen epithelialen Ursprungs in Lymphknoten und Knochenmark.

Monoklonale CK-Antikörper besitzen erwiesenermaßen eine höhere Spezifität als Antikörper gegen Zellmembranbestandteile (ORUZIO et al. 1997).

Kreuzreaktivitäten von CK-Antikörpern mit Nicht-Epithelzellen konnten durch Doppelmarkierungsstudien weitgehend ausgeschlossen werden (PANTEL et al. 1995, SCHLIMOK et al. 1987).

Modellexperimente an peripheren Blut- und Knochenmarksproben, welche mit Tumorzellen kontaminiert waren, lassen auf eine hohe Wiederfindungsrate der Tumorzellen und somit auf eine hohe Sensitivität der immunzytologischen Methoden schließen. Es konnte eine Tumorzelle in einer Million mononukleärer Zellen nachgewiesen werden (PANTEL et al. 1996).

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Untersuchtetes Gewebe und Routineproben

Aus dem Sektionsgut des Institutes für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin der Jahre 1996 und 1997 stehen die Gesäugeleisten, Axillarlymphknoten und Knochen von 27 Hündinnen mit malignen Mammatumoren zur Verfügung.

Aus dem Vorbericht der Einsendungen wird die Sektionsnummer, die Rasse, das Geschlecht, das Alter, das Gewicht und die klinische Anamnese der Hündinnen entnommen.

Da die Hunde den Sektionsbetrieb durchlaufen, stehen routinemäßige Organproben zur Verfügung. Hieraus ergeben sich die weiteren pathologisch-anatomischen und -histologischen Befunde.

3.1.2. Bearbeitung des Materials

3.1.2.1. Probenentnahme

3.1.2.1.1. Probenentnahme Mammarleiste und Weiterverarbeitung des Materials

Die Mammarleiste der zur Verfügung stehenden Hündinnen wird makroskopisch beurteilt. Es werden Veränderungen registriert, palpiert und beschrieben. Der bzw. die Tumoren werden auf folgende Kriterien untersucht:

Anzahl, Lokalisation, Größe, Form, Konsistenz, Abgrenzbarkeit, Verschieblichkeit gegenüber der Haut, Veränderungen der äußeren Haut wie Rötung, Blaufärbung, Ulzeration, Aussehen nach Anschnitt.

Die Probenentnahme erfolgt aus den tumorös veränderten Mammarkomplexen. Dazu wird ein ca.

2 x 1 x 1 cm großer Block aus jeder einzelnen Veränderung zurechtgeschnitten, wobei darauf geachtet wird, daß auch an den Tumor angrenzendes unverändertes Gewebe mitgeschnitten wird. Handelt es sich um Tumoren mit großer Ausdehnung, werden mehrere Proben aus verschiedenen Bereichen der Veränderung genommen. Weitere Probenentnahmen erfolgen aus den benachbarten Mammarkomplexen und, falls Tumoren nur in einer Gesäugeleiste aufzufinden sind, auch aus der zweiten Gesäugeleiste. Die Proben werden beschriftet und in 4 %igem Formalin fixiert.

Die entnommenen Proben werden nach ihrer Durchfixierung entwässert und in Paraffinblöckchen eingebettet.

3.1.2.1.2. Probenentnahme Axillarlymphknoten und Weiterverarbeitung des Materials

Nach Aufsuchen von linkem und rechtem Axillarlymphknoten und, falls vorhanden, linkem und rechtem Lymphonodus axillaris accessorius in Höhe des Schultergelenkes über dem ersten Interkostalraum oder der 2. Rippe auf dem Musculus transversus costarum und Musculus pectoralis profundus, werden diese extirpiert und makroskopisch auf Größe, Aussehen und Anschnitt beurteilt.

Es werden je drei gleichgroße Scheiben der entnommenen Lymphknoten geschnitten, wobei darauf geachtet wird, daß auch den Lymphknoten umgebenes Gewebe mit zur weiteren Untersuchung gelangt.

Drei Schnittebenen pro Lymphknoten liegen nun vor.

Die entnommenen Proben werden beschriftet und in 4 %igem Formalin fixiert. Nach ihrer Durchfixierung werden die Lymphknotenproben entwässert und in Paraffinblöckchen eingebettet.

3.1.2.1.3. Probenentnahme Knochen und Weiterverarbeitung des Materials

Um die Knochen des Sektionstieres untersuchen zu können, wird das Tier entbeint.

Der Schädel, die Wirbelsäule, die langen Röhrenknochen, Radius und Ulna, sowie Tibia und Fibula werden mittels einer Bandsäge längs geschnitten.

Das vom Kreuzbein abgetrennte Becken wird an der Symphyse in eine linke und eine rechte Hälfte geteilt. Für die Knochenproben werden vier Glasbehälter mit 4 %igem Formalin und entsprechender Beschriftung bereitgestellt.

Linker und rechter Humerus und Femur werden möglichst in drei gleichgroße Teile gesägt. Von diesen drei Teilen werden Scheiben mit ca. 0,8-1 cm Stärke geschnitten und die Scheiben werden auf die Glasbehälter entsprechend der Beschriftung verteilt.

Aus der Lendenwirbelsäule wird der siebte Lendenwirbelkörper entnommen. Linkes und rechtes Becken wird je durch einen Schnitt vom Arcus ischiadicus Richtung Tuberculum musculus psoas minoris (durch das Acetabulum) und einen Schnitt von der Symphyse (mittig, am Ramus ossis ischii) nach craniodorsal durch die Ala ossis ilii zur Crista iliaca in zwei Teile getrennt. Man erhält jeweils eine ca. 0,8 bis 1 cm starke Scheibe. Wirbelsäulen- und Beckenprobenstücke werden den entsprechenden Glasbehältern mit 4 %igem Formalin zugeordnet.

Werden an anderen Knochen Auffälligkeiten entdeckt, so werden auch diese zur weiteren Untersuchung herangezogen.

Nach Durchfixierung des Knochenmaterials in Formalin erfolgt deren elektrolytische Entkalkung nach ROMEIS (1989) und Einbettung in Paraffinblöcke.

3.1.2.1.4. Vorliegende Proben

Von den 27 Hündinnen liegen folgende Proben zur Weiterverarbeitung vor:

Tabelle Proben (Gesamtzahl Proben: 767)

Gewebe	Proben ges.	li	re
Mammarleiste	182	92	90
Axillarlymphknoten	54	27	27
Ln. axillaris acc.	5	2	3
Humerus	180	93	87
Femur	172	89	83
Becken	119	64	55
L7	38	-	-
sonstige Knochen	17	-	-

Proben ges.: Anzahl Proben gesamt, li: Anzahl Proben links, re: Anzahl Proben rechts, L7: siebter Lendenwirbelkörper

3.1.2.2. Schnitthanfertigung (für HE- und Immunfärbung)

3.1.2.2.1. Herstellung von histologischen Schnitten aus der Mammarleiste

Die Paraffinblöcke mit den Gewebeproben aus den Mammarleisten liegen zur Anfertigung von Serienschnitten am Mikrotom vor.

Es werden Serien zu je 4 Schnitten pro Mammagewebeprobe mit einer Dicke von jeweils 3 µm hergestellt und auf Objektträger gezogen.

Die Schnitte 1 und 2 jeder Serie werden auf unbehandelte Objektträger gezogen und stehen für die HE-Färbung zur Verfügung. Die Schnitte 3 und 4 jeder Serie werden auf einen mit Silane (3-Aminopropyltriethoxysilan) beschichteten Objektträger gezogen und stehen für die Immunfärbung zur Verfügung.

Alle Schnitte werden 24 Stunden im Brutschrank bei 37°C getrocknet.

3.1.2.2.2. Herstellung von histologischen Schnitten der Axillarlymphknoten

Die Paraffinblöckchen mit den Axillarlymphknotenproben liegen zur Anfertigung von Serienschnitten am Mikrotom vor.

Es werden Serien zu je 4 Schnitten pro Lymphknotenprobe bestehend aus drei Schnittebenen pro Lymphknoten mit einer Dicke von jeweils 3 µm hergestellt und auf Objektträger gezogen. Die Schnitte 1 und 2 jeder Serie werden auf unbehandelte Objektträger gezogen und stehen für die HE-Färbung zur Verfügung. Die Schnitte 3 und 4 jeder Serie werden auf einen mit Silane beschichteten Objektträger gezogen und stehen für die Immunfärbung zur Verfügung.

Alle Schnitte werden 24 Stunden im Brutschrank bei 37°C getrocknet.

3.1.2.2.3. Herstellung von histologischen Schnitten der Knochen

Die Paraffinblöcke mit den Knochenproben liegen zur Anfertigung von Serienschnitten am Knochenmikrotom vor.

Es werden Serien zu je 2 Schnitten pro Knochenprobe zu 7 µm angefertigt, wobei die beiden Schnitte auf mit Silane beschichtete Objektträger für die Immunfärbung gezogen werden.

Um das Knochenmaterial gleichmäßig schneiden zu können, wurden die Paraffinblöcke mit den Knochenproben 24 Stunden vor dem Schneiden in ein Gefrierfach bei -18°C gelegt und verbleiben dort bis unmittelbar vor der Weiterverarbeitung.

Das Aufblocken der Paraffinblöcke auf den Schneidetisch des Knochenmikrotoms erfolgt mit flüssigem Paraffin, welches durch die an einer Lötkolbenflamme heißgemachten Messerklinge vom festen (=kalten) in den flüssigen (=heißen) Zustand überführt worden ist.

Alle hergestellten Knochenschnitte werden 20 Minuten auf eine Wärmeplatte mit 60°C gelegt und verbleiben zum Trocknen 24 Stunden im Brutschrank bei 37°C.

3.1.2.2.4. Vorliegende histologische Schnitte

Von den 767 Proben liegen folgende Schnitte zur Weiterverarbeitung vor:

Tabelle Schnitte, Gesamtzahl Schnitte: 826 (exclusive Reserveschnitte)

Gewebe	Schnitte ges.	li	re
Mammarleiste	182	92	90
Axillarlymphknoten*	108	54	54
Ln. axillaris acc.*	10	4	6
Humerus	180	93	87
Femur	172	89	83
Becken	119	64	55
L7	38		
sonstige Knochen	17		

Schnitte ges.: Anzahl Schnitte gesamt, li: Anzahl Schnitte links, re: Anzahl Schnitte rechts, L7: siebter Lendenwirbelkörper

*=bei 23 Hunden stehen nur jeweils linker und rechter Axillarlymphknoten zur Verfügung. Bei einem Hund steht zusätzlich der linke Lymphonodus axillaris accessorius zur Verfügung, bei einem Hund stehen zusätzlich linker und rechter Lymphonodus axillaris accessorius und bei zwei Hunden steht jeweils zusätzlich der rechte Lymphonodus axillaris accessorius zur Verfügung.

Die Schnitte aus der Mammarleiste stehen für die HE-Färbung zur Verfügung (der zweite Serienschnitt stellt die Reserve dar, der dritte und vierte Serienschnitt steht für eine eventuelle Immunfärbung zur Verfügung), die Lymphknotenschnitte stehen für die HE-Färbung und die Immunfärbung zur Verfügung (deshalb doppelte Anzahl an Schnitten in der Tabelle, es gibt jeweils zwei Reserveschnitte) und die Knochenschnitte stehen für die Immunfärbung zur Verfügung (es liegt ein Reserveschnitt vor).

3.1.2.3. Färbung

3.1.2.3.1. HE-Färbung der histologischen Schnitte (Mammarleiste und Axillarlymphknoten)

Die ersten Serienschnitte von allen Mammarleistenproben und die ersten Serienschnitte von allen Axillarlymphknotenproben werden entsprechend den Anweisungen von ROMEIS (1989) mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

3.1.2.3.2. Immunfärbung der histologischen Schnitte

Die dritten Serienschnitte aller Axillarlymphknotenproben und die ersten Serienschnitte aller Knochenprobenschnitte werden immunhistochemisch nach der APAAP-Methode gefärbt.

Die als Reserve zur Verfügung stehenden dritten und vierten Serienschnitte der Mammarleistenproben werden eventuell ebenfalls immunhistochemisch gefärbt.

3.1.3. Immunhistochemie

3.1.3.1. Immunhistochemische Methodik

Als primärer Breitbandzytokeratinantikörper wird der aus der Maus stammende AntikörperAE1 (SORENSEN et al. 1987, WOODCOCK - MITCHELL et al. 1982) in einer Verdünnung 1:50 gewählt. Dieses hat zwei Gründe:

Erstens hat der Antikörper AE1 eine Spezifität für CK 10, 14, 16 und 19. CK 10, 14 und 19 sind Bestandteile von Gang-, Drüsen- und Myoepithelien der caninen Mamma.

Zweitens sind Breitband-Zytokeratinantikörper den Antikörpern, die nur monospezifisch eine Zytokeratinkomponente erfassen, in der Detektion von Mikrometastasen bzw. Tumorzellen überlegen (ORUZIO et al. 1997). Dieses wird mit einer Down-Regulation der Zytokeratinexpression erklärt. Es wurde eine Down-Regulation der CK-Komponente 18 durch das myc-Protoonkogen nachgewiesen.

Die in Kap. 2.6.5. beschriebene APAAP-Methode zur immunhistochemischen Zytokeratinanfärbung wird als Färbemethode ausgewählt, da sie Standardtechnik in der Humanmedizin ist und sie auch in der Veterinärmedizin mehrfach erfolgreich angewandt wurde (WALTER und KLING 1995, BUSCH 1993).

3.1.3.2. Verwendete Seren, Antiseren, Substrate, Lösungen und Materialien

Tabelle Materialien

<u>Materialien</u>	<u>Hersteller</u>	<u>Bestellnummer</u>
Objektträger	R. LANGENBRINK	1492277
Lötlampe	ROTHENBERGER	-
Silane	SIGMA	A3648
Xylol	MERCK	8685
Aceton	MERCK	13
Sequenza	SHANDON	-
Cover-Plates	SHANDON	-
Trizma-Base	SIGMA	T1503
Trizma-HCl	SIGMA	T3253
NaCl	MERCK	6404
Aqua destillata, pyogenfrei	BRAUN MELSUNGEN	22395
RPMI-Puffer 1640	SEROMED	F1215
Fetales Kälberserum (FCS)	SEROMED	SO113
Natriumazid	MERCK	6688
AE1 (Primärantikörper)	ZYMED S.F.	18-0153
APAAP-Komplex (APAAP-Dualsystem)	DIANOVA	ADS 101 A
Brückenantikörper (APAAP-Dualsystem)	DIANOVA	ADS 101 B
Protease	SIGMA	P6911
Naphtol-AS-MX Phosphat	SIGMA	N4875
N,N-Dimethylformamide	SIGMA	D4254
Levamisol	SIGMA	L9756
Fast-Red-TR Salz	SIGMA	F2768
Hämatoxylin	CHROMA	5B535
Na-Jodat	MERCK	6525
Aluminium-Kalium Sulfat	MERCK	1047
Chloralhydrat	MERCK	2425
Citronensäure DAB 6	MERCK	244
Kaisers-Glyceringelatine	MERCK	9242
Nagellack klar	-	-

3.1.3.3. Methodik der Vorversuche

Um sichergehen zu können, daß die einzelnen Verarbeitungsmethoden der Proben (speziell der Knochenproben) den ordnungsgemäßen Ablauf des immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht gefährden, gelangt Mammatumorgewebe aus einer Einzeleinsendung an das Institut für Veterinär Pathologie nach gleichen Verarbeitungsmethoden, also auch der elektrolytischen Entkalkung der Probe (s. Kap. 3.1.2.1.3. und Kap. 3.1.2.2.3.), zur Immunfärbung.

An dieser Probe mit der E-Nummer 2480/97 gelingt die Darstellung von neoplastischen Drüsenepithelien gemäß der in Kap. 3.1.3. ff. beschriebenen immunhistochemischer Technik.

Es kann also davon ausgegangen werden, daß die Verarbeitungsmethoden der Knochenproben einem Gelingen der Immunfärbung nicht im Wege stehen.

Desweiteren gelangt eine Probe Knochengewebe, an der Metastasen eines primären Mammakarzinoms mit der HE-Färbung nachgewiesen werden konnten, zur Immunfärbung.

An dieser Knochenprobe, die aus dem Hund mit der S-Nummer 497/96 stammt, gelingt die Darstellung neoplastischer Zellen im Knochenmark gemäß der in Kap. 3.1.3. ff beschriebenen immunhistochemischen Technik.

Es kann also weiter davon ausgegangen werden, daß der am Lymphgewebe etablierte Antikörper AE1 (BUSCH 1993) auch Tumorzellen epithelialen Ursprungs im Knochenmark markiert.

Übersicht Vorversuche:

Gewebe	Antikörper/ Verdünnung	Methode	Färbe- ergebnis	angefärbte Zellen	Schlußfolgerung
MaCa (entkalkt etc)	AE1, 1:50	APAAP	positiv	entartete Drüsenepithelien	Verarbeitungsmethoden schaden IF nicht
Knochen	AE1, 1:50	APAAP	positiv	Tumorzellen	gewählter AK markiert Tumorzellen im KM

MaCa: Mammakarzinom, IF: Immunfärbung, AK: Antikörper, KM: Knochenmark

3.1.3.4. Das immunhistochemische Färbeverfahren

Das Grundschemata des Färbeverfahrens basiert auf der von CORDELL et al. (1984) entwickelten Technik und hält sich an die von BUSCH (1993) mitgeteilte Anleitung.

Für Inkubation und Färbung notwendige Herstellungsverfahren:

- 1.) Herstellung mit Silane beschichteter Objektträger
Nach je 5 minütigem Einbringen der Objektträger in Aceton und Aceton/Silane werden diese zweimal in Aqua destillata gespült und getrocknet (im Brutschrank bei einer Temperatur von 37°C, mindestens 24 Stunden lang).
- 2.) Herstellung der Tris-Pufferlösung (TBS=„tris buffer saline“)
Gemischt werden: Trizma Base 4,5 g, Trizma HCl 33,0 g, NaCl 43,9 g, Aqua destillata 5000 ml. Es wird ein pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt.
- 3.) Herstellung des RPMI Verdünnungspuffers 1 (für den primären Antikörper und den APAAP-Komplex)
Gemischt werden: RPMI 1640 (Royal Park Memoria Institute) 50,0 ml, inaktiviertes Kälberserum 5,0 ml, Na-Azid 50,0 mg. Es wird ein pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt.

- 4.) Herstellung des RPMI Verdünnungspuffers 2 (für den Brückenantikörper)
Gemischt werden: RPMI 1640 50,0 ml, inaktiviertes Kälberserum 5,0 ml, Na-Azid 50,0 mg.
Es wird ein pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt.
- 5.) Herstellung der Protease-Vorverdauungslösung
Gemischt werden Protease 10,0 mg und TBS-Puffer 10,0 ml
- 6.) Herstellung der primären Antikörper-Lösung
Der primäre Zytokeratin-Antikörper AE 1 wird für den Sequenza in einer Gebrauchslösung mit RPMI-Verdünnungspuffer 1 hergestellt. Verdünnung des Antikörpers: 1:50.
- 7.) Herstellung der Brücken-Antikörperlösung
Der Brückenantikörper wird für den Sequenza in einer Gebrauchslösung mit RPMI-Verdünnungspuffer 2 hergestellt. Verdünnung des Antikörpers: 1:100.
- 8.) Herstellung der APAAP-Lösung
Der APAAP-Komplex wird für den Sequenza in einer Gebrauchslösung mit RPMI-Verdünnungspuffer 1 hergestellt. Verdünnung des Komplexes: 1:100.
- 9.) Herstellung der Fast-Red- Lösung
Gemischt werden: TBS-Puffer (auf pH-Wert 8,2 eingestellt) 98,0 ml, Naphtol-AS-MX-Phosphat 20,0 mg, Dimethylformamid 2,0 ml.
Naphtol-AS-MX-Phosphat wird in Dimethylformamid gelöst, dann mit TBS-Puffer aufgefüllt.
Unmittelbar vor Gebrauch wird Levamisol (2,408 mg in Aqua destillata gelöst=100 µl) hinzugefügt und das Fast-Red-TR-Salz (100,0 mg) gelöst und alles in eine Küvette filtriert.
- 10) Herstellung der Hämalaunlösung, sauer nach P. Mayer
Gemischt werden Hämatoxylin 1,0 g, Na-Jodat 0,2 g, Aluminium-Kalium-Sulfat 50,0g, Chloralhydrat 50,0 g, Citronensäure DAB 6 1,0 g und Aqua destillata 1000,0 g.

3.1.3.5. Die einzelnen Schritte des Färbeverfahrens

- 1.) Entparaffinieren der Schnitte
20 min in Xylol, 15 min in Aceton 100 %, 15 min in Aceton 50 % (verdünnt mit TBS-Puffer)
2 x 10 min in TBS-Puffer.
- 2.) Vorverdauung der Schnitte mit Protease im Brutschrank bei 37°C, 10 min.
- 3.) 5 min Spülen mit TBS-Puffer.
- 4.) Einlegen der Schnitte in die Cover-plates und Einstellen in die Inkubationskammern des Sequenza.
- 5.) Inkubation der Schnitte mit dem primären Antikörper AE1 in einer Verdünnung 1:50, 30 min., mit jeweils 100 µl/Schnitt (Ausnahme: Negativkontrolle. Inkubation der Negativkontrolle mit 100 µl TBS-Puffer).
- 6.) Spülen mit TBS-Puffer 5 min.
- 7.) Inkubation der Schnitte mit Brücken-Antikörper in einer Verdünnung 1:100, 30 min. mit jeweils 100 µl/Schnitt.
- 8.) Spülen mit TBS-Puffer, 5 min.
- 9.) Inkubation der Schnitte mit APAAP-Komplex in einer Verdünnung 1:100, 30 min. mit jeweils 100 µl/Schnitt.
- 10.) Spülen mit TBS-Puffer, 5 min.
- 11.) Wiederholung der vier vorangegangenen Schritte, Inkubationszeit von Brücke und APAAP jedoch nur 15 min.
- 12.) Entfernung der Cover-plates aus den Inkubationskammern des Sequenza.
- 13.) Schnitte von den Cover-plates entfernen, 5 min spülen (TBS-Puffer).
- 14.) Inkubation der Schnitte mit der Fast-Red-Lösung auf dem Schüttler, 30 min.
- 15.) 2 x 5 min Spülen mit TBS-Puffer.

- 16.) Gegenfärben der Schnitte mit Hämalaun, 30 sec.
- 17.) Bläuen der Schnitte in Leitungswasser
- 18.) Objektträger um Gewebe trockenwischen, Glycerin-Gelatine auf Objektträger aufbringen und mit einem Deckglas den Schnitt langsam eindeckeln.
- 19.) Versiegeln der Ränder des Deckglases mit klarem Nagellack.

3.1.3.6. Methodik der Hauptversuche

Es erfolgt die Färbung aller Mammagewebeschnitte (Anzahl: 182 Schnitte) und aller Lymphknotenschnitte (Anzahl: 59 Schnitte) mit Hämatoxylin und Eosin.

Die Mammagewebeschnitte und Lymphknotenschnitte werden mikroskopisch durchgemustert, beurteilt und die gefundenen Veränderungen der Mamma klassifiziert.

Ausgewählte Mammagewebeschnitte, alle Lymphknotenschnitte (Anzahl: 59 Schnitte) und alle Knochenschnitte (Anzahl: 526 Schnitte) werden immunhistochemisch gefärbt. Die Schnitte werden mikroskopisch durchgemustert und diagnostiziert.

Übersicht Hauptversuche:

Schnitte	Anzahl	HE-Färbung	Immunfärbung	Antikörper	Methode
Mammagewebe	182	alle Schnitte	ausgewählte Schnitte	AE1	APAAP
Lymphknoten	118	59 Schnitte	59 Schnitte	AE1	APAAP
Knochen	526	-	alle Schnitte	AE1	APAAP

3.1.3.7. Kontrollen für die Immunhistochemie

3.1.3.7.1. Methodische Kontrolle (Positivkontrolle)

Um einen methodischen Fehler auszuschließen, wird bei jedem immunhistochemischen Färbevorgang ein Schnitt der E-Nummer 2480/97 mitgefärbt. Eine positive Markierung der Drüsenepithelien des Mammagewebeschnittes schließt einen Fehler im Färbeverfahren aus.

3.1.3.7.2. Immunhistochemische Kontrolle (Negativkontrolle)

Ein Schnitt der E-Nummer 2480/97 durchläuft den Färbevorgang ohne den Schritt Nr. 5 (s. Kap. 3.1.3.6.) des immunhistochemischen Färbeverfahrens, er wird also nicht mit dem primären Antikörper inkubiert. Keine Markierung der Drüsenepithelien des Mammagewebes von Schnitt E-Nummer 2480/97 bei ansonsten positiver Markierung an anderen Schnitten (zum Beispiel der Positivkontrolle) zeigt die Reaktionsspezifität des primären Antikörpers auf.

3.1.4. Beurteilung der histologischen Schnitte

3.1.4.1. Beurteilung der HE-gefärbten Schnitte aus der Mammarleiste

Es liegen 182 HE-Schnitte aus den Mammarleisten der 27 Hündinnen zur Beurteilung vor.

3.1.4.2. Beurteilungsschema Mammatumoren

Die Veränderungen werden wie folgt beurteilt:

1. *Zusammensetzung der Veränderung*
 - 1.1. Tumorepithel
 - 1.1.2. Drüsenepithel, Myoepithel, anderes epitheliales Gewebe
 - 1.2. Tumormesenchym
 - 1.3. Stroma
2. *Beurteilung des Drüsengewebes*
 - 2.1. Proliferation (geordnet, ungeordnet)
 - 2.2. Wachstum (alveolär, tubulär, papillär, zystisch, solide, anaplastisch)
 - 2.3. Kerne
 - 2.3.1. Kerngröße
 - 2.3.2. Euchromasie, Heterochromasie
 - 2.3.3. Nucleoli (einer, mehrere, groß und deutlich)
 - 2.3.4. Mitosen
 - 2.3.5. Pyknosis/Karyorrhexis
 - 2.3.6. Verschiebung der Kern-Plasma Relation
 - 2.4. Gesamtzellbild (einheitlich, polymorph)
 - 2.5. Sekretion
3. *Beurteilung des Myoepithels*
 - 3.1. Menge
 - 3.2. Zellgestalt (spindelig, sternförmig, andere)
4. *Beurteilung anderer epithelialer Tumorgewebe*
 - 4.1. Differenzierungsrichtung
 - 4.2. Differenzierungsgrad (gut, mäßig, gering)
5. *Beurteilung mesenchymalen Tumorgewebes*
 - 5.1. Differenzierungsrichtung
 - 5.2. Differenzierungsgrad (gut, mäßig, gering)
6. *Beurteilung des Stromas*
 - 6.1. Menge
 - 6.2. Gefäße
 - 6.2.1. Durchsetzung des Tumors (regelmäßig, unregelmäßig)
7. *Abgrenzung des Tumorparenchyms zur Umgebung*
 - 7.1. Kapsel (vorhanden, durchgängig, infiltriert, durchbrochen)
 - 7.2. Invasives Wachstum in die Umgebung
8. *Entzündungsreaktionen*
 - 8.1. Ausmaß
 - 8.2. Qualität
9. *Nekrosen*
 - 9.1. Ausmaß
10. *Blutungen*
 - 10.1. Ausmaß
11. *Gefäßeinbrüche*
 - 11.1. Ausmaß

3.1.4.1.2. Mögliche Diagnosen von Mammatumoren

In Anlehnung der von GUTBERLET (1994) vorgelegten Überarbeitung der WHO-Klassifikation (Misdorp et al. 1971, 1972, 1973) wird das in Kap. 2.4.3.1. beschriebene Klassifikationsschema für maligne Mammatumoren verwendet.

Als Diagnosen liegen vor:

1. Adenokarzinom
2. Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie
3. Komplexes Karzinom
4. Solides Karzinom
5. Anaplastisches Karzinom
6. Kollisionstumor/Karzinosarkom

3.1.4.2. Beurteilung der immungefärbten Schnitte aus der Mammarleiste

Läßt sich beispielsweise das Ausgangsgewebe eines Tumors schwer erkennen, so wird in diesen Fällen eine Immunfärbung des entsprechenden Schnittes angefertigt.

Färben sich morphologisch fragliche Zellen (zum Beispiel Tumorrisenzellen) unter dem immunhistochemischen Verfahren positiv, kann davon ausgegangen werden, daß es sich um Zellen epithelialen Ursprungs handelt.

Die HE-Schnitt Diagnosen der Mammatumoren werden durch die Immunfärbung untermauert.

3.1.4.3. Beurteilung der HE-gefärbten Schnitte Axillarlymphknoten

Es liegen 59 HE-Schnitte mit Axillarlymphknoten und Lnn. axillares accessorii der 27 Hündinnen zur Beurteilung vor.

Die 59 HE-gefärbten Lymphknoten setzen sich zusammen aus je 27 linken und rechten Axillarlymphknoten, 2 linken und 3 rechten Lymphonodi axillares accessorii.

3.1.4.3.1. Beurteilungsschema Axillarlymphknoten

1. Beurteilungsbogen Lymphknoten HE- Schnitt

Sektionsnummer:

Hund:

re / li

1.2. makroskopischer Befund

1.2.1. Größe des Lymphknotens		
1.2.2. Aussehen		
1.2.2.1. Mark / Rinde trennbar	Mark / Rinde nicht trennbar	
1.2.2.2. Anschnitt: höckrig	glatt	speckig
1.2.2.3. Blutungen	ja	nein

1.3. Lokalisation der Veränderung (Metastasen)

1. diffus verteilt			
1.1. den ganzen Lymphknoten einnehmend	Lymphgewebe	kaum	nicht mehr zu erkennen
	normale Lymphknotenstruktur aufgehoben		
2. auf bestimmte Bereiche beschränkt			
2.1. vornehmlich	in der Kapsel	Umgebung (Lymphgef. / Blutgef.)	
2.2. im Randsinus	in Randsinuskapsel		
2.3. i.d. Trabekeln	in Trabekelnähe		
2.4. im Marksinus	in Marksinuskapsel		
2.5. in der Rindenzone			
2.6. in der Markzone			

1.4. Art der Veränderung (Metastasen)

1.4.1. Anzahl der Zellen			
1.4.1.1. einzelne Zellen			
1.4.1.2. Zellverbände			
1.4.2. Zellverbände	Zellstränge	Zellhaufen	
1.4.3. Zellverbände mit Differenzierung	Art:		
1.4.4. Einzelzellbefund:			
1.4.4.1. Zellgestalt	flach	kubisch	hochprismatisch
	abgerundet	unterschiedlich	
1.4.4.2. Kerne	groß	mittelgroß	klein
1.4.4.3. Gesamtzellbild	einheitlich	nicht einheitlich	
1.4.4.4. Zellbild im Vergleich zum Primärtumor	gleich	ähnlich	verschieden

1.5. weitere Lymphknotenbefunde

1.5.1. Blutungen (mit Blutresorption und Erythrophagie)	
1.5.2. Nekrosen	
1.5.3. Hyperplasie	Lymphadenitis simplex (Sinuskatarrh)
1.5.4. Sinushistiozytose	

2. Einteilung nach Größe (Anzahl der Tumorzellen), Beurteilungsschlüssel

- A= Tumorzellemboli (falls sichtbar) im Lymphknoten
 A0= eine Tumorzelle oder ein Zellverband (ZV) von zwei Tumorzellen (TZ)
 A1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl höchstens 10)
 A2= 10-50 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl 10-50 TZ)
- B= ZV von 3-50 TZ
 C= ZV von 51-250 TZ, oder mehrere Zellverbände, jedoch Gesamtumorzellzahl <250 TZ
 D= ZV von mehr als 251 TZ, oder mehrere Zellverbände, Gesamtumorzellzahl >251 TZ
 E= ZV oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 TZ, den gesamten Lymphknoten einnehmend
- F= Lymphangiosis carcinomatosa (falls sichtbar), Umgebung des Lymphknotens (Lymph- und Blutgefäße, Fett- und Muskelgewebe)
 F0= eine Tumorzelle oder ein ZV von zwei TZ
 F1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellzahl höchstens 10 TZ)
 F2= 10-50 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl 10-50 TZ)
 F3= ZV von <50 TZ
 F4= ZV von >50 TZ

3. Kriterien für „Mikrometastasen“

- 3.1. im HE-Schnitt erkennbare Größe A0, A1, A2, B, F0, F1, F2, F3
 3.2. alles andere=„Metastasen“

4. Lokalisation der Veränderung (Metastasen), Beurteilungsschlüssel

4.1. Lymphknoten

- DV= Diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt
 DVL= Diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt, Bild wird vornehmlich von Tumorzellen und Tumorzellverbänden geprägt, Lymphgewebe kaum noch zu erkennen
 K= Lymphknotenkapsel
 RS= Randsinus
 RSN= Randsinusnähe
 TB= Trabekel
 TBN= Trabekelnähe
 MS= Marksinus
 MSN= Marksinusnähe
 RZ= Rindenzone
 MZ= Markzone

4. 2. Lymphknotenumgebung (U)

- UK= direkt der Kapsel aufliegend
 ULG= Lymphgefäß(e)
 UBG= Blutgefäß(e)
 UFG= Fettgewebe
 UMG= Muskelgewebe

3.1.4.3.2. Mögliche Diagnosen von HE-gefärbten Axillarlymphknoten

Als mögliche Diagnosen der HE-Färbungen der Axillarlymphknoten liegen vor:

1. Metastasenfrei
2. Verdacht auf Metastasen
3. Metastasen eines Mammakarzinoms
- 3.1. Lymph/Hämangiosis carcinomatosa
4. Mikrometastasen eines Mammakarzinoms
5. Metastasen eines anderen Tumors
6. Blutungen im Lymphknoten
7. Nekrosen im Lymphknoten
8. Hyperplasie/aktiver Lymphknoten
9. Sinuskatarrh

3.1.4.4. Beurteilung der immungefärbten Schnitte Axillarlymphknoten

Es liegen 59 immungefärbte Schnitte der Axillarlymphknoten und Lnn. axillares accessorii der 27 Hündinnen zur Beurteilung vor.

Die 59 immungefärbten Lymphknoten setzen sich aus je 27 linken und rechten Axillarlymphknoten und 2 linken sowie 3 rechten Lymphonodi axillares accessorii zusammen.

3.1.4.4.1. Beurteilungsschema Axillarlymphknoten

1. Beurteilungsbogen Immunfärbung

S-Nr.

Hund:

Axillarlymphknoten links/rechts

HE-Befund des Lymphknotens:

Befund der Immunfärbung:	pos/neg
Anzahl der angefärbten Zellen	
Ort der positiv angefärbten Zellen	
Übereinstimmung mit H.E.-Befund:	ja/nein

2. Zytokeratin-positive Reaktionen der Immunfärbung (Anzahl der positiv angefärbten Zellen)

A= Tumorzellemboli

A0= eine Tumorzelle oder ein ZV von zwei TZ

A1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl: höchstens 10)

A2= 10-50 TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl: 10-50)

B= ZV von 3-50 TZ

C= ZV von 51-250 TZ, oder mehrere Zellverbände, jedoch Gesamtumorzellzahl <250

D= ZV von mehr als 251 TZ, oder mehrere Zellverbände, Gesamtumorzellzahl >251

E= ZV oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 TZ, den gesamten Lymphknoten einnehmend

- F= Lymphangiosis carcinomatosa, Umgebung des Lymphknotens (Lymph- und Blutgefäße, Fett- und Muskelgewebe)
 F0= eine Tumorzelle oder ein ZV von zwei TZ
 F1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamttumorzellanzahl: höchstens 10)
 F2= 10-50 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamttumorzellanzahl: 10-50)
 F3= ZV von <50 TZ
 F4= ZV von >50 TZ

3. Kriterien für „Mikrometastasen“

- 3.1. im HE-Schnitt nicht erkennbar, jedoch zytokeratinpositiv
 3.2. im HE-Schnitt erkennbare Größe A0, A1, A2, B, F0, F1, F2, F3
 3.3. Größe A0, A1, A2, B, F0, F1, F2, F3 im Immunschnitt
 3.4. alles andere= „Metastasen“

4. Lokalisation der Veränderung

4.1. Lymphknoten

- DV= Diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt
 DVL= Diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt, Bild wird vornehmlich von Tumorzellen und Tumorzellverbänden geprägt, Lymphgewebe kaum noch zu erkennen
 K= Lymphknotenkapsel
 RS= Randsinus
 RSN= Randsinusnähe
 TB= Trabekel
 TBN= Trabekelnähe
 MS= Marksinus
 MSN= Marksinusnähe
 RZ= Rindenzone
 MZ= Markzone

4.2. Lymphknotenumgebung (U)

- UK= direkt der Kapsel aufliegend
 ULG= Lymphgefäß(e)
 UBG= Blutgefäß(e)
 UFG= Fettgewebe
 UMG= Muskelgewebe

5. Übereinstimmung mit dem HE-Befund

- 5.1. Als übereinstimmend mit dem HE-Befund wird ein Lymphknoten gewertet, wenn
- der histologische und der immunhistochemische Befund positiv in identischen Lymphknotenbereichen ist.
 - der histologische und der immunhistologische Befund positiv mit geringgradigen Abweichungen in anderen Lymphknotenbereichen ist.
 - der histologische und der immunhistochemische Befund negativ in identischen Lymphknotenbereichen ist.
 - im histologischen Befund ein Verdacht auf Metastasen besteht und er sich im immunhistochemischen Befund bestätigt.
- 5.2. Als nicht übereinstimmend mit dem HE-Befund wird ein Lymphknoten gewertet, wenn
- der histologische und immunhistochemische Befund positiv in völlig verschiedenen Lymphknotenbereichen ist.
 - der histologische Befund positiv, aber der immunhistochemische Befund negativ ist.
 - der histologische Befund negativ, aber der immunhistochemische Befund positiv ist.
 - im histologischen Befund ein Verdacht auf Metastasen vorliegt und er sich im immunhistochemischen Befund nicht bestätigt.

3.1.4.4.2. Mögliche Diagnosen von immungefärbten Axillarlymphknoten

Als mögliche Diagnosen der Immunfärbungen Axillarlymphknoten liegen vor:

1. Metastasenfrei
2. Metastasen eines Mammakarzinoms
- 2.1. Lymph/Hämangiosis carcinomatosa
3. Mikrometastasen eines Mammakarzinoms

3.1.4.5. Beurteilung der immungefärbten Schnitte Knochen

Es liegen 526 immungefärbte Knochenschnitte der 27 Hündinnen zur Beurteilung vor.

Die immungefärbten Knochenschnitte setzen sich zusammen aus:

- 93 linke Humerusschnitte aus 27 linken Humerusknochen
- 87 rechte Humerusschnitte aus 27 rechten Humerusknochen
- 89 linke Femurschnitte aus 27 linken Femurknochen
- 83 rechte Femurschnitte aus 27 rechten Femurknochen
- 64 linke Beckenschnitte aus 27 linken Beckenknochen
- 55 rechte Beckenschnitte aus 27 rechten Beckenknochen
- 38 L7-Schnitte (siebter Lendenwirbel) aus 27 siebten Lendenwirbeln
- 8 Rippenschnitte aus 5 Rippenknochen
- 3 Tibia / Fibulaschnitte aus einem Tibia / Fibulaknochen
- 2 Sternumschnitte aus einem Sternalknochen
- 2 L2/3-Schnitte (zweiter und dritter Lendenwirbel) aus einem zweiten und dritten Lendenwirbel
- 1 Radiusschnitt aus einem Radiusknochen
- 1 Digitalknochenschnitt aus einem Digitalknochen

3.1.4.5.1. Beurteilungsschema Knochen

Alle immungefärbten Knochenschnitte werden nach positiven Reaktionen durchgemustert. Liegen positive Reaktionen vor, wird nach folgendem Schema beurteilt:

1. Einteilung nach Größe der Reaktion (Anzahl der positiven Zellen)

A= Tumorzellemboli im Knochen

A0= eine Tumorzelle oder ein Zellverband (ZV) von zwei Tumorzellen (TZ)

A1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl: höchstens 10)

A2= 10-50 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl: 10-50)

B= ZV von 3-50 TZ

C= ZV von 51-250 TZ, oder mehrere Zellverbände, jedoch Gesamtumorzellanzahl <250 TZ

D= ZV von mehr als 251 TZ, oder mehrere Zellverbände, Gesamtumorzellanzahl >251 TZ

E= ZV oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 TZ

F= periostär, direkte Knochenumgebung (Lymph- und Blutgefäße, den Knochen unmittelbar anliegendes Bindegewebe, Muskelgewebe)

F0= eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen

F1= höchstens 10 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl: höchstens 10)

F2= 10-50 einzelne TZ oder ZV von zwei TZ (Gesamtumorzellanzahl 10-50)

F3= ZV von <50 TZ

F4= ZV von >50 TZ

2. Lokalisation der Veränderung im Knochen

2. 1. Knochen

PO= Periost

SC= Substantia compacta mit Haverschen Kanälchen (HK)

SS= Substantia spongiosa

KM= Knochenmark, Cavum medullare

2. 2. Direkte Knochenumgebung, periostär (U)

ULG= Lymphgefäß(e)

UBG= Blutgefäß(e)

UBGW= Bindegewebe

UMGW= Muskelgewebe

2. 3. außerdem zusätzlich bei Humerus und Femur (lange Röhrenknochen)

e= epiphysär

d= diaphysär

m= metaphysär

3. Mikrometastasen:

Reaktionen der Größenordnung A0, A1, A2, B, F0, F1, F2, F3 sind Mikrometastasen, alle andere Metastasen.

3.1.4.5.2. Mögliche Diagnosen von immungefärbten Knochen

Als mögliche Diagnosen der Immunfärbungen Knochen liegen vor:

1. Metastasenfrei
2. Metastasen eines Mammakarzinoms
3. Mikrometastasen eines Mammakarzinoms

3.1.4.6. Auswertung der Färbeergebnisse Axillarlymphknoten und Knochen in Verbindung mit anderen Parametern

3.1.4.6.1. Lokalisation des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen

Es soll die Lokalisation eines Mammatumors in der Gesäugeleiste (unabhängig seiner Dignität) verglichen werden mit nachgewiesenen Axillarlymphknotenmetastasen und -mikrometastasen. So können Abflußwege von Tumorzellen aus den einzelnen Mammarkomplexen in die Axillarlymphknoten aufgezeigt werden. Gebildet werden Paare aus der Lokalisation eines malignen Mammatumors und nachgewiesenen Axillarlymphknotenmetastasen/-mikrometastasen.

Der direkte Abflußweg der Lymphe aus beiden thorakalen und dem ersten abdominalen Mammarkomplex führt in die Axillarlymphknoten. Möglich ist ein Abfluß von Lymphe in die Axillarlymphknoten aufgrund von Anastomosen aus allen Komplexen. Somit ergibt sich ein direkter sowie ein möglicher Abflußweg von Lymphe bzw. Tumorzellen in die Lymphknoten.

Es werden „unmögliche“ Abflußwege von Tumorzellen ausgeschlossen, wenn folgende Gesetzmäßigkeiten bei der Bildung von „Befundpaaren“ eingehalten werden (s.a. Kap. 2.1.2.):

1. Befinden sich in einer Gesäugeleiste zwei oder mehrere maligne Mammatumoren, so findet zuerst der Tumor Berücksichtigung, welcher am weitesten kranial lokalisiert ist.
2. Befindet sich jedoch ein Tumor höherer Malignität im möglichen Einzugsgebiet des Axillarlymphknotens und ein Tumor niedriger Malignität ist weiter kranial lokalisiert, so findet der Tumor mit der höheren Malignität Berücksichtigung.
3. Befindet sich ein Tumor höherer Malignität im möglichen Einzugsgebiet des Axillarlymphknotens und ein Tumor mit niedriger Malignität im direkten Einzugsgebiet des Lymphknotens, so findet der Tumor Berücksichtigung, welcher im direkten Einzugsgebiet lokalisiert ist.
4. Befinden sich in beiden Gesäugeleisten maligne Mammatumoren, so findet nur der Tumor Berücksichtigung, welcher auf der Seite der Axillarlymphknotenmetastasen lokalisiert ist (unabhängig von seiner Dignität).
5. Keine Berücksichtigung finden in diesem Vergleich extirpierte Mammarkomplexe und ektomierte Gesäugeleisten.

Es ergeben sich 20 „Befundpaare“ welche im Kapitel 3.2.8.1. Tabelle 26 (S. 60) zu finden sind.

3.1.4.6.2. Größe des Tumors und Metastasen

Es soll die Tumorgöße mit vorhandener Metastasierung in die Axillarlymphknoten und Knochen verglichen werden. Hierzu werden Gruppen gebildet, welche den größten Durchmesser (in cm) und das Volumen (in cm³) des Tumors mit der höchsten Malignität (entspricht der Hauptdiagnose) berücksichtigen.

Gruppeneinteilung Tumorgöße:

- Gruppe I: Ø (größter Durchmesser) des Tumors mit der höchsten Malignität <3 cm und/oder Volumen <5 cm³; in ipsilateraler oder kontralateraler Gesäugeleiste befindet sich kein größerer Tumor als der Tumor mit der höchsten Malignität.
- Gruppe II: Ø des Tumors mit der höchsten Malignität <5 cm und/oder Volumen <10 cm³; in ipsilateraler oder kontralateraler Gesäugeleiste befindet sich kein größerer Tumor als der Tumor mit der höchsten Malignität.
- Gruppe III: Ø des Tumors mit der höchsten Malignität <3 cm und/oder Volumen <5 cm³; in ipsilateraler oder kontralateraler Gesäugeleiste befindet sich ein Tumor geringerer Malignität mit Ø >3cm oder Volumen >5 cm³.
- Gruppe IV: Ø des Tumors mit der höchsten Malignität <5 cm und/oder Volumen <10 cm³; in ipsilateraler oder kontralateraler Seite befindet sich ein Tumor geringerer Malignität mit Ø >5 cm oder Volumen >10 cm³.
- Gruppe V: Ø des Tumors mit höchster Malignität <10 cm und/oder Volumen <100 cm³.
- Gruppe VI: Ø des Tumors mit der höchsten Malignität >10 cm und/oder Volumen >100 cm³.
- Gruppe VII: In der Gesäugeleiste wurde mindestens ein Tumor extirpiert.
- Gruppe VIII: Mindestens eine Gesäugeleiste wurde entfernt.

Die Gruppeneinteilung Tumorgöße liegt den Ergebniskapiteln 3.2.9.1. (S. 60 f.) und 3.2.11. (S. 62 ff.) sowie 3.2.12. (S. 64 f.) zugrunde.

3.1.4.6.3. Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Metastasen

Es werden die Tumoren in folgende Gruppen eingeteilt, um eine Beziehung zwischen multiplem und solitärem Tumorwachstum in der Mammarleiste und einer Metastasierung herstellen zu können:

- Gruppe I: Solitäres Tumorwachstum.
- Gruppe II: Plattenartiges Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe innerhalb einer Gesäugeleiste.
- Gruppe III: Multiples Tumorwachstum innerhalb einer Gesäugeleiste. Die Tumoren haben die gleiche Dignität.
- Gruppe IV: Multiples Tumorwachstum innerhalb einer Gesäugeleiste. Die Tumoren haben unterschiedliche Dignität.
- Gruppe V: Multiples Tumorwachstum in beiden Gesäugeleisten. Die Tumoren haben die gleiche Dignität.
- Gruppe VI: Multiples Tumorwachstum in beiden Gesäugeleisten. Die Tumoren haben unterschiedliche Dignität.
- Gruppe VII: Innerhalb einer oder beiden Gesäugeleisten wurde mindestens ein Tumor extirpiert.
- Gruppe VIII: Mindestens eine Gesäugeleiste wurde entfernt. Auftreten von Rezidiven.

Die Gruppeneinteilung liegt den Ergebniskapiteln 3.2.10.1. (S. 61 f.), 3.2.11. (S. 62 ff.) und 3.2.12. (S. 64 f.) zugrunde.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Vorstellung der Hunde

Die Vorstellung der Hunde erfolgt in Tabelle 1 im Anhang (S. 99 f.).

3.2.2. Rassen-, Alters- und Geschlechtsverteilung

Die Rassenverteilung ergibt sich aus Tabelle 1:

Rasse	Anzahl	%
Mix	11	40
Terrier	5	19
Dackel	4	15
DSH	2	7
Cocker	2	7
Rottweiler	1	4
Briard	1	4
Vorstehhund	1	4
gesamt	27	100

DSH: Deutscher Schäferhund

Die fünf Terrier sind: 2 Pitbull-Terrier, 1 American-Staffordshire Terrier, 1 Foxterrier und 1 Yorkshire Terrier.

Bei den vier Dackeln handelt es sich um 3 Rauhaar- und 1 Langhaardackel.

Die elf Mischlingshunde setzen sich aus 3 Terriermischlingen, 3 Schnauzermischlingen, 1 Dackelmix, 1 Schäferhundmix, 1 Spitzmix, 1 Colliemix und 1 Rottweilmix zusammen.

Ordnet man die Mischlingshunde so den bestimmten Rassen zu, ergibt sich die folgende Verteilung (Tabelle 2).

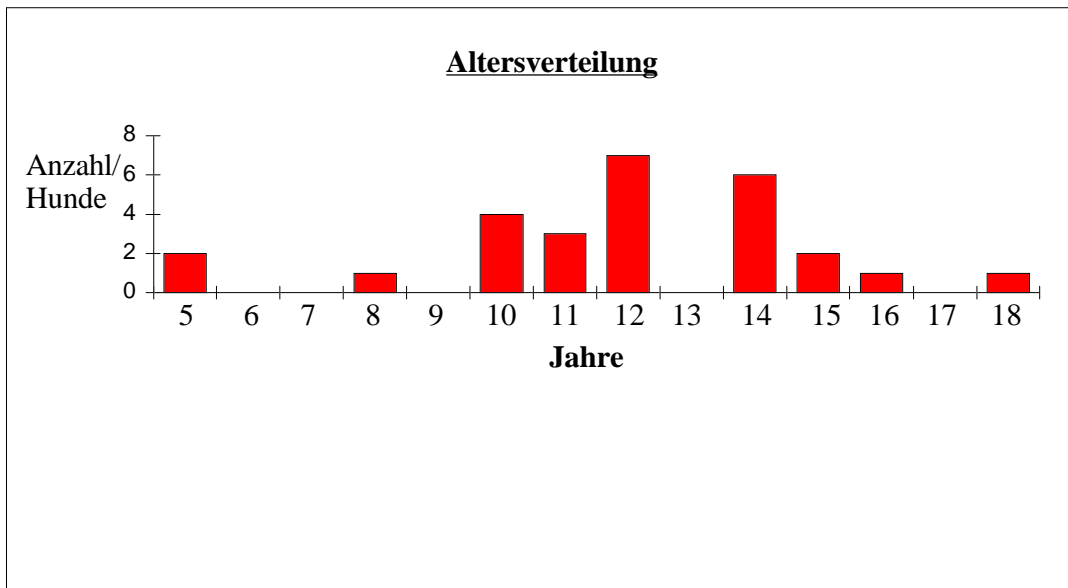
Tabelle 2: Zuordnung der Mischlingshunde zu den bestimmten Rassen

Rasse	Anzahl
Terrier/Terriermix	8
Dackel/Dackelmix	5
DSH/Schäferhundmix	3
Schnauzermix	3
Cocker Spaniel	2
Rottweiler/Rottweilmix	2
Briard	1
Vorstehhund	1
Spitzmix	1
gesamt	27

DSH: Deutscher Schäferhund

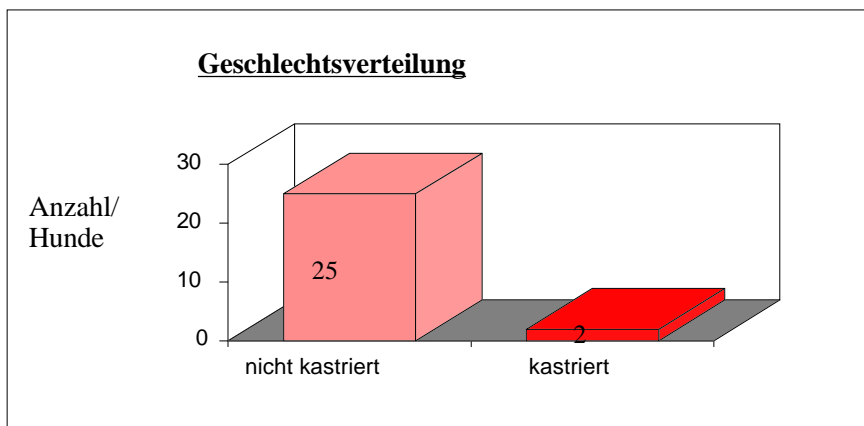
Die Altersverteilung der Hunde ergibt sich aus Grafik 1. Das Durchschnittsalter der Hunde in dieser Studie beträgt 11,3 Jahre.

Grafik 1:



Das Geschlecht der 27 Hunde ist ausnahmslos weiblich. Lediglich zwei der 27 Hündinnen sind kastriert, wobei sich nicht zurückverfolgen läßt, wann die Kastration durchgeführt wurde.

Grafik 2: Geschlechtsverteilung



3.2.3. Beschreibung der Veränderungen an der Mammarleiste und Mammatumordiagnosen

3.2.3.1. Tabellen der Mammatumordiagnosen

Für die Beschreibung der Veränderungen an den Mammarleisten der Hündinnen siehe Abschnitt Nr. 7 Anhang, Tabelle 2 (S. 101).

Als Hauptdiagnosen, die nach dem Malignitätsgrad der Veränderung (s. Kap. 2.4.3.1., S. 6 f.) festgelegt wurden, liegen vor (Tabelle 3).

Tabelle 3: Hauptdiagnosen

Hauptdiagnose	Anzahl Hunde	%
Adenokarzinom	9	33
AdCa mit MEH	9	33
Solides Karzinom	4	15
Komplexes Karzinom	2	7,5
Anapl. Karzinom	2	7,5
Kollisionstumor	1	4
gesamt	27	100

AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; anapl.: anaplastisches

Werden alle Diagnosen aufgezählt, d.h. werden auch Tumoren geringerer Malignität neben der Hauptdiagnose bei den Hündinnen bzw. deren Gesäugeleisten berücksichtigt, erhält man insgesamt 40 Diagnosen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Alle Diagnosen

Diagnose	Anzahl	%
Adenokarzinom	12	30
AdCa mit MEH	18	45
Solides Karzinom	4	10
Komplexes Karzinom	3	7,5
Anapl. Karzinom	2	5
Kollisionstumor	1	2,5
gesamt	40	100

AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; anapl.: anaplastisches

Von kranial (T1) nach kaudal (I) läßt sich eine Zunahme von malignen Mammatumoren in den Komplexen feststellen.

Lediglich 4 % der Hauptdiagnosen sind im ersten thorakalen Mammarkomplex lokalisiert, während 33 % der Hauptdiagnosen im inguinalen Mammarkomplex zu finden sind.

Werden alle von malignen Tumoren betroffenen Komplexe betrachtet, so fällt eine regelmäßige Zunahme nach kaudal auf. 5 % der ersten thorakalen Komplexe sind von Tumoren betroffen, 18 % der zweiten thorakalen Komplexe, 23 % der ersten abdominalen Komplexe, 24 % der zweiten abdominalen Komplexe und 30 % der inguinalen Komplexe.

In 44 % der Fälle wird die Hauptdiagnose in der linken Gesäugeleiste gefunden, in 56 % in der rechten Gesäugeleiste.

Wird ein Vergleich zwischen linker und rechter Mammaleiste betreffend aller Diagnosen aufgestellt, so ist die linke Leiste zu 45 % und die rechte Leiste zu 55 % betroffen.

In Tabelle 5 werden die Hauptdiagnosen und alle weiteren Diagnosen den einzelnen Mammarkomplexen zugeordnet.

Tabelle 5: Mammarkomplexe und Diagnosen

Mammar-komplex	Haupt-diag.	ges.	%	alle Diag.	ges.	%	AdCa	AdCa+MEH	sol Ca	kompl Ca	anapl Ca	Koll-Tu
liT1	2			3			1	1	1	–	–	–
liT2	7			10			3	4	1	1	1	–
liA1	7			10			4	2	1	1	1	1
liA2	4			8			3	2	–	–	2	1
liI	12			16			5	7	1	1	2	0
links		32	44		47	45						
reT1	1			2			1	1	–	–	–	–
reT2	6			9			–	4	2	2	1	–
reA1	11			14			5	5	2	1	1	–
reA2	11			17			6	7	2	1	1	–
reI	12			16			6	5	3	–	1	–
rechts		41	56		57	55						
gesamt		73	100		104	100						
T1		3	4		5	5	2	2	1	–	–	–
T2		13	17		19	18	3	8	3	3	2	–
A1		18	25		24	23	9	7	3	2	2	1
A2		15	21		25	24	9	9	2	1	3	1
I		24	33		31	30	11	12	4	1	3	–
gesamt			100			100						

Hauptdiag.: Hauptdiagnose; ges.: gesamt; Diag.: Diagnosen; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; solCa: solides Karzinom; komplCa: komplexes Karzinom; anaplCa: anaplastisches Karzinom; Koll-Tu: Kollisionstumor; T1: erster thorakaler Komplex; T2: zweiter thorakaler Komplex; A1: erster abdominaler Komplex; A2: zweiter abdominaler Komplex; I: inguinaler Komplex

3.2.4. Beschreibung der Veränderungen an den Axillarlymphknoten und Diagnosen

Zur Beurteilung der Axillarlymphknoten wird auf die in den Kap. 3.1.4.3.1. (S. 29 f.) und Kap. 3.1.4.4.1. (S. 31 f.) dargestellten Schemata zurückgegriffen. Die Beurteilungen aller HE- und Immunschnitte der linken und rechten Axillarlymphknoten, gegebenenfalls der Lnn. axillares accessorii finden sich in Abschnitt 7 Anhang, Tabelle 3, S. 102 ff.

3.2.4.1. Tabellen und Diagramme aller Axillarlymphknotendiagnosen

3.2.4.1.1. HE-gefärbte Lymphknoten

Tabelle 6: Diagnosen aller HE-gefärbten Lymphknoten

Diagnose	Anzahl (gesamt: 59)
Metastasenfrei / keine weiteren Befunde	7
Metastasenfrei / Nebenbefunde*	25
V.a. Mammatumormetastasen	2
Metastasen eines Mammatumors / keine weiteren Befunde	10
Mikrometastasen eines Mammatumors / keine weiteren Befunde	2
Metastasen eines Mammatumors / Nebenbefunde* ²	8
Mikrometastasen eines Mammatumors / Nebenbefunde* ²	1
Metastasen weiterer Tumoren* ³	4

*=Blutungen, Hyperplasie, Sinuskatarrh, Autolyse

*²=Blutungen, Nekrosen, Autolyse, Hyperplasie

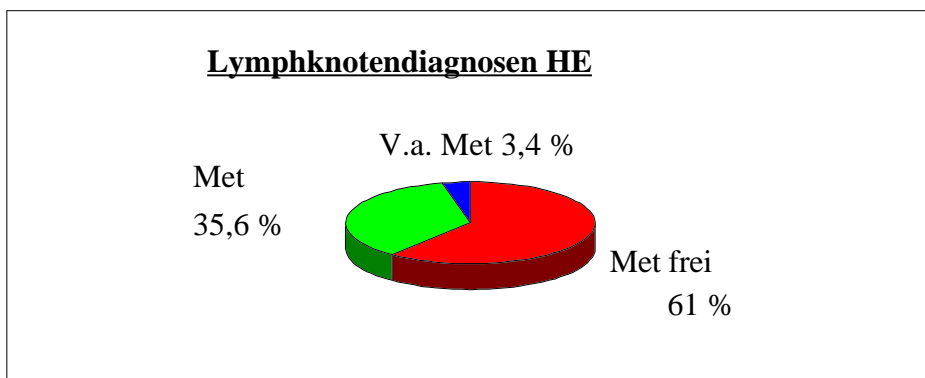
*³=Hämangiosarkometastasen, Uteruskarzinometastasen

V.a.=Verdacht auf

36 der 59 Lymphknoten sind mammatumormetastasenfrei (entspricht 61 %), 21 Lymphknoten haben Mammatumormetastasen (entspricht 35,6 %) und bei zwei der Lymphknoten besteht der Verdacht auf Mammatumormetastasen (entspricht 3,4 %).

Grafik 3 zeigt alle 59 Lymphknoten im Vergleich „mammatumormetastasenfrei“ und „mit Mammatumormetastasen behaftet“.

Grafik 3:



Met.frei: mammatumormetastasenfrei; Met: Mammatumormetastasen und Mammatumormikrometastasen;
V.a. Met: Verdacht auf Metastasen

41 % (11 von 27) der linken Axillarlymphknoten haben Mammatumormetastasen, 30 % (8 von 27) der rechten Axillarlymphknoten haben Mammatumormetastasen und 40 % (2 von 5) der Lymphonodi axillares accessorii haben Mammatumormetastasen (Tabelle 7).

Tabelle 7: Alle einzelnen von Mammatumormetastasen betroffene Lymphknoten

Anzahl Met. gesamt	liAxLk	reAxLk	liLnacc	reLnacc
21	11	8	–	2
Anzahl V.a. Met gesamt				
2	1	1	–	–

Met.: Mammatumormetastasen und Mammatumormikrometastasen; liAxLk: linker Axillarlymphknoten, reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; liLnacc: linker Lymphonodus axillaris accessorius, reLnacc: rechter Lymphonodus axillaris accessorius; V.a. Met: Verdacht auf Metastasen

29 % der mit Metastasen behafteten Lymphknoten zeigen eine Lymphangiosis carcinomatosa, 29 % eine Hämangiosis carcinomatosa und 19 % eine Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa. In 57 % der Fälle werden zusätzlich Blutungen im Lymphknoten gefunden, in 48 % der Fälle werden zusätzlich Nekrosen gefunden und 9,5 % der Lymphknoten zeigen eine Hyperplasie (siehe Anhang Tabelle 4, S 105 f.).

Wird die Beziehung zwischen Lymphknotenmetastasen und Lymphknotengröße betrachtet, so zeigt sich, daß 20 der 21 von Metastasen betroffenen Lymphknoten eine Längsausdehnung >5 mm haben. Die Durchschnittslängenausdehnung aller 21 von Metastasen betroffenen Lymphknoten beträgt 1,98 cm, im Vergleich dazu ist die Durchschnittslängenausdehnung der 36 metastasenfrenen Lymphknoten 1,18 cm.

Ein metastasenbehafteter Lymphknoten kann kleiner als ein metastasenfrenen Lymphknoten sein (siehe Anhang Tabelle 3, S. 102 ff.).

52 % der Lymphknoten zeigen eine ungleichmäßige, höckrige Anschnittsfläche und in 67 % der Fälle lassen sich Rinde und Mark im Anschnitt des Lymphknotens nicht trennen (bezogen auf die mit Metastasen/Mikrometastasen betreffenden Lymphknoten).

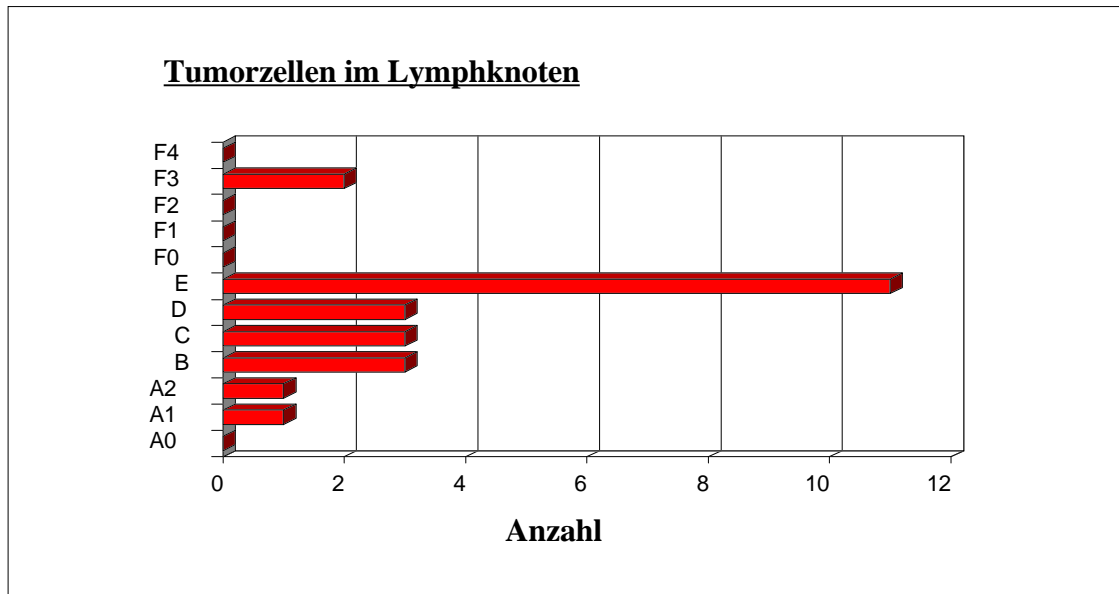
Die Tabelle mit Lymphknotenmetastasen, Lymphknotengröße und Anschnitt des Lymphknotens befindet sich im Anhang, Tabelle Nr. 5, S. 106 f.

Grafik 4 gibt Auskunft über die Anzahl der in den Lymphknoten gefundenen Tumorzellen (s. Kap. 3.1.4.3.1., S. 29 f.).

Bei den 21 mit Mammatumormetastasen behafteten Lymphknoten werden 24 Angaben über die Größe der Veränderung gemacht, da die direkte Lymphknotenumgebung ebenfalls Berücksichtigung in der Beurteilung findet.

In den meisten Fällen handelt es sich um Tumorzellansammlungen der Größe E, das heißt um Zellverbände oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen, die den gesamten Lymphknoten einnehmen (46 % der Größenangaben). Zweimal finden sich Zellverbände von weniger als 50 Tumorzellen in der Umgebung (Lymph- und Blutgefäße, Fett- und Muskelgewebe) des Lymphknotens (Grafik 4).

Grafik 4: Anzahl der im Lymphknoten gefundenen Tumorzellen (Größe der Veränderung)



A0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen im Lymphknoten; A1: höchstens 10 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Lymphknoten (Gesamtumorzellanzahl höchstens 10 Tumorzellen); A2: 10-50 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Lymphknoten (Gesamtumorzellanzahl 10-50 Tumorzellen); B: Zellverband von 3-50 Tumorzellen im Lymphknoten; C: Zellverband von 51-250 Tumorzellen, oder mehrere Zellverbände im Lymphknoten, Gesamtumorzellanzahl <250 Tumorzellen; D: Zellverband von mehr als 251 Tumorzellen, oder mehrere Zellverbände im Lymphknoten, Gesamtumorzellanzahl >251 Tumorzellen; E: Zellverband oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen, den gesamten Lymphknoten einnehmend; F0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung; F1: höchstens 10 einzelner Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung (Gesamtumorzellanzahl höchstens 10 Tumorzellen); F2: 10-50 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung (Gesamtumorzellanzahl 10-50 Tumorzellen); F3: Zellverband von <50 Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung; F4: Zellverband von >50 Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung

Anzahl: gefunden in x Lymphknoten

3.2.4.1.2. Immungefärbte Lymphknoten

Tabelle 8: Diagnosen aller immungefärbter Lymphknoten

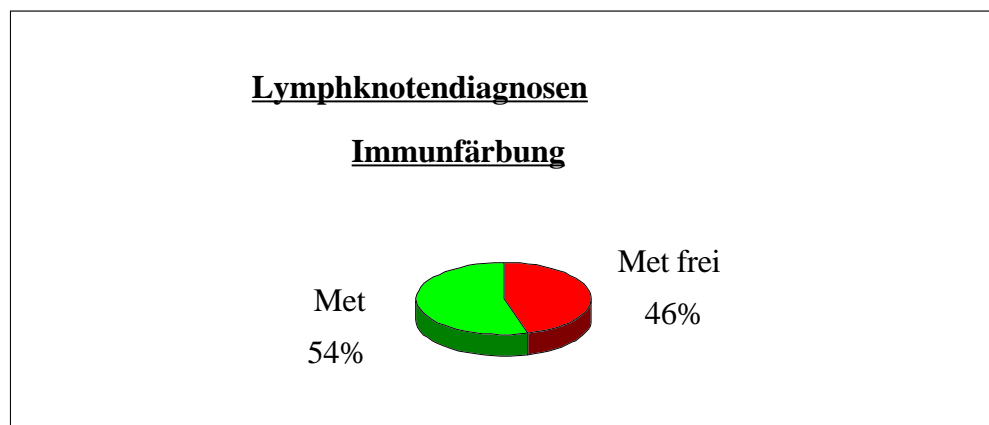
Diagnose	Anzahl (gesamt: 59)
Metastasenfrei	27
Metastasen eines Mammatumors	17
Mikrometastasen eines Mammatumors	14
immunnegativ, jedoch Met. eines Mt	1

Metastasenfrei: keine Mammatumormetastasen; Met.: Metastasen; Mt: Mammatumors

46 % der 59 immungefärbten Lymphknoten sind mammatumormetastasenfrei. 54 % der Lymphknoten haben Mammatumormetastasen, wobei 30 % der Lymphknoten metastasenbehaftet und 24 % der Lymphknoten mikrometastasenbehaftet sind.

Grafik 5 zeigt alle 59 Lymphknoten im Vergleich „mammatumormetastasenfrei“ und „mit Mammatumormetastasen behaftet“.

Grafik 5:



Met.frei: mammatumormetastasenfrei; Met: Mammatumormetastasen und Mammatumormikrometastasen

41 % der linken Axillarlymphknoten (11 von 27) haben Mammatumormetastasen oder Mammatumormikrometastasen, 63 % der rechten Axillarlymphknoten (17 von 27) haben Mammatumormetastasen oder Mammatumormikrometastasen und 60 % (3 von 5) der Lymphonodi axillares accessorii haben Mammatumormetastasen/-mikrometastasen (vergl. auch Anhang Tabelle 6, S. 107 ff.).

Tabelle 9: Alle einzelnen von Mammatumormetastasen betroffenen Lymphknoten

Anzahl Met. gesamt	liAxLk	reAxLk	liLnacc	reLnacc
31	11	17	1	2

Met.: Mammatumormetastasen und Mammatumormikrometastasen; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; liLnacc: linker Lymphonodus axillaris accessorius; reLnacc: rechter Lymphonodus axillaris accessorius

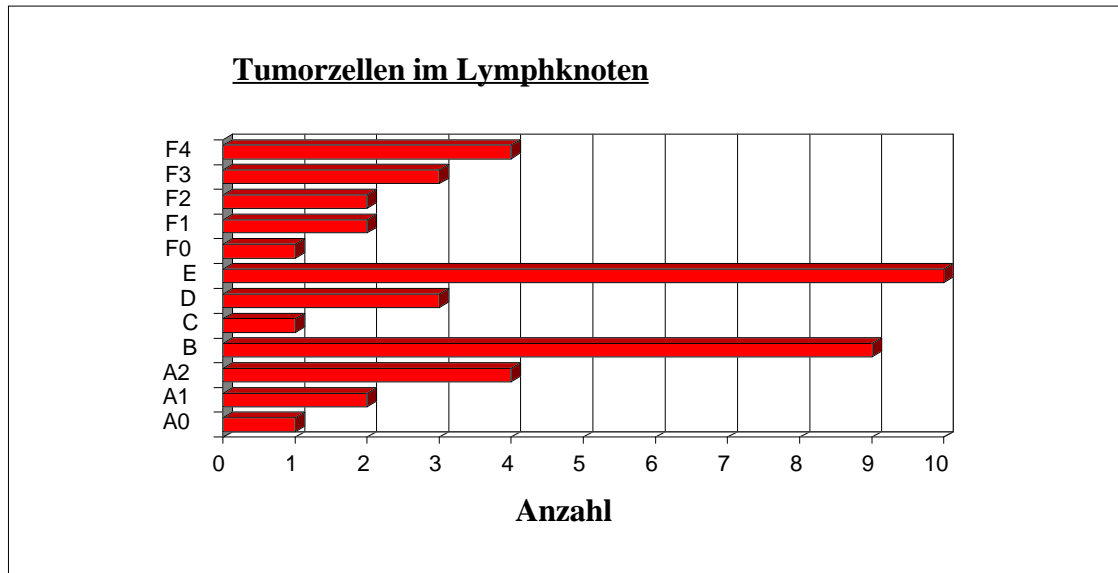
Grafik 6 gibt Auskunft über die Anzahl der in den Lymphknoten gefundenen Tumorzellen (s. Kap. 3.1.4.4., S. 31 f.).

Bei den 31 (ein Lymphknoten ist immunnegativ; siehe Anhang Tabelle 3, S. 102 ff.) mit Mammatumormetastasen und Mammatumormikrometastasen behafteten Lymphknoten werden 42 Angaben über die Größe der Veränderung gemacht.

In 10 Lymphknoten (24 % aller Größenangaben) findet sich eine Reaktion der Größe E, das heißt weit mehr als 251 Tumorzellen, die den gesamten Lymphknoten einnehmen. In 9 Lymphknoten finden sich Zellverbände von 3 bis 50 Tumorzellen (s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildung 1, S. 119). In der Umgebung der Lymphknoten (Lymph- und Blutgefäße, Fett- und Muskelgewebe) werden insgesamt 12 Angaben unterschiedlicher Größe gemacht.

Der Unterschied zu den HE-Befunden kommt dadurch zustande, daß eine genaue Angabe über die Anzahl der positiven Tumorzellen in der Immunfärbung gemacht werden kann. Die 11 Reaktionen der Größe E in der HE-Färbung zu den 10 Reaktionen dieser Größe in der Immunfärbung kommen dadurch zu Stande, daß ein mit anaplastischen Tumorzellen durchsetzter Lymphknoten in der Immunfärbung negativ ausfällt.

Grafik 6: Anzahl der in den Lymphknoten gefundenen Tumorzellen (Größe der Veränderung)



A0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen im Lymphknoten; A1: höchstens 10 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Lymphknoten (Gesamttumorzellanzahl: höchstens 10); A2: 10-50 Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Lymphknoten (Gesamttumorzellanzahl: 10-50); B: Zellverband von 10-50 Tumorzellen im Lymphknoten; C: Zellverband von 51-250 Tumorzellen, oder mehrere Zellverbände im Lymphknoten, Gesamttumorzellanzahl <250; D: Zellverband von mehr als 251 Tumorzellen, oder mehrere Tumorzellverbände im Lymphknoten, Gesamttumorzellanzahl >251; E: Zellverband oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen, den gesamten Lymphknoten einnehmend; F0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von 2 Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung; F1: höchstens 10 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung (Gesamttumorzellanzahl: höchstens 10); F2: 10-50 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung (Gesamttumorzellanzahl: 10-50); F3: Zellverband von <50 Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung; F4: Zellverband von >50 Tumorzellen in direkter Lymphknotenumgebung

Anzahl: gefunden in x Lymphknoten

3.2.4.2. Lokalisation der Axillarlymphknotenmetastasen

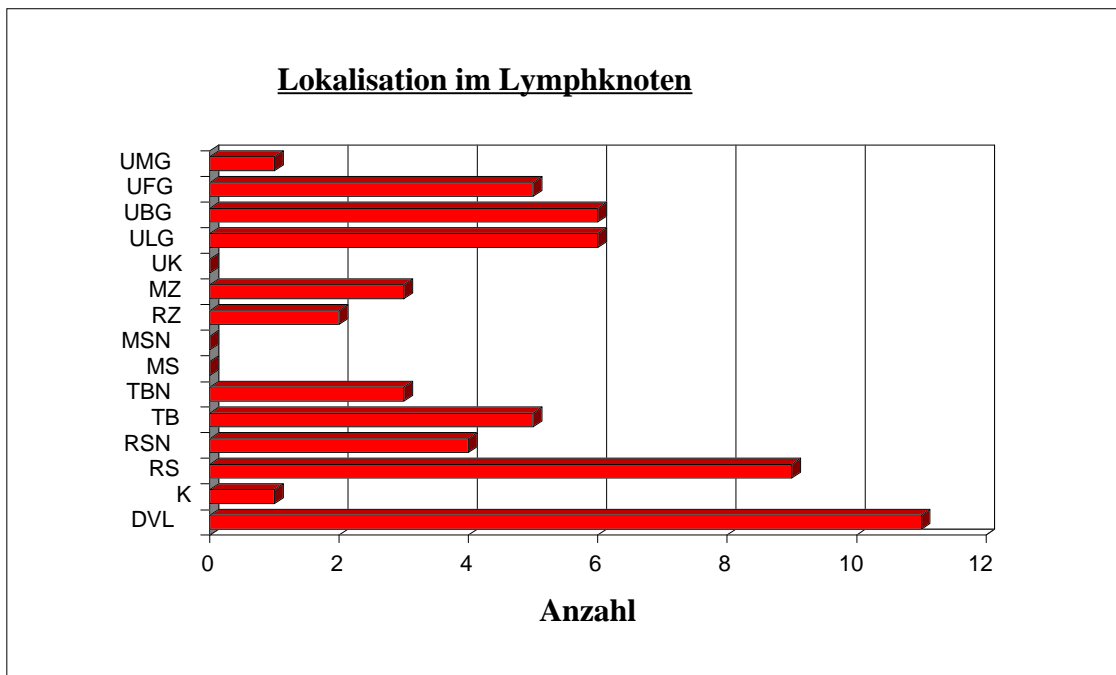
3.2.4.2.1. HE-Schnitte

Es werden 56 Lokalisationen der Veränderungen (Metastasen) in den 21 Lymphknoten mit Mammatumormetastasen und 2 Lymphknoten mit Verdacht auf Mammatumormetastasen angegeben. Es wird zwischen Lymphknoten und Lymphknotenumgebung unterschieden.

38 von insgesamt 56 Lokalisationen der Tumorzellen sind innerhalb des Lymphknotens zu finden (entspricht 68 %). 18 mal (entspricht 32 %) sind die Tumorzellen in der direkten Lymphknotenumgebung zu finden.

In 20 % der Fälle sind die Tumorzellen diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt, in 29 % der Fälle finden sich die Tumorzellen in der Lymphknotenkapsel, im Randsinus, Randsinusnähe und Rindenzone und in 14 % der Fälle sind die Tumorzellen in den Trabekeln und in Trabekelnähe lokalisiert. Lediglich 5 % der Lokalisationen finden sich in der Markzone (Grafik 7).

Grafik 7: Lokalisation der Mammatumorzellen im Lymphknoten (s. Kap. 3.1.4.3.1., S. 29 f.)



DVL: Tumorzellen diffus über den Lymphknoten verteilt, Lymphgewebe kaum noch zu erkennen; K: Lymphknotenkapsel; RS: Randsinus des Lymphknotens; RSN: Randsinusnähe; TB: Trabekel; TBN: Trabekelnähe; MS: Marksinus des Lymphknotens; MSN: Marksinusnähe; RZ: Rindenzone des Lymphknotens; MZ: Markzone des Lymphknotens; UK: Tumorzellen liegen direkt der Lymphknotenkapsel auf; ULG: Lymphgefäß(e) in direkter Lymphknotenumgebung; UBG: Blutgefäß(e) in direkter Lymphknotenumgebung; UFG: Fettgewebe in Lymphknotenumgebung; UMG: Muskelgewebe in Lymphknotenumgebung

3.2.4.2.2. Immunschnitte

Es werden 49 Lokalisationen der Veränderungen (Metastasen) in den 31 Lymphknoten mit positiven Reaktionen angegeben. Es wird zwischen Lymphknoten und Lymphknotenumgebung unterschieden.

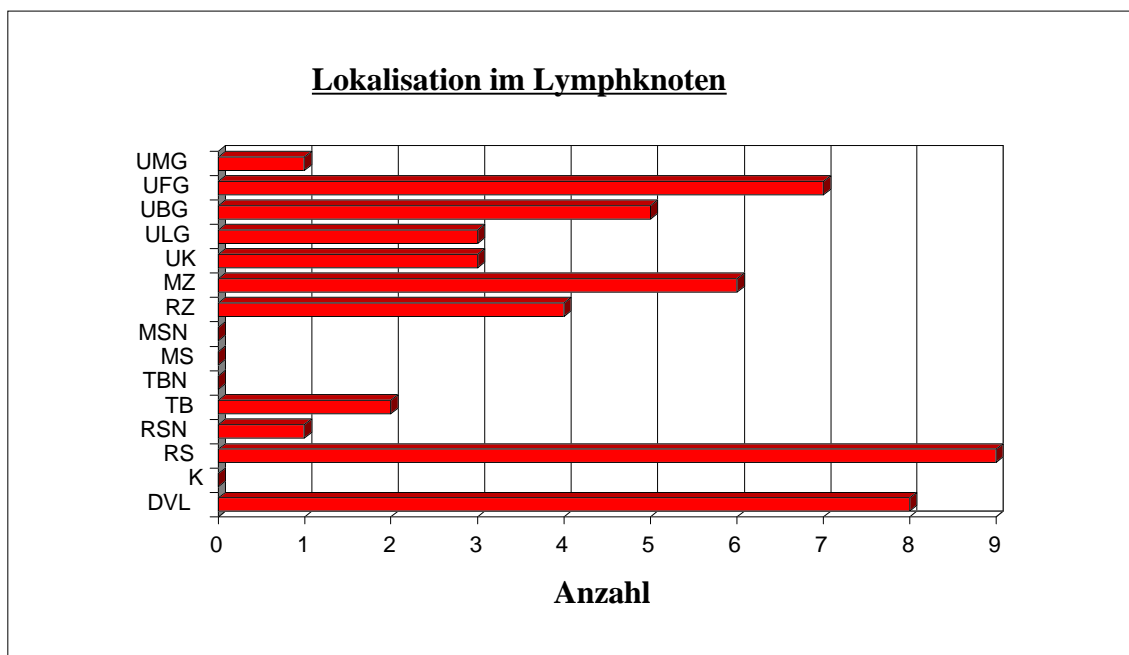
30 der insgesamt 49 Lokalisationen sind innerhalb des Lymphknotens zu finden (entspricht 61 %). 19 Mal (39 %) finden sich die Tumorzellen in der direkten Lymphknotenumgebung.

In 16 % der Fälle sind die Tumorzellen diffus über den Lymphknoten verteilt, in 29 % der Fälle befinden sich die Tumorzellen im Randsinus (s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildung 1, S. 119), in Randsinusknähe und in der Rindenzone. In zwei Fällen (4 %) befinden sich die Tumorzellen in den Trabekeln des Lymphknotens.

12 % der Lokalisationen finden sich in der Markzone (Grafik 8).

Der Unterschied von 56 Lokalisationen in den HE-Befunden zu 49 Lokalisationen in den Immunbefunden kommt dadurch zustande, daß in den HE-Färbungen Zellen (Makrophagen, Histiozyten) fälschlicherweise für Tumorzellen gehalten wurden.

Grafik 8: Lokalisation der Mammatumorzellen im Lymphknoten (s. Kap. 3.1.4.4.1., S.31 f.)



DVL: Tumorzellen diffus über den gesamten Lymphknoten verteilt, Lymphgewebe kaum noch zu erkennen; K: Lymphknotenkapsel; RS: Randsinus des Lymphknotens; RSN: Randsinusknähe; TB: Trabekel; TBN: Trabekelnähe; MS: Marksinus des Lymphknotens; MSN: Marksinusknähe; RZ: Rindenzone des Lymphknotens; MZ: Markzone des Lymphknotens; UK: Tumorzellen direkt der Lymphknotenkapsel aufliegend; ULG: Lymphgefäß(e) in direkter Lymphknotenumgebung; UBG: Blutgefäß(e) in direkter Lymphknotenumgebung; UFG: Fettgewebe in Lymphknotenumgebung; UMG: Muskelgewebe in Lymphknotenumgebung

3.2.4.3. Vergleich zwischen Axillarlymphknotenmetastasen und Axillarlymphknotenmikrometastasen

Die 21 in der HE-Färbung gefundenen Lymphknotenmetastasen setzen sich aus 18 Lymphknoten (86 %) mit Mammatumormetastasen und 3 Lymphknoten (14 %) mit Mammatumormikrometastasen zusammen (vergl. Kap. 3.2.4.1.1. Tabelle 6 und Grafik 3, S. 41).

Die 31 in der Immunfärbung gefundenen Lymphknotenmetastasen setzen sich aus 17 Lymphknoten (56 %) mit Mammatumormetastasen und 14 Lymphknoten (44 %) mit Mammatumormikrometastasen zusammen (vergl. Kap. 3.2.4.1.2. Tabelle 8 und Grafik 5, S. 43 f.).

Ein Lymphknoten, welcher im HE-Schnitt Metastasen aufweist, ist immunnegativ (vergl. Anhang Tab 3, S. 102 f.). Dadurch erklärt sich die Diskrepanz von 18 HE-gefärbten Lymphknoten mit Metastasen zu 17 immungefärbten Lymphknoten mit Metastasen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Axillarlymphknotenmetastasen / Axillarlymphknotenmikrometastasen:

	HE-Färbung Anzahl	HE-Färbung %	Immunfärbung Anzahl	Immunfärbung %
Mt-Metastasen	18 Lk	86 %	17 Lk	55 %
Mt-Mikromet.	3 Lk	14 %	14 Lk	45 %
gesamt	21 Lk	100 %	31 Lk	100 %

Mt: Mammatumor; Mikromet.: Mikrometastasen; Lk: Lymphknoten

3.2.4.4. Ergebnisvergleich zwischen histologischen HE- und immunhistochemischen Befunden

Alle HE-Befunde der Lymphknoten werden mit dem immunhistochemischen Befund verglichen.

Es ergeben sich 6 Befundgruppen:

Gruppe I: Lymphknoten im HE-Befund metastasenfrei / immunhistochemischer Befund negativ

Gruppe II: Lymphknoten im HE-Befund mit Metastasen / immunhistochemischer Befund positiv

Gruppe III: Lymphknoten im HE-Befund metastasenfrei / immunhistochemischer Befund positiv

Gruppe IV: Lymphknoten im HE-Befund mit Metastasen / immunhistochemischer Befund negativ

Gruppe V: Lymphknoten im HE-Befund mit Verdacht auf Metastasen / immunhistochemischer Befund positiv

Gruppe VI: Lymphknoten im HE-Befund mit Verdacht auf Metastasen / immunhistochemischer Befund negativ

Welche einzelnen Lymphknoten welcher Gruppe zugeordnet werden, findet sich im Abschnitt 7 Anhang, S. 109 ff.

Tabelle 11: Gruppenverteilung

Gruppe	Anzahl Lkpaare
I	26
II	20
III	10
IV	1
V	1
VI	1

Lkpaare: entsprechende Lymphknotenpaare aus HE- und Immunfärbung

Die immunhistochemische Färbemethode erweist sich sowohl im Auffinden von Mikrometastasen als auch in der Bestätigung bzw. Nichtbestätigung von Metastasenverdacht der histologischen HE-Färbung als überlegen. In einem Fall (Gruppe IV) kann der HE-Befund nicht immunhistochemisch bestätigt werden, da entdifferenzierte Tumorzellen im Lymphknoten vorliegen.

In den 46 Fällen der Gruppen I und II wird der HE-Befund „Lymphknoten metastasenfrei“ bzw. „Lymphknoten mit Metastasen“ durch das immunhistochemische Färbeverfahren bestätigt.

Tabelle 12 faßt den Ergebnisvergleich zwischen HE- und Immunfärbung zusammen:

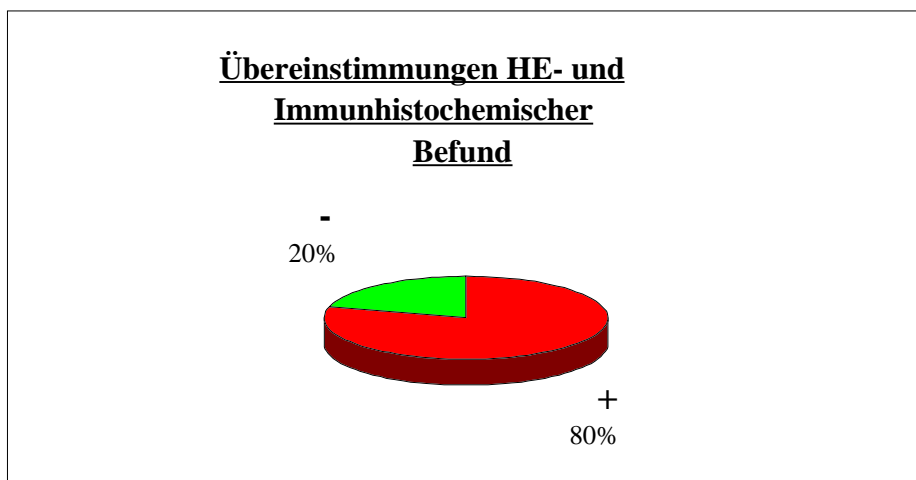
HE-Befund	HE-Färbung Anzahl (ges. 59 Lk)	immunhisto. Färbung Anzahl (ges. 59 Lk)	Übereinstimmung in x %
Lk metastasenfrei	36	28	78 %
Lk mit Metastasen	21	31	70 %
Lk mit V.a. Met.	2	–	50 % (ein Fall wird bestätigt)

ges.: gesamt; Lk: Lymphknoten; V.a. Met.: Verdacht auf Metastasen

10 im HE-Befund metastasenfreie Lymphknoten erweisen sich im immunhistochemischen Befund als positiv. Mit der HE-Färbung sind also nur 21 Lymphknoten sicher als „mit Mammatumormetastasen behaftet“ diagnostiziert worden; obwohl 31 Lymphknoten immunpositiv sind. 48 % der Lymphknotenmetastasen werden also mit der konventionellen HE-Färbung nicht erkannt.

Übereinstimmungen von HE-Befund und immunhistochemischen Befund gibt es insgesamt in 47 Fällen (Lymphknotenpaare HE- und Immunfärbung) oder 80 %, in 12 Fällen oder 20 % ergibt sich keine Übereinstimmung von HE-Befund und immunhistochemischen Befund. Dieser Sachverhalt wird in Grafik 9 dargestellt (vergl. Schema in Kap. 3.1.4.4.1. Punkte 5.1 und 5.2., S. 33).

Grafik 9:



Auch in der Auswertung über die Anzahl der in den Lymphknoten gefundenen Tumorzellen und deren Lokalisation erweist sich die immunologische Färbung der HE-Färbung als überlegen. Im immunologisch gefärbten Lymphknoten können genauere Angaben über Tumorzellanzahl und Lokalisation der Tumorzellen gemacht werden (vergl. Kap. 3.2.4.1.1., S. 43 Grafik 4 und Kap. 3.2.4.1.2., S. 45 Grafik 6, sowie Kap. 3.2.4.2., S. 46 ff.).

3.2.5. Auswertung der immunhistochemisch gefärbten Knochenschnitte

Die Beschreibung der immunhistochemisch gefärbten Knochenschnitte findet sich im Anhang, Tabellen 7 und 8, S. 110 ff.

3.2.5.1. Tabellen und Diagramme aller Knochenmetastasendiagnosen

Die Immunreaktionen aller 526 Knochenschnitte sind in Tabelle 13 zusammengefaßt. Immunpositive Reaktionen sind in insgesamt 36 Knochenschnitten zu finden.

Tabelle 13: Immunreaktionen aller Knochenschnitte

Reaktion	Anzahl (gesamt: 526)	% (gesamt: 100)
immunnegativ	490	93
immunpositiv	36	7

Tabelle 14 zeigt alle immunpositiven Reaktionen in den einzelnen Knochenschnitten und aus Tabelle 15 wird ersichtlich, wieviele Knochen Mammatumormetastasen bzw. Mammatumormikrometastasen enthalten.

Lesebeispiel für die Tabellen 14 und 15: In acht linken Humerusschnitten werden immunpositive Reaktionen gefunden. Das sind acht immunpositive Reaktionen in insgesamt fünf linken Humerusknochen. Dementsprechend sind fünf linke Humerusknochen mit Mammatumormetastasen bzw. Mammatumormikrometastasen behaftet (pro Knochen können mehrere immunpositive Reaktionen vorhanden sein).

Tabelle 14: Immunpositive Reaktionen in den einzelnen Knochenschnitten

immunpos. Reaktionen	da-von	li Humerus	re Humerus	li Femur	re Femur	li Becken	re Becken	L7	Ster-num
36		8	6	6	1	3	6	5	1

immunpos.: immunpositive; li: linker/s; re: rechter/s; L7: siebter Lendenwirbel

Tabelle 15: Metastasen / Mikrometastasen eines Mammatumors in den einzelnen Knochen

Knochen	Metastase	Mikrometastase	gesamt
li Humerus	3	2	Met./Mikromet. an 5 linken Humeri
re Humerus	3	2	Met./Mikromet. an 5 rechten Humeri
li Femur	3*	2*	Met./Mikromet. an 4 linken Femur
re Femur	–	1	Mikromet. an 1 rechtem Femur
li Becken	1	2	Met./Mikromet. an 3 linken Becken
re Becken	3	3	Met./Mikromet. an 6 rechten Becken
L7	2*	3*	Met./Mikromet. an 4 siebten Lendenwirbeln
Sternum	1	–	Met. an 1 Sternum

li: linker/s; re: rechter/s; Met: Metastase(n); Mikromet.: Mikrometastase(n); L7: siebter Lendenwirbel

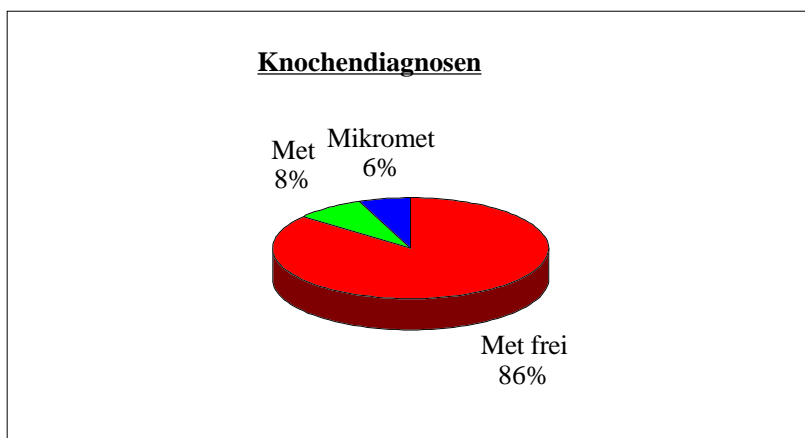
*=in einem linken Femur und in einem siebten Lendenwirbel werden sowohl Metastasen als auch Mikrometastasen nachgewiesen

Eine Zuordnung der immunpositiven Knochen zu den entsprechenden Hunden zeigt Tabelle 9 im Anhang, S. 113. Es wird ersichtlich, wieviele positive Reaktionen pro Knochen vorhanden sind.

171 von 199 Knochen sind metastasenfrem. In 16 Knochen (entspricht 8 %) lassen sich Metastasen von Mammatumoren nachweisen, während in 13 Knochen (entspricht 6 %) Mikrometastasen zu finden sind.

Die Diagnosen aller immungefärbter Knochen sind in Grafik 9 zusammengefaßt (in einem linken Femur und in einem siebten Lendenwirbel werden sowohl Metastasen als auch Mikrometastasen eines Mammatumors nachgewiesen. Beide Knochen werden mit „Metastasen eines Mammatumors“ gewertet).

Grafik 9: Knochendiagnosen



Met frei: Metastasenfrem; Met: Metastasen; Mikromet: Mikrometastasen

Tabelle 16 zeigt die einzelnen von Mammatumormetastasen / Mammatumormikrometastasen betroffenen Knochen (ein linker Femur und ein siebter Lendenwirbel werden mit „Metastasen eines Mammatumors“ gewertet). Alle 199 Knochen sind aufgeführt.

Tabelle 16:

Diagnose	liHu	reHu	liFe	reFe	liBe	reBe	L7	Ste	L2/3	Ri	Tib/Fib	Rad	Dig
metastasen-frei	22	22	23	26	24	21	23	–	1	5	1	1	1
Met eines Mt	3	3	3	–	1	3	2	1	–	–	–	–	–
Mikromet eines Mt	2	2	1	1	2	3	2	–	–	–	–	–	–
gesamt	27	27	27	27	27	27	27	1	1	5	1	1	1
% metfrei	82	82	85	96	89	78	86	0	100	100	100	100	100
% Met	11	11	11	0	4	11	7	100	0	0	0	0	0
% Mikromet	7	7	4	4	7	11	7	0	0	0	0	0	0
% gesamt	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

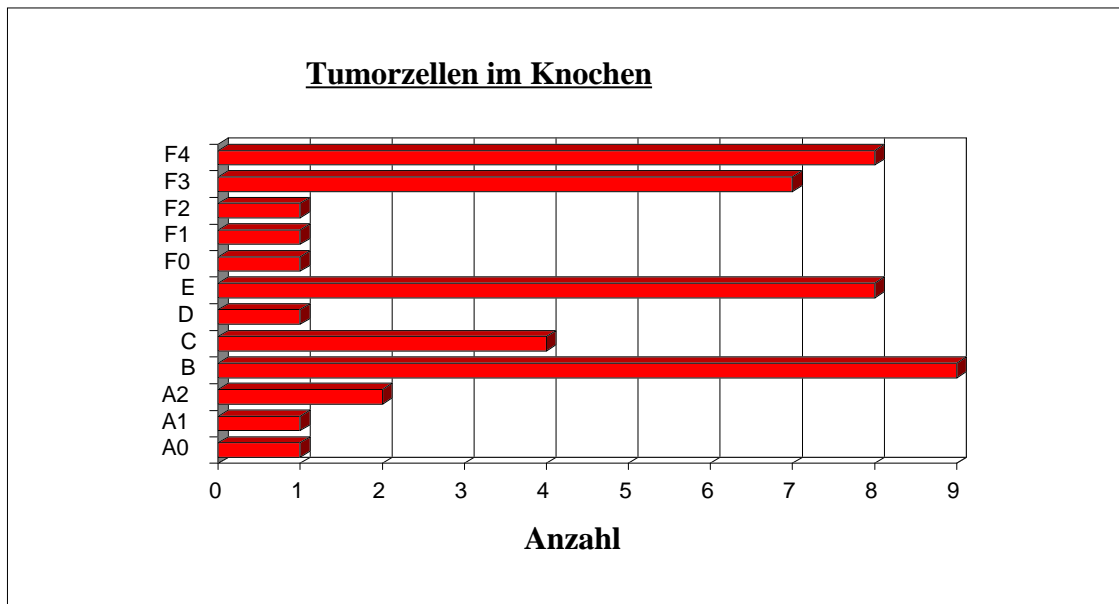
li: linker/s; re: rechter/s; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum; L2/3: zweiter/dritter Lendenwirbel; Ri: Rippe; Tib/Fib: Tibia/Fibula; Rad: Radius; Dig: Digitalknochen; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n); met.frei: metastasenf

Einen Überblick über die Anzahl der in den Knochenschnitten gefundenen Tumorzellen (s. Kap. 3.1.4.5.1., S. 34 f.) gibt Grafik 10. Bei den 36 immunpositiven Reaktionen in den Knochenschnitten werden 45 Angaben über die Größe der Veränderung gemacht.

In 9 Knochenschnitten werden Zellverbände von 3 bis 50 Tumorzellen gefunden. In 8 Knochenschnitten werden ein Zellverband oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen nachgewiesen (s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildung 2, S. 119).

In insgesamt 18 Knochenschnitten werden Tumorzellen in der direkten Knochenumgebung (Lymph- und Blutgefäße, den Knochen unmittelbar anliegendes Bindegewebe und Muskelgewebe; s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildungen 3 und 4, S. 120) nachgewiesen, wobei es sich in 8 Fällen um Zellverbände von über 50 Tumorzellen und in 7 Fällen um Zellverbände von unter 50 Tumorzellen handelt.

Grafik 10: Anzahl der in den Knochenschnitten gefundenen Tumorzellen (Größe der Veränderung)



A0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen im Knochen; A1: höchstens 10 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Knochen (Gesamtumorzellanzahl: höchstens 10); A2: 10-50 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen im Knochen (Gesamtumorzellzahl: 10-50); B: Zellverband von 3-50 Tumorzellen im Knochen; C: Zellverband von 51-250 Tumorzellen, oder mehrere Zellverbände im Knochen, jedoch Gesamtumorzellzahl <250; D: Zellverband von mehr als 251 Tumorzellen, oder mehrere Zellverbände im Knochen, Gesamtumorzellzahl >251; E: Zellverband oder mehrere Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen im Knochen; F0: eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen periostär; F1: höchstens 10 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen periostär (Gesamtumorzellzahl: höchstens 10); F2: 10-50 einzelne Tumorzellen oder Zellverbände von zwei Tumorzellen periostär (Gesamtumorzellzahl 10-50); F3: Zellverband von <50 Tumorzellen periostär; F4: Zellverband von >50 Tumorzellen periostär

Anzahl: gefunden in x Knochenschnitten

Tabelle 17: Größe der positiven Reaktionen in den einzelnen Knochen

Knochen	A0	A1	A2	B	C	D	E	F0	F1	F2	F3	F4
liHu	–	–	–	3	1	1	2	–	–	–	1	2
reHu	–	–	–	1	–	–	3	–	–	–	1	–
liFe	1	1	–	2	1	–	1	–	–	1	1	1
reFe	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	–
liBe	–	–	1	1	1	–	–	1	–	–	1	–
reBe	–	–	1	–	1	–	2	–	1	–	1	2
L7	–	–	–	2	–	–	–	–	–	–	1	2
Ste	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1

Legende: siehe Grafik 10

li: linker/s; re: rechter/s; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum

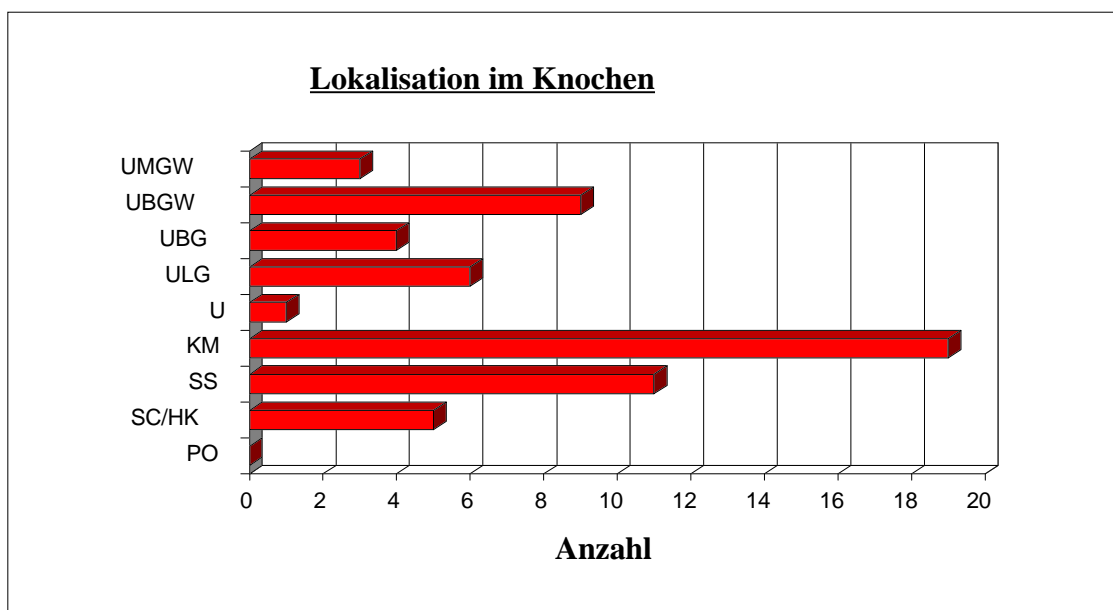
3.2.5.2. Lokalisation der Knochenmetastasen (Immunschnitte)

35 von insgesamt 58 Lokalisationen der Tumorzellen sind innerhalb des Knochens (s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildung 2, S. 119) zu finden (entspricht 60 %). 23 mal (entspricht 40 %) sind die Tumorzellen in der direkten Knochenumgebung (periostär) zu finden (s. Abschnitt 7.1. Bildteil, Abbildungen 3 und 4, S. 120).

In 9 % der Fälle sind die Tumorzellen in der Substantia compacta mit Haverschen Kanälchen lokalisiert, in 19 % der Fälle finden sie sich in der Substantia spongiosa des Knochens und in der überwiegenden Zahl der Fälle (in 33 %) sind die Tumorzellen im Knochenmark zu finden.

Grafik 11 zeigt die 58 Lokalisationen der Veränderungen (36 immunpositive Reaktionen). Es wird zwischen Knochen und Knochenumgebung unterschieden (s. Kap. 3.1.4.5.1., S. 34 f.).

Grafik 11: Lokalisation der positiven Reaktionen im Knochen und in der Knochenumgebung



PO: Periost; SC/HK: Substantia compacta mit Haverschen Kanälchen; SS: Substantia spongiosa; KM: Knochenmark; U: periostär (kein Gewebebezug); ULG: Lymphgefäß(e) periostär; UBG: Blutgefäß(e) periostär; UBGW: Bindegewebe periostär; UMGW: Muskelgewebe periostär

Zusätzlich wird angegeben, ob die positive Reaktion in Humerus und Femur (lange Röhrenknochen) epiphysär, diaphysär oder metaphysär lokalisiert ist (Tabelle 18).

Die überwiegende Anzahl an positiven Reaktionen in den langen Röhrenknochen sind diaphysär (46 %) lokalisiert. In der Metaphyse der langen Röhrenknochen finden sich 35 % der positiven Reaktionen und in der Epiphyse 19 % der positiven Reaktionen.

Tabelle 18: Lokalisation der positiven Reaktionen in den langen Röhrenknochen

Reaktion in den langen Röhrenknochen	Anzahl Reaktionen	%
epiphysär	5	19
diaphysär	12	46
metaphysär	9	35

Tabelle 19 enthält die 58 Lokalisationen der positiven Reaktionen in den einzelnen Knochen.

Knochen	PO	SC	SS	KM	U	ULG	UBG	UBGW	UMGW
liHu	–	1	2	5	–	1	1	2	2
reHu	–	1	3	3	–	–	–	1	–
liFe	–	2	2	4	–	2	2	–	–
reFe	–	–	–	–	–	–	–	1	–
liBe	–	–	1	2	–	–	–	1	1
reBe	–	1	2	3	–	1	1	3	–
L7	–	–	1	2	1	2	–	–	–
Ste	–	–	–	–	–	–	–	1	–

li: linker/s; re: rechter/s; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum; PO: Periost; SC: Substantia compacta mit Haverschen Kanälchen; SS: Substantia spongiosa; KM: Knochenmark; U: periostär (kein Gewebebezug); ULG: Lymphgefäß(e) periostär; UBG: Blutgefäß(e) periostär; UBGW: Bindegewebe periostär; UMGW: Muskelgewebe periostär

3.2.6. Auflistung der Diagnosen Mammarleiste und Metastasen

Die Zusammenfassung aller nachgewiesenen Metastasen und Mikrometastasen liefert Tabelle 10 im Anhang (S. 113 f.). Aus der Tabelle wird ersichtlich, welche Hauptdiagnose in der Mammarleiste vorliegt und es kann die eventuelle Metastase der jeweiligen Diagnose zugeordnet werden.

3.2.7. Beziehung zwischen Tumordiagnose und Metastasen

Die 27 Hauptdiagnosen der Mammarleisten werden in Beziehung zu den nachgewiesenen Metastasen gesetzt.

3.2.7.1. Beziehung zwischen Tumordiagnose und Axillarymphknotenmetastasen

Alle soliden und anaplastischen Karzinome weisen ausnahmslos Axillarymphknotenmetastasen auf. Die Adenokarzinome weisen zu 45 % Axillarymphknotenmetastasen auf und zu 22 % Axillarymphknotenmikrometastasen.

Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie sind zu 56 % axillarymphknotenmetastasenfrei; lediglich ein Lymphknoten weist Mammatumormetastasen auf und in 3 Fällen werden Mikrometastasen in den Lymphknoten nachgewiesen. Im Vergleich ist dieses die höchste Quote für einen Mikrometastasennachweis.

Tabelle 20 zeigt die Beziehung Hauptdiagnose Mammatumor zu Axillarymphknotenmetastasen / -mikrometastasen.

Sind Axillarymphknotenmetastasen und Axillarymphknotenmikrometastasen parallel vorhanden, so wird die Diagnose „Axillarymphknotenmetastase“ gewertet.

Tabelle 20: Diagnose Mammatumor und Axillarymphknotenmetastasen

Diagnose	gesamt	keine AxLk Met	%	AxLk Met	%	AxLk Mikromet	%
AdCa	9	3	33	4	45	2	22
AdCa+MEH	9	5	56	1	11	3	33
sol Ca	4	–	0	4	100	–	0
kompl Ca	2	–	0	1	50	1	50
anapl Ca	2	–	0	2	100	–	0
Koll Tu	1	–	0	–	0	1	100
Hd gesamt	27	8		12		7	

Met: Mammatumormetastasen; AxLk: Axillarymphknoten; Mikromet: Mammatumormikrometastasen; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor; Hd: Hunde

Es werden insgesamt bei 8 Hunden keine Mammatumormetastasen in den Lymphknoten nachgewiesen und bei 19 Hunden sind die Lymphknoten metastasen- / mikrometastasenbehaftet.

Das Prozentverhältnis von Hunden mit axillarymphknotenmetastasenfreien malignen Mammatumoren zu Hunden mit malignen Mammatumoren, die Axillarymphknotenmetastasen/-mikrometastasen aufweisen, ist 29,6 % zu 70,4 %.

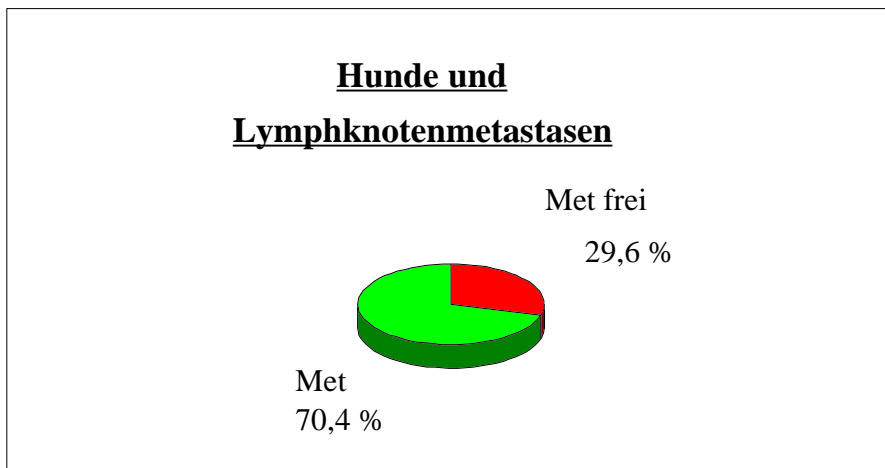
Tabelle 21 und Grafik 12 zeigen das Verhältnis Axillarymphknotenmetastasen / -mikrometastasen bezogen zur Gesamtzahl Hunde mit malignen Mammatumoren.

Tabelle 21:

Hunde	gesamt	metastasenfrei	AxLk Met	AxLk Mikromet	AxLk Met + Mikromet
Anzahl	27	8	8	7	4
%	100	29,65	29,65	25,9	14,8

metastasenfrei: mammatumormetastasenfrei; AxLk: Axillarymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n)

Grafik 12: Metastasierungsrate von Mammatumorzellen in die Axillarlymphknoten



Met frei: metastasierenfrei; Met: Axillarlymphknotenmetastasen und/oder -mikrometastasen

3.2.7.2. Beziehung zwischen Tumordiagnose und Knochenmetastasen

In der Verteilung der Knochenmetastasen zeigen drei von vier soliden Karzinomen (75 %), sowie drei von neun Adenokarzinomen (33 %) Metastasierung. Ein von neun Adenokarzinomen und ein von zwei anaplastischen Karzinomen, sowie ein solides Karzinom und der Kollisionstumor zeigen Mikrometastasenbildung im Knochen.

Lediglich bei zwei der neun Adenokarzinomen mit Myoepithelhyperplasie werden Knochenmetastasen nachgewiesen.

Die beiden komplexen Karzinome zeigen keine Metastasierung von Tumorzellen in den Knochen.

Tabelle 22 zeigt die Beziehung Hauptdiagnose Mammatumor zu Knochenmetastasen / Knochenmikrometastasen. Sind Knochenmetastasen und Knochenmikrometastasen im selben Knochen vorhanden, so wird die Diagnose „Knochenmetastasen“ gewertet.

Tabelle 22: Diagnose Mammatumor und Knochenmetastasen

Diagnose	gesamt	keine Knochen Met	%	Knochen Met	%	Knochen Mikromet	%
AdCa	9	5	56	3	33	1	11
AdCa+MEH	9	7	78	2	22	–	0
sol Ca	4	–	0	3	75	1	25
kompl Ca	2	2	100	–	0	–	0
anapl Ca	2	1	50	–	0	1	50
Koll Tu	1	–	0	–	0	1	100
Hd gesamt	27	15		8		4	

Met: Mammatumormetastasen; Mikromet: Mammatumormikrometastasen; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor; Hd: Hunde

In den Knochen von 15 der 27 Hunde mit malignen Mammatumoren können keine Metastasen nachgewiesen werden. Die Knochen von 12 der 27 Hunde mit malignen Mammatumoren zeigen Ausbildung von Metastasen bzw. Mikrometastasen.

Das Prozentverhältnis von Hunden mit malignen Mammatumoren, bei denen keine Knochenmetastasen vorliegen zu Hunden mit malignen Mammatumoren, die knochenmetastasen/-mikrometastasenbehaftet sind, beträgt 55,6 % zu 44,4 %.

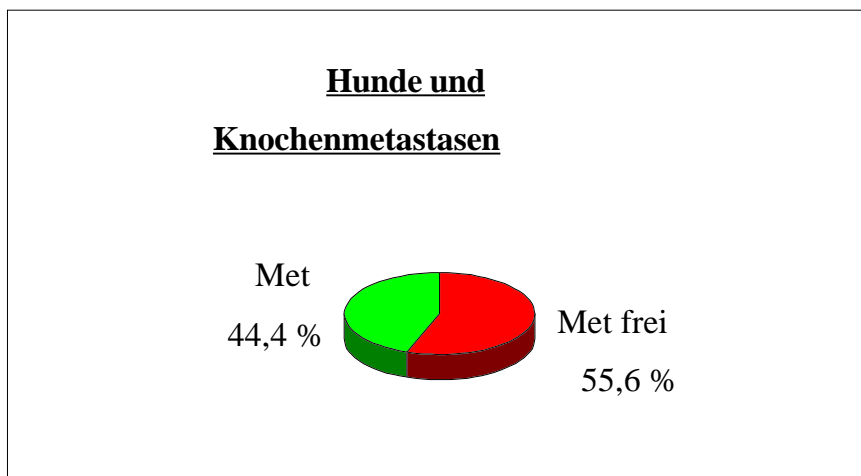
Tabelle 23 und Grafik 13 zeigen das Verhältnis Knochenmetastasen / Knochenmikrometastasen bezogen zur Gesamtzahl der Hunde mit malignen Mammatumoren.

Tabelle 23:

Hunde	gesamt	metastasenfrei	Knochen Met	Knochenmikro Met	Knochenmet+ Knochenmikromet
Anzahl	27	15	4	4	4
%	100	55,6	14,8	14,8	14,8

metastasenfrei: mammatumormetastasenfrei; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n)

Grafik 13: Metastasierungsrate von Mammatumorzellen in die Knochen



Met frei: metastasenfrei; Met: Knochenmetastasen und/oder -mikrometastasen

3.2.7.3. Beziehung zwischen Tumordiagnose und weiteren Metastasen

Zur Herstellung einer Beziehung von Tumordiagnose und weiteren Metastasen liegen die histologischen Routineschnitte aller 27 Hunde vor. So liegen von allen Hunden Schnitte von Lunge, Leber, Milz und Nieren vor. Es wird kein Anspruch auf Vollständigkeit erhoben, das heißt es werden nur die mit den routinemäßigen Proben nachgewiesenen Metastasen aufgeführt.

Alle soliden Karzinome, alle anaplastischen Karzinome und alle komplexen Karzinome zeigen eine Metastasierung von Mammatumorzellen in die Lunge. Bei vier von neun Adenokarzinomen lassen sich Lungenmetastasen nachweisen, während sich bei keinem der neun Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie eine Lungenmetastasierung feststellen läßt (Tabelle 24).

Tabelle 24: Hauptdiagnose Mammatumor und weitere Metastasen

Diagnose	Met Lu	Met Le	Met Ni	Met Mi	weitere
AdCa	4		1		
AdCa+MEH					Lk
sol Ca	4			1	Pe, Lk, Hi
kompl Ca	2	1			
anapl Ca	2				Lk
Koll Tu	V.a.				

Met: Metastase(n); Lu: Lunge; Le: Leber; Ni: Niere; Mi: Milz; Pe: Peritoneum; Hi: Hirn; Lk: weitere Lymphknoten; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor

Keine Lungenmetastasen werden bei 14 Hunden nachgewiesen. 13 Hunde (entspricht 48,2 %) haben Lungenmetastasen ausgebildet oder es besteht bei ihnen der Verdacht auf die Ausbildung von Lungenmetastasen.

Tabelle 25 zeigt das Verhältnis Lungenmetastasen bezogen auf die Gesamtzahl der Hunde mit malignen Mammatumoren:

Hunde	gesamt	metastasenfrei	Lungenmet / V.a.
Anzahl	27	14	13
%	100	51,8	48,2

metastasenfrei: Lungenmetastasenfrei; Lungenmet: Lungenmetastasen; V.a.: Verdacht auf

3.2.8. Lokalisation des Tumors und Metastasen

Bei der Herstellung einer Beziehung der Lokalisation des Tumors zu seinen Metastasen ergibt sich die Schwierigkeit, daß in 25 von 27 untersuchten Fällen innerhalb von einer oder beiden Gesäugeleisten multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität nebeneinander lokalisiert ist. Es besteht potentiell durchaus die Möglichkeit, daß ein Tumor minderer Malignität, der neben einem solcher höherer in ein und derselben Gesäugeleiste zu finden ist, gleichfalls für die Ausbildung von Metastasen in Frage kommt.

Deshalb wird jeweils in Tabelle 11 im Anhang (S. 115 f.) die Lokalisation des Tumors mit der höchsten Malignität (entspricht der Hauptdiagnose) mit eventueller Metastasierung in Beziehung gesetzt und in Tabelle 12 im Anhang (S. 116) die Lokalisation aller anderen in den einzelnen Gesäugeleisten nachgewiesenen maligner Tumoren mit eventueller Metastasierung in Beziehung gesetzt.

3.2.8.1. Lokalisation des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen

Um den möglichen Abfluß von Tumorzellen aus der Gesäugeleiste in die Axillarlymphknoten diskutieren zu können, werden Paare gebildet aus der Lokalisation eines malignen Mammatumors (unabhängig von seiner Dignität) und nachgewiesenen Axillarlymphknotenmetastasen/-mikrometastasen (siehe Kap. 3.1.4.6.1., S. 35 und Tabellen 11 und 12 im Anhang, S. 115 f.).

Tabelle 26: Jeweilige Anzahl der 20 Befundpaare, welche nach den Gesetzmäßigkeiten nach Kapitel 3.1.4.6.1. gebildet werden

Befundpaar	Nr.	Anzahl	Befundpaar	Nr.	Anzahl
liT1/Lkmet li	I	2	reT1/Lkmet li	XI	–
liT1/Lkmet re	II	–	reT1/Lkmet re	XII	1
liT2/Lkmet li	III	3	reT2/Lkmet li	XIII	1
liT2/Lkmet re	IV	–	reT2/Lkmet re	XIV	5
liA1/Lkmet li	V	–	reA1/Lkmet li	XV	–
liA1/Lkmet re	VI	–	reA1/Lkmet re	XVI	5
liA2/Lkmet li	VII	2	reA2/Lkmet li	XVII	–
liA2/Lkmet re	VIII	–	reA2/Lkmet re	XVIII	2
li I/Lkmet li	IX	2	re I/Lkmet li	XIX	–
li I/Lkmet re	X	–	re I/Lkmet re	XX	1

li: links; re: rechts; T1 erster tharakaler Komplex; T2: zweiter thorakaler Komplex; A1: erster abdominaler Komplex; A2: zweiter abdominaler Komplex; I: inguinaler Komplex; Lkmet: Axillarlymphknotenmetastasen/-mikrometastasen

Es kann aus Tabelle 26 ersehen werden, daß ein Mammatumor, der im zweiten abdominalen Mammarkomplex und im inguinalen Mammarkomplex lokalisiert ist, Metastasen in die Axillarlymphknoten setzen kann (Befundpaare Nr. VII, IX, XVIII, XX).

In einem Fall (Befundpaar Nr. XIII) lassen sich bei Lokalisation von Mammatumoren in der rechten Gesäugeleiste Axillarlymphknotenmetastasen links nachweisen. Es handelt sich hierbei um einen ausgedehnten, von der rechten in die linke Gesäugehälfte einwachsenden, tumorösen Prozeß.

Ansonsten entspricht der Abfluß von Tumorzellen aus den Gesäugekomplexen den physiologischen Gegebenheiten (Befundpaare Nr. I, III, XII, XIV und XVI).

3.2.9. Größe des Tumors und Metastasen

Um eine Beziehung zwischen Tumorgröße und Metastasierung herstellen zu können, wird der größte Durchmesser und das Volumen (in cm³) des Tumors mit der höchsten Malignität (entspricht der Hauptdiagnose) mit eventuell vorhandenen Metastasen verglichen. Bei multiplen, beide Gesäugeleisten betreffenden Tumorwachstum, wird auch der größte Tumor der kontralateralen Leiste mitberücksichtigt (vergl. Kap. 3.1.4.6.2., S. 36).

3.2.9.1. Größe des Tumors und Axillarlymphknotenmetastasen

Wird eine Beziehung von Tumorgröße und Axillarlymphknotenmetastasen und -mikrometastasen hergestellt, so fällt auf, daß bei einem Tumordurchmesser von über 10 cm und/oder einem Tumolvolumen von über 100 cm³ ausnahmslos Axillarlymphknotenmetastasen und -mikrometastasen vorhanden sind.

In 7 Fällen beträgt die Tumorgöße im größten Durchmesser über 10 cm und/oder das Tumolvolumen über 100 cm³ (Gruppe VI), wobei in 4 Fällen Axillarlymphknotenmetastasen und in 3 Fällen Axillarlymphknotenmikrometastasen nachgewiesen werden.

Interessanterweise werden bei einem Teil der Tiere keine Lymphknotenmetastasen nachgewiesen, in denen die Tumorgöße unter 5 cm und/oder das Tumolvolumen kleiner als 10 cm³ sind (Gruppen I und II). Hierbei finden sich in Gruppe I (größter Durchmesser des Tumors unter 3 cm und/oder Tumolvolumen kleiner als 5 cm³) mit insgesamt 9 Fällen lediglich zweimal Lymphknotenmikrometastasen.

Ist der Tumor kleiner als 5 cm und/oder das Tumolvolumen kleiner als 10 cm³ (Gruppe II), so werden in den drei Fällen, die in diese Gruppe eingegliedert werden, schon zweimal Axillarlymphknotenmetastasen gefunden. Der kleinste Tumor mit Axillarlymphknotenmikrometastasen mißt im größten Durchmesser 1,5 cm.

Sind in der Gesäugeleiste der Hündin Tumoren extirpiert worden bzw. wurden gesamte Gesäugeleisten entfernt (Gruppen VII und VIII), so werden in den Axillarlymphknoten dieser Tiere ausnahmslos Metastasen nachgewiesen (vergl. Tabelle 13 im Anhang, S. 117).

Tabelle 27: Beziehung zwischen Tumorgößengruppe und Axillarlymphknotenmetastasen (vergl. Kap. 3.1.4.6.2., S. 36: Gruppeneinteilung Tumorgöße, sowie Tabelle 13 im Anhang, S. 117)

Gruppe	gesamt	metfrei	AxLk Met/Mikromet
I	9	7	2
II	3	1	2
III	1	–	1
IV	–	–	–
V	3	–	3
VI	7	–	7
VII	1	–	1
VIII	3	–	3
Hunde gesamt	27	8	19

metfrei: keine Axillarlymphknotenmetastasen; AxLk: Axillarlymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n)

3.2.10. Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Metastasen

Um eine Beziehung zwischen multiplem und solitärem Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Metastasierung herstellen zu können, werden die Tumoren wiederum in Gruppen eingeteilt (vergl. Kap. 3.1.4.6.3., S. 36).

3.2.10.1. Multiples und solitäres Auftreten des Tumors in der Mammarleiste und Axillarlymphknotenmetastasen

Werden solitäres Auftreten und Multiplizität des Tumors in der Gesäugeleiste mit vorhandenen Lymphknotenmetastasen verglichen, so fällt auf, daß in den Fällen, in denen plattenartiges Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe gefunden wird (Gruppe II) und daß in den Fällen, in denen multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in beiden Gesäugeleisten vorkommt (Gruppe VI), ausnahmslos Axillarlymphknotenmetastasen und -mikrometastasen festzustellen sind.

In den Fällen, in denen multiples Tumorwachstum gleicher Dignität in beiden Gesäugeleisten zu finden ist (Gruppe V), werden in 50 % der Fälle Lymphknotenmetastasen nachgewiesen.

Zeigt sich multiples Tumorwachstum innerhalb einer Gesäugeleiste (Gruppen III und IV), so wird lediglich in einem von fünf Fällen ein metastasenpositiver Axillarlymphknoten festgestellt.

In nur einem Fall findet sich solitäres Auftreten des Tumors in der Gesäugeleiste. Die Axillarlymphknoten dieses Tieres sind metastasennegativ.

Tabelle 28: Gruppeneinteilung der Tumoren (vergl. Kap. 3.1.4.6.3., S. 36) und Axillarlymphknotenmetastasen

Gruppe	gesamt	metfrei	AxLk Met/Mikromet
I	1	1	–
II	2	–	2
III	3	2	1
IV	2	2	–
V	6	3	3
VI	9	–	9
VII	1	–	1
VIII	3	–	3
Hunde gesamt	27	8	19

metfrei: keine Axillarlymphknotenmetastasen; AxLk: Axillarlymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n)

3.2.11. Lokalisation, Größe, multiples und solitäres Auftreten des Tumors sowie Knochenmetastasen

Tabelle 14 im Anhang (S. 118) stellt Lokalisation, Größe und multiples und solitäres Tumorwachstum bei den Hunden vor, bei denen Knochenmetastasen nachgewiesen werden.

Wird davon ausgegangen, daß ein kraniales venöses Abflußgebiet für die Mammarkomplexe T1, T2 und A1 und ein kaudales venöses Abflußgebiet für die Mammarkomplexe A1, A2 und I vorhanden ist, läßt sich feststellen, daß bei einem Metastasennachweis im Humerusknochen in 29 von 49 Fällen (entspricht 59 %) ein maligner Mammatumor im kranialen venösen Abflußgebiet der Gesäugeleiste lokalisiert ist.

Werden Metastasen im Femur nachgewiesen, so liegt ein maligner Mammatumor in 19 von 23 Fällen (entspricht 83 %) im kaudalen venösen Abflußgebiet der Gesäugeleiste.

In 30 von insgesamt 40 Fällen (entspricht 75 %) ist ein maligner Mammatumor im kaudalen venösen Abflußgebiet lokalisiert, wenn Beckenknochenmetastasen nachgewiesen werden und in sogar 14 von insgesamt 15 Fällen (entspricht 93 %), wenn Lendenwirbelknochenmetastasen nachgewiesen werden (Tabelle 29).

Tabelle 29: Lokalisation der malignen Tumoren in der Mammarleiste und Benennung der Knochen, welche von Mammatumormetastasen betroffen sind

	liT1	liT2	liA1	liA2	li I	reT1	reT2	reA1	reA2	re I
li Hu	2	3	2	1	2	–	2	3	4	3
re Hu	2	3	4	1	1	–	4	4	4	4
li Fe	1	2	2	2	2	–	1	3	3	3
re Fe	–	–	–	–	1	–	–	1	1	1
li Be	–	1	1	2	2	–	1	1	2	2
re Be	1	4	3	2	3	–	3	3	4	5
L7	–	–	1	2	3	–	1	2	3	3
Ste	–	–	–	–	1	–	1	–	–	1

li: links, linker/s; re: rechts, rechter/s; T1: erster thorakaler Komplex; T2: zweiter thorakaler Komplex; A1: erster abdominaler Komplex; A2: zweiter abdominaler Komplex; I: inguinaler Komplex; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum

Beträgt der Tumordurchmesser mehr als 10 cm und/oder das Tumolvolumen mehr als 100 cm³, so lassen sich in 4 von insgesamt 7 Fällen Knochenmetastasen nachweisen (Gruppe VI, die einzelnen Gruppen finden sich in Tabelle 30).

In den insgesamt 16 Fällen, in denen der Tumordurchmesser kleiner als 10 cm und/oder das Tumolvolumen unter 100 cm³ liegt, werden fünfmal Knochenmetastasen nachgewiesen (Gruppen I, II, III, IV, V).

Ist der Tumor kleiner als 3 cm und/oder liegt sein Volumen unter 5 cm³, so werden in nur 3 von insgesamt 13 Fällen Knochenmetastasen gefunden (Gruppen I, II, III). Der kleinste Mammatumor mit Knochenmetastasen mißt im größten Durchmesser 2,5 cm.

Die Knochen der Hunde, bei denen mindestens eine Gesäugeleiste entfernt wurde, sind ausnahmslos mit Metastasen behaftet (Gruppe VIII) (vergl. Kap. 3.1.4.6.2., S. 36).

Findet sich multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in beiden Gesäugeleisten, so lassen sich von insgesamt 9 Fällen fünfmal Knochenmetastasen nachweisen (Gruppe VI), während sich bei multiplen Tumorwachstum gleicher Dignität in beiden Gesäugeleisten in 3 von insgesamt 6 Fällen Knochenmetastasen finden lassen (Gruppe V).

In einem von zwei Fällen mit plattenartigem Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe werden Knochenmetastasen nachgewiesen (Gruppe II) (vergl. Kap. 3.1.4.6.3., S. 36).

Tabelle 30 gibt Auskunft darüber, bei wievielen Gruppen des Parameters „Tumorgroße“ und bei wievielen Gruppen des Parameters „solitäres / multiples Tumorwachstum“ Knochenmetastasen nachgewiesen werden können. Den Gruppeneinteilungen der Tumoren liegen die Kapitel 3.1.4.6.2. und 3.1.4.6.3. zugrunde.

Tabelle 30:

Tu Größe Gruppe*	gesamt	metfrei	Knochen Met	sol/mul Gruppe*	gesamt	metfrei	Knochen Met
I	9	8	1	I	1	1	–
II	3	1	2	II	2	1	1
III	1	1	–	III	3	3	–
IV	–	–	–	IV	2	2	–
V	3	1	2	V	6	3	3
VI	7	3	4	VI	9	4	5
VII	1	1	–	VII	1	1	–
VIII	3	–	3	VIII	3	–	3
Hd ges	27	15	12	Hd ges	27	15	12

Tu: Tumor; metfrei: keine Knochenmetastasen; Met: Metastasen; sol: solitär; mul: multipel; Hd: Hunde; ges: gesamt

*=vergl. Kap. 3.1.4.6.2. und Kap. 3.1.4.6.3. (S. 36)

3.2.12. Lokalisation, Größe, multiples und solitäres Auftreten des Tumors sowie weitere Metastasen

Ist der Tumor mit der höchsten Malignität unter anderen im ersten thorakalen Mammarkomplex lokalisiert, so lassen sich ausnahmslos Lungenmetastasen feststellen. In 24 Fällen ist der inguinale Mammarkomplex unter anderen mit dem Tumor mit der höchsten Malignität betroffen. In dieser Konstellation finden sich neunmal Lungenmetastasen und fünfzehnmal keine Lungenmetastasen (Tabelle 31).

Tabelle 31: Lokalisation des Tumors mit der höchsten Malignität (Hauptdiagnose) und weitere Metastasen (Lungenmetastasen)

Lokalisation Tumor	gesamt	Lungenmetastasen	V.a. Lungenmetastasen	keine Lungenmetastasen
T1	3	3	–	–
T2	13	4	–	9
A1	18	6	1	11
A2	15	6	1	8
I	24	9	–	15

V.a.: Verdacht auf; T1: erster thorakaler Mammarkomplex; T2: zweiter thorakaler Mammarkomplex; A1: erster abdominaler Mammarkomplex; A2: zweiter abdominaler Mammarkomplex; I: inguinaler Mammarkomplex

Beträgt der Tumordurchmesser mehr als 10 cm und/oder übersteigt das Tumolvolumen 100 cm³, so lassen sich in 6 von insgesamt 7 Fällen Lungenmetastasen nachweisen (Gruppe VI, die einzelnen Gruppen finden sich in Tabelle 32).

Bei einem Tumordurchmesser von mehr als 5 cm aber weniger als 10 cm werden ausnahmslos Lungenmetastasen nachgewiesen (Gruppe V).

Liegt die Größe des Tumors unter 5 cm und/oder beträgt das Tumolvolumen weniger als 10 cm³, so lassen sich keine Lungenmetastasen nachweisen (Gruppen I und II) (vergl. Kap. 3.1.4.6.2., S. 36).

In den Lungen von sechs der insgesamt neun Fälle, in denen multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in beiden Gesäugeleisten gefunden wird, lassen sich Mammatumormetastasen nachweisen (Gruppe VI).

Bei plattenartigem Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe innerhalb einer Gesäugeleiste finden sich in 50 % Lungenmetastasen (Gruppe II) (vergl. Kap. 3.1.4.6.3., S. 36).

Tabelle 32: Tumorgruppeneinteilung und Lungenmetastasen (den Gruppeneinteilungen der Tumoren liegen die Kapitel 3.1.4.6.2. und 3.1.4.6.3. zugrunde)

Tu Größe Gruppe	gesamt	metfrei	Lungen Met	sol/mul Gruppe	gesamt	metfrei	Lungen Met
I	9	9	–	I	1	1	–
II	3	3	–	II	2	1	1
III	1	–	1	III	3	2	1
IV	–	–	–	IV	2	2	–
V	3	–	3	V	6	4	2
VI	7	1	6	VI	9	3	6
VII	1	1	–	VII	1	1	–
VIII	3	–	3	VIII	3	–	3
Hd ges	27	14	13	Hd ges	27	14	13

Tu: Tumor; metfrei: keine Lungenmetastasen; Met: Metastasen; sol: solitär; mul: multipel; Hd: Hunde; ges: gesamt

3.2.13. Beziehung zwischen histologischen Befunden des Tumors und Metastasen

Die histologischen Parameter, welche den Mammatumor charakterisieren, werden mit eventuell ausgebildeten Metastasen in Beziehung gesetzt. Es wird jeweils der Tumor mit der höchsten Malignität (entspricht der Hauptdiagnose) herangezogen.

3.2.13.1. Mitoserate der Tumorzellen und Metastasen

Wird die Mitoserate der Tumorzellen betrachtet, so fällt auf, daß bei Hunden, die metastasenfrei sind, ausnahmslos nur geringgradig Mitosebilder zu sehen sind. Im Gegensatz dazu läßt sich in einem Fall eine ausgeprägte Mitosenanzahl und in vier weiteren Fällen eine mäßig große Mitosenanzahl in den Tumoren der Hunde mit Axillarlymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen aufzeigen.

Insgesamt ist in 16 von 27 zur Beurteilung der Mitoserate der Tumorzellen herangezogenen Tumoren eine geringe Anzahl von Mitosen nachweisbar (Tabelle 33).

Tabelle 33: Mitoserate

Hund	Mitoserate der Tumorzellen	keine	gering	mäßig	ausgeprägt
metastasenfrei			7		
nur AxLk Met		2		1	
nur Knochenmet			1		
nur Lungenmet					
AxLk Met+Knochenmet		1	1	1	
AxLk Met+Lungenmet		1	4		
Knochen-+Lungenmet					
AxLk-+Knochen-+Lungenmet			3	4	1
	gesamt	4	16	6	1

AxLk Met: Axillarymphknotenmetastasen; Knochenmet: Knochenmetastasen; Lungenmet: Lungenmetastasen

3.2.13.2. Tumorzellbild und Tumorzellkernbild und Metastasen

Das Zellbild der Mammatumoren der metastasenfreien Hunde besteht hauptsächlich aus kleinen Zellen, in einem Fall werden zusätzlich Tumorriesenzellen gefunden. Die Mammatumoren, die Axillarymphknotenmetastasen und Lungenmetastasen aufweisen, zeigen in ihrem Zellbild in einem Fall Tumorriesenzellen, die Tumoren, welche zusätzlich noch Knochenmetastasen aufweisen, in zwei Fällen Tumorriesenzellen.

Als einheitlich wird das Zellbild in vier Tumoren der metastasenfreien Hunde bezeichnet, demgegenüber ist das Zellbild bei Hunden mit Metastasen in nur drei Fällen einheitlich.

Auffällig polymorph zeigt sich das Zellbild der Mammatumoren bei Hunden mit Axillarymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen.

Werden alle Zellbilder der Tumoren des gesamten Kollektives miteinander verglichen, so ergibt sich, daß in sieben Fällen ein eher einheitliches Tumorzellbild vorliegt und in zwanzig Fällen ein eher polymorphes Bild zu finden ist (Tabelle 34).

Tabelle 34: Tumorzellbild

Hund	Tumorzellbild	kleine Zellen	mittelgroße Zellen	große Zellen	Tumorriesenzellen	Zellbild einheitlich	Zellbild polymorph
metastasenfrei		3	1		1	4	3
nur AxLk Met							3
nur Knochenmet							1
nur Lungenmet							
AxLk-+Knmet			1			1	2
AxLk-+Lumet			1	2	1	1	4
Kn-+Lumet							
AxLk-+Kn-+Lumet			1		2	1	7

AxLk Met: Axillarymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

Die Kerne der Tumorzellen werden in einem Fall als klein, in sechs Fällen als mittelgroß und in zwanzig Fällen als groß angetroffen. Die Zellkerne der metastasenfrenen Hundegruppe sind in fünf von insgesamt sieben Fällen groß, während die Kerne der Hundegruppe mit Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen in sechs von acht Fällen als groß bezeichnet werden.

Eine Euchromasie findet sich insgesamt in 23 Fällen, eine Heterochromasie in vier Fällen. Wird eine Heterochromasie in den Zellkernen von Tumorzellen angetroffen, so werden ausnahmslos Mammatumormetastasen nachgewiesen. Allerdings weisen die restlichen 16 Fälle mit Mammatumormetastasen eine Zellkerneuchromasie auf.

Eine Verschiebung der Kern-Plasma Relation zugunsten des Kerns weisen die Tumorzellen von 14 Hunden auf. Fünffmal lassen sich in dieser Gruppe keine Mammatumormetastasen nachweisen, während neunmal Metastasen gefunden werden (Tabelle 35).

Tabelle 35: Tumorzellkernbild

Hund	Zellkerne	kl	migr	gr	eu-chrom	hetero-chrom	zug Kern	zug Plasma
metastasenfren		1	1	5	7		5	2
nur AxLk Met			1	2	3		1	2
nur Knmet				1	1			1
nur Lumet								
AxLk-+Knmet			1	2	3		1	2
AxLk-+Lumet			1	4	3	2	3	2
Kn-+Lumet								
AxLk-+Kn-+Lumet			2	6	6	2	4	4
	gesamt	1	6	20	23	4	14	13

kl: klein; migr: mittelgroß; gr: groß; euchrom: euchromatisch; heterochrom: Heterochromatisch; zug Kern: Verschiebung der Kern/Plasma Relation zugunsten des Kerns; zug Plasma: Verschiebung der Kern/Plasma Relation zugunsten des Plasmas; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

22 von insgesamt 27 beurteilten Tumoren tragen in ihren Zellkernen mehrere Nucleoli. Davon haben 17 Tumoren Metastasen ausgebildet. In der Gruppe mit Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen werden achtmal Zellkerne mit mehreren Nucleoli angetroffen. Dreimal sind dabei die Nucleoli deutlich bzw. vergrößert (Tabelle 36).

Tabelle 36: Nucleoli

Hund	Nucleoli	einer	mehrere	deutlich/ vergrößert
metastasenfren		2	5	1
nur AxLk Met		2	1	
nur Knochenmet			1	
nur Lungenmet				
AxLk Met+Knmet			4	1
AxLkMet+Lumet		1	3	1
Knmet+Lumet				
AxLk-+Kn-+Lumet			8	3
	gesamt	5	22	6

AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

3.2.13.3. Stromaausbildung und Metastasen

Die sieben Fälle, bei denen eine ausgeprägte Stromaausbildung im Tumor angetroffen wird, weisen sechsmal Metastasen auf. Hiervon können allein in drei Fällen sowohl Lymphknoten-, als auch Knochen- und Lungenmetastasen beobachtet werden. Der überwiegende Anteil der Tumoren zeigt eine mäßige Stromaausbildung. In dieser Gruppe haben 10 von 15 Tumoren metastasiert.

Der Mammatumor, in dem kein Tumorstroma auffindbar ist, hat in Lymphknoten, Knochen und Lunge metastasiert. Es handelt sich um das Rezidiv eines soliden Karzinoms (Tabelle 37).

Tabelle 37: Stromaausbildung

Hund	Stromaausbildg im Tumor	keine	wenig	mäßig	ausgeprägt
metastasenfrei			1	5	1
nur AxLk Met			1	1	1
nur Knochenmet				1	
nur Lungenmet					
AxLk Met+Knochenmet			2	1	
AxLk Met+Lungenmet				3	2
Knochen-+Lungenmet					
AxLk-+Knochen-+Lungenmet		1		4	3
	gesamt	1	4	15	7

Stromaausbildg: Stromaausbildung; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knochenmet: Knochenmetastasen; Lungenmet: Lungenmetastasen

Wird das Tumorstroma auf seine Gefäßdurchsetzung betrachtet, so zeigt sich, daß in 16 von 27 Fällen eine große Anzahl von Gefäßen vorkommt. Im Rezidiv des soliden Karzinoms lassen sich aufgrund fehlendem Tumorstromas keine Gefäße nachweisen.

Es fällt auf, daß in vier von sieben metastasenfreien Hunden das Tumorstroma nur eine geringe Gefäßanzahl aufweist, während 13 von 20 metastasenbehafteten Hunden eine große Anzahl an Tumorgefäßen aufweist, wobei interessanterweise die Lymphknotenmetastasen-, Knochenmetastasen- und Lungenmetastasengruppe ausnahmslos eine große, regelmäßige Gefäßdurchsetzung des Tumorstromas zeigt (Tabelle 38).

Tabelle 38: Gefäßdurchsetzung des Tumorstromas

Hund	Gefäß durchsetzung	•	wenig	viel		regelmäßig	unregelmäßig
metastasenfrei			4	3		4	3
nur AxLk Met			2	1		1	2
nur Knochenmet				1		1	
nur Lungenmet							
AxLk Met+Knochenmet			1	2		2	1
AxLk Met+Lungenmet			3	2		2	3
Knochenmet+Lungenmet							
AxLk-+Knochen-+Lungenmet		1		7		7	
	gesamt	1	10	16		17	9

AxLk: Axillarlymphknotenmetastasen; Knochenmet: Knochenmetastasen; Lungenmet: Lungenmetastasen; •=keine Gefäßdurchsetzung des Tumorstromas (Rezidiv)

3.2.13.4. Tumorkapsel und Metastasen

Der Mammatumor des Hundes, an dem sich nur Knochenmetastasen nachweisen lassen, weist neben dem Rezidiv des soliden Karzinoms eine intakte Tumorkapsel auf.

In allen anderen Fällen ist die Kapsel entweder infiltriert, durchbrochen oder nicht vorhanden. Allein viermal lassen sich in der metastasenfrenen Hundegruppe durchbrochene Tumorkapseln nachweisen.

Die Tumoren der Hunde mit Axillarymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen besitzen in der überwiegenden Anzahl keine Kapsel, in zwei Fällen ist die Kapsel von Tumorzellen durchbrochen.

Auch die Tumorkapseln der Hundegruppe, welche Lymphknoten- und Lungenmetastasen aufweist, sind in zwei Fällen durchbrochen und in drei Fällen nicht vorhanden (Tabelle 39).

Tabelle 39: Tumorkapsel

Hund	Tumor kapsel	vorhanden/ unversehrt	vorhanden/ infiltriert*	vorhanden/ durchbrochen	nicht vorhanden
metastasenfren			3	4	
nur AxLk Met			2	1	
nur Knochenmet		1			
nur Lungenmet					
AxLk Met+Knochenmet			2	1	
AxLk Met+Lungenmet				2	3
Knochen-+Lungenmet					
AxLk-+Knochen-+Lungenmet		1*2		2	5
	gesamt	2	7	10	8

AxLk Met: Axillarymphknotenmetastasen; Knochenmet: Knochenmetastasen; Lungenmet: Lungenmetastasen

*=Kapsel von Tumorzellen infiltriert und weitgehend durchgängig

*2=Rezidive eines soliden Karzinoms

3.1.13.5. Wachstumsart des Tumors und Metastasen

Wird solides Wachstum der Tumorzellen festgestellt, so geht dieses mit einer deutlich überwiegenden Metastasierungsrate einher. Allein siebenmal wird in der Hundegruppe mit Axillarymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen neben anderen Wachstumsarten solides Zellwachstum beobachtet.

Alle Tumoren, in denen anaplastisches Wachstum der Tumorzellen gefunden wird, haben metastasiert.

Auffällig ist auch die hohe Anzahl an rein alveolärem Tumorzellwachstum einhergehend mit einer Metastasierung. Die Tumoren, die andererseits alveolär-zystisches Zellwachstum neben weiteren Wachstumsarten aufweisen, scheinen weniger häufig metastasiert zu haben. Viermal wachsen die Tumorzellen in der metastasenfrenen Hundegruppe unter anderem alveolär-zystisch, während in nur drei Fällen bei alveolär-zystischer Wachstumsbeteiligung der Zellen Metastasen nachzuweisen sind (Tabelle 40).

Tabelle 40: Wachstumsart der Tumorzellen

Hund	Wachstum*	alveolär	tubulär	papillär	alveolär zystisch	papillär zystisch	solide	anapl
metastasenfrei		3	2	2	4		3	
nur AxLk Met		2	2	1		1	2	
nur Knochenmet			1					
nur Lungenmet								
AxLk-+Knochenmet		1	1	1	2		2	
AxLk-+Lungenmet		5	3		1			1
Knochen-+Lungenmet								
AxLk-+Kn-+Lu met		4	4				7	2

anapl: anaplastisch; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Kn: Knochen; Lu: Lungen; met: -metastasen

*=Wachstum der Tumorzellen, pro Tumor können mehrere Wachstumsarten der Zellen nebeneinander vorkommen

Invasives Wachstum von Tumorzellen in die Umgebung wird in insgesamt 20 Fällen beschrieben, dreimal besteht der Verdacht auf ein invasives Zellwachstum und viermal wird kein invasives Tumorzellwachstum beobachtet, wobei es sich hierbei einmal um einen metastasenfreien Hund, einmal um einen Hund mit Knochenmetastasen, einmal um einen Fall mit Lymphknoten- und Knochenmetastasen und einmal um einen Fall mit Rezidivausbildung eines soliden Karzinoms handelt. In der überwiegenden Mehrheit der Fälle zeigen die Tumorzellen invasives und teilweise sogar ausgeprägt invasives Wachstum, was in 16 Fällen tatsächlich mit einer Metastasierung einhergeht. Auch in der Gruppe der metastasenfreien Hunde zeigen die Tumorzellen viermal invasives Wachstum (Tabelle 41).

Tabelle 41: Invasives Wachstum der Tumorzellen in die Umgebung

Hund	Invasives Wachstum	nicht vorhanden	V.a.	vorhanden	ausgeprägt vorhanden
metastasenfrei		1	2	4	
nur AxLk Met			1	2	
nur Knochenmet		1			
nur Lungenmet					
AxLk Met+Knochenmet		1		2	
AxLk Met+Lungenmet				4	1
Knochenmet+Lungenmet					
AxLk-+Knochen-+Lungenmet		1*		3	4
	gesamt	4	3	15	5

V.a.: Verdacht auf; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knochenmet: Knochenmetastasen; Lungenmet: Lungenmetastasen

*=Rezidive eines soliden Karzinoms

3.2.13.6. Entzündungsreaktion und Metastasen

In 13 Fällen ist die Entzündungsreaktion im Tumor oder in der Tumorumgebung als gering einzustufen, achtmal ist die Reaktion mäßig stark und viermal ausgeprägt vorhanden. In zwei Fällen, die in die Gruppe der metastasenfrenen Hunde fallen, findet sich keine Entzündungsreaktion.

Läßt sich eine ausgeprägte Entzündungsreaktion im oder am Tumor nachweisen, so hat dieser ausnahmslos metastasiert. Von den zwanzig Tumoren, welche Metastasen ausgebildet haben, weisen neun eine geringe, sieben eine mäßig starke und vier eine ausgeprägte Entzündungsreaktion auf (Tabelle 42).

Tabelle 42: Entzündungsreaktion

Hund	Entzündungsreaktion	keine	gering	mäßig	ausgeprägt	im Tumor	i.d. Tumorumgebung
metastasenfren		2	4	1		5	
nur AxLk Met			3			3	
nur Knochenmet			1			1	
nur Lungenmet							
AxLk-+Knochenmet				1	2	2	1
AxLk-+Lungenmet			2	2	1	5	
Knochen-+Lungenmet							
AxLk-+Kn-+Lumet			3	4	1	5	3
	gesamt	2	13	8	4	21	4

i.d.: in der; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

3.2.13.7. Nekrosenbildung und Metastasen

Wird die Nekrosenbildung im Tumor beurteilt, so werden in oder an sieben Tumoren keine Nekrosen, in oder an sechs Tumoren eine geringe Nekrosenbildung, in oder an vier Tumoren eine mäßig starke und in oder an zehn Tumoren eine ausgeprägte Nekrosenbildung festgestellt.

In 9 von den 10 Tumorfällen mit ausgeprägten Nekrosen lassen sich Metastasen nachweisen, wobei allein vier Fälle sowohl Lymphknoten-, als auch Knochen- und Lungenmetastasen aufweisen.

In einem von sieben metastasenfrenen Hunden bildet der Tumor ausgeprägte Nekrosen (Tabelle 43).

Tabelle 43: Nekrosen

Hund	Nekrosen	keine	gering	mäßig	ausgeprägt	im Tumor	i.d. Tumor- umgebung
metastasenfrei		2	4		1	5	
nur AxLk Met		2			1	1	
nur Knochenmet		1					
nur Lungenmet							
AxLk-+Knochenmet		1		1	1	2	
AxLk-+Lungenmet			1	1	3	5	
Knochen-+Lungenmet							
AxLk-+Kn-+Lumet		1	1	2	4	7	
	gesamt	7	6	4	10	20	0

i.d.: in der; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

3.2.13.8. Blutungen und Metastasen

Blutungen werden viermal nicht, neunmal gering, fünfmal mäßig stark und neunmal ausgeprägt im Tumor oder in der Tumorumgebung gefunden. Ausgeprägte Blutungen finden sich in zwei Fällen bei metastasenfremen Hunden, und in sieben Fällen bei Hunden mit metastasierten Mammatumoren. Nur zweimal lassen sich keine Blutungen bei gleichzeitiger Metastasenausbildung erkennen.

In der Hundegruppe mit Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen finden sich in allen Tumoren - zweimal geringe, viermal mäßig starke und zweimal ausgeprägte Blutungen (Tabelle 44).

Tabelle 44: Blutungen

Hund	Blutungen	keine	gering	mäßig	ausgeprägt	im Tumor*	i.d. Tumor- umgebung*
metastasenfrei		2	3		2	5	1
nur AxLk Met		1	2			2	
nur Knochenmet		1					
nur Lungenmet							
AxLk-+Knochenmet				1	2	3	1
AxLk-+Lungenmet			2		3	5	1
Knochen-+Lungenmet							
AxLk-+Kn-+Lumet			2	4	2	8	
	gesamt	4	9	5	9	23	3

i.d. in der; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

*=Blutungen können im selben Tumor sowohl im Tumor als auch in der Tumorumgebung vorkommen

3.2.13.9. Gefäßeinbrüche im Tumor und in der Tumorumgebung sowie Metastasen

Werden Gefäßeinbrüche im Tumor oder in der Tumorumgebung beurteilt, so sind sie in sechs von sieben Fällen der metastasenfremen Hundegruppe nicht sichtbar. Hat der Hund jedoch Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen ausgebildet, so werden Gefäßeinbrüche in zwei Fällen mäßig stark und in fünf Fällen ausgeprägt angetroffen, wobei sie sowohl im Tumor als auch zusätzlich in der Tumorumgebung aufzufinden sind.

Insgesamt lassen sich elfmal Gefäßeinbrüche im Kollektiv der mit Metastasen betroffenen Hunde feststellen (Tabelle 45).

Tabelle 45: Gefäßeinbrüche

Hund	Gefäß- einbrüche*	nicht sichtbar	gering	mäßig	ausgeprägt	im Tumor* ²	i.d. Tumor- umgebung* ²
metastasenfrem		6	1			1	
nur AxLk Met		3					
nur Knochenmet		1					
nur Lungenmet							
AxLk-+Knochenmet		2	1			1	
AxLk-+Lungenmet		2		2	1	2	2
Knochen-+Lungenmet							
AxLk-+Kn-+Lumet		1		2	5	7	5
	gesamt	15	2	4	6	11	7

i.d. in der; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

*=Gefäßeinbrüche von Tumorzellen in Gefäße des Tumors und in Gefäße der Tumorumgebung

*²=Gefäßeinbrüche können im selben Tumor sowohl im Tumor als auch in der Tumorumgebung vorkommen

3.2.13.10. Lymphangiosis und Hämangiosis carcinomatosa und Metastasen

Lediglich im Tumor eines metastasenfremen Hundes ist eine Lymphangiosis carcinomatosa feststellbar, während in den Tumoren der mit Axillarlymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen behafteten Hunde in unterschiedlich starker Ausprägung siebenmal eine Lymphangiosis carcinomatosa und zweimal eine Hämangiosis carcinomatosa feststellbar ist.

Insgesamt weisen alle Tumoren, die metastasiert haben, elfmal eine Lymph- und fünfmal eine Hämangiosis carcinomatosa in unterschiedlich starker Ausprägung auf (Tabelle 46).

Tabelle 46: Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa

Hund	Lymphang carc	nicht sichtb	vorh	ausgepr vorh	Hämang carc	nicht sichtb	vorh	ausgepr vorh
metastasenfrei		6	1			7		
nur AxLk Met		3				3		
nur Knochenmet		1				1		
nut Lungenmet								
AxLk Met+Knmet		2	1			2	1	
AxLk Met+Lumet		2	2	1		3	2	
Knmet+Lumet								
AxLk-+Kn-+Lumet		1	2	5		6	1	1
	gesamt	15	6	6		22	4	1

Lymphang carc: Lymphangiosis carcinomatosa; sichtb: sichtbar; vorh: vorhanden; ausgepr: ausgeprägt; Hämang carc: Hämangiosis carcinomatosa; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

3.2.14. Metastasierungsraten

Bei 7 von 27 Hunden (25,95 %) konnten keine Metastasen nachgewiesen werden.

Es weisen 19 von 27 Hunden (70,4 %) Axillarlymphknotenmetastasen auf, 12 von 27 Hunden (44,4 %) weisen Knochenmetastasen und 13 von 27 Hunden (48,1 %) Lungenmetastasen auf.

3.2.14.1. Axillarlymphknotenmetastasen und Fernmetastasen

Metastasenfrei sind sieben Hunde, was einer Prozentzahl von 25,95 % entspricht.

Von Mammatumormetastasen betroffen sind 20 Hunde, was einer Prozentzahl von 74,05 % entspricht. Nur Axillarlymphknotenmetastasen haben drei Hunde (entspricht 11,1 %), nur Knochenmetastasen lassen sich bei einem Hund (entspricht 3,7 %) nachweisen, Axillarlymphknoten und Knochenmetastasen haben drei Hunde (entspricht 11,1 %), Axillarlymphknoten und Lungenmetastasen haben fünf Hunde (entspricht 18,5 %) und Axillarlymphknotenmetastasen, Knochenmetastasen sowie Lungenmetastasen haben acht Hunde (entspricht 29,65 %) (Tabelle 47).

Tabelle 47: Übersicht über alle gefundenen Metastasen . Die Fernmetastasen sind Knochenmetastasen und Lungenmetastasen.

Hund	Anzahl	%
metastasenfrei	7	25,95
nur Axillarlymphknotenmetastasen	3	11,1
nur Knochenmetastasen	1	3,7
nur Lungenmetastasen	0	0
AxLk Met und Knochenmetastasen	3	11,1
AxLk Met und Lungenmetastasen	5	18,5
Knochen- und Lungenmetastasen	0	0
AxLk-, Knochen- und Lungenmetastasen	8	29,65
gesamt	27	100

AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen

Vier von neun Adenokarzinomen mit Myoepithelhyperplasie und drei von neun Adenokarzinomen haben nicht metastasiert.

Zwei Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie haben in die Axillarlymphknoten, ein Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie hat in die Knochen und zwei Karzinome dieses Typs haben sowohl in die Lymphknoten als auch in die Knochen metastasiert.

Die Adenokarzinome haben einmal nur in die Axillarlymphknoten, einmal in Lymphknoten und Knochen, einmal in Lymphknoten und Lungen und dreimal sowohl in die Axillarlymphknoten als auch in Knochen und Lungen metastasiert.

Der Kollisionstumor zeigt Axillarlymphknoten- und Knochenmetastasen.

Beide komplexen Karzinome metastasieren in Axillarlymphknoten und Lungen.

Alle vier soliden Karzinome weisen Axillarlymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen auf.

Die anaplastischen Karzinome haben in einem Fall in Lymphknoten und Lungen und in einem Fall in Lymphknoten, Knochen und Lungen metastasiert (Tabelle 48).

Tabelle 48: Beziehung zwischen Hauptdiagnose und allen gefundenen Metastasen

Hund	AdCa+ MEH	AdCa	Koll Tumor	komplexes Karzinom	solides Karzinom	anapl. Karzinom
metastasenfrei	4	3	–	–	–	–
nur AxLk Met	2	1	–	–	–	–
nur Knochenmet	1	–	–	–	–	–
nur Lungenmet	–	–	–	–	–	–
AxLk-+Knmet	2	1	1	–	–	–
AxLk-+Lumet	–	1	–	2	–	1
Kn-+Lumet	–	–	–	–	–	–
AxLk-+Kn-+Lumet	–	3	–	–	4	1
gesamt	9	9	1	2	4	2

AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; Koll: Kollisions-; anapl.: anaplastisches; AxLk Met: Axillarlymphknotenmetastasen; Knmet: Knochenmetastasen; Lumet: Lungenmetastasen

4. Diskussion

Eine allgemeingültige Aussage über die Rassenverteilung der in der Untersuchung von malignen Mammatumoren betroffenen Hunde läßt sich nicht treffen, da erstens die Anzahl der Hunde zu klein ist und zweitens eine amtliche regionale Bestandserhebung für Berlin nicht vorliegt. Läge eine solche Bestandsinformation über die Hunderassen für Berlin vor, so ergäbe sich weiter das Problem, daß nun Studien aus anderen Regionen nicht unbedingt aussagekräftig zum Vergleich herangezogen werden könnten, da regionale Vorlieben für bestimmte Hunderassen vorhanden sind.

Sicher festzustellen sind jedoch Tendenzen, die sich mit Ergebnissen vergleichbarer Literatur gegenüberstellen lassen. So sind in der Untersuchung die Terrier mit 19 % bzw. jedem fünften Hund und die Dackel mit 15 % bzw. jedem siebten Hund vertreten. Ein Anteil von 40 % (11 von 27 Hunden) ergibt sich für die Mischlingshunde, wobei festgestellt werden muß, daß Mischlingshunde erfahrungsgemäß den Hauptanteil an der Gesamtpopulation der Hunde stellen. Ordnet man die Mischlingshunde bestimmten Rassen zu, so ergibt sich interessanterweise für Terrier/Terriermix ein Anteil von 30 % an der Gesamtzahl der Hunde in der Studie und für Dackel/Dackelmix ein Anteil von 18,5 %. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien. SIMON et al. (1996) sehen Mischling und Dackel am häufigsten vertreten, bei BOMHARD und DREIACK (1977) neigen unter anderem Dackel gesichert mehr, Schäferhunde und Pudel hingegen weniger zu Mammatumoren. Eine Studie über 120 bösartige Mammatumorfälle aus den USA von MULLIGAN (1975) ergibt für Terrier, Mischlingshunde und Cocker-Spaniel eine Präferenz. Cocker-Spaniel sind in der vorliegenden Untersuchung mit 2 Hunden (7 %) vertreten. Eine Rasseninzidenz für den Pudel wird in der Literatur auf das Unterschiedlichste bewertet. So ist diese Rasse in Studien von COTCHIN (1958) und MITCHELL et al. (1974) häufig bzw. sogar am häufigsten betroffen. In der vorliegenden Untersuchung ist die Rasse Pudel mit keinem Hund vertreten.

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, daß gerade Studien aus Deutschland und den USA oder Kanada, die sich mit Rassedispositionen bei Mammatumoren befassen, immer unter dem Gesichtspunkt betrachtet werden müssen, daß in diesen Ländern unterschiedliche Vorlieben für bestimmte Hunderassen vorliegen.

Das hohe Durchschnittsalter der Hunde von 11,3 Jahren läßt sich darauf zurückführen, daß ausnahmslos Tiere zur Untersuchung vorliegen, die entweder verstorben sind oder aus verschiedenen Motivationen heraus euthanasiert wurden. Mit welchem Alter die Mammatumorerkrankung bei den einzelnen Hunden auftrat, läßt sich aus den Vorberichten nicht entnehmen. In einer Aufstellung von FIDLER und BRODEY (1967b) ist der Tumorhund im Durchschnitt 11,2 Jahre alt. Auswertungen anderer Studien ergeben niedrigere Durchschnittsalter (BUSCH 1993: 9,2 Jahre; GUTBERLET 1994: 9,7 Jahre; SIMON et al. 1996: 9,5 Jahre), wobei das Untersuchungskollektiv dieser Arbeiten aus Tumorextirpaten bzw. Mammaleisten operierter Tiere besteht und sich das Durchschnittsalter aus dem Operationsalter der Hunde errechnet. Die Frage nach dem erstmaligen Auftreten des Tumorleidens stellt sich natürlich auch hier.

Die allgemeingültigen Aussagen, daß Mammatumoren am häufigsten in einem Alter zwischen 7 und 13 Jahren auftreten und in einem Alter unter 5 Jahren selten sind, decken sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung.

Das Geschlecht der 27 Hunde ist ausnahmslos weiblich, wobei nur zwei Hündinnen (entspricht 7,4 %) kastriert sind.

Offenbar ist das Risiko, an Mammatumoren zu erkranken, für kastrierte Hündinnen geringer (SCHNEIDER et al. 1969), jedoch läßt sich, trotz scheinbar ähnlichen Ergebnisses, keine Bewertung des Sachverhaltes treffen, da weder der Zeitpunkt der Kastration bekannt ist, noch Angaben über den Anteil der kastrierten Hündinnen an der Gesamtpopulation vorliegen.

Jede einzelne tumoröse Veränderung in den Gesäugeleiten des Untersuchungskollektivs wird befundet und es ergeben sich für die 27 Hündinnen dementsprechend 27 Hauptdiagnosen bei insgesamt 40 Diagnosen maligner Mammatumoren.

Am häufigsten ist das Adenokarzinom vertreten, wobei 45 % aller Diagnosen ein Adenokarzinom mit einer Hyperplasie der Myoepithelkomponente erkennen lassen. Reine Adenokarzinome sind in 30 % der Fälle vertreten.

Ein komplexes Karzinom, bei dem sowohl der Drüsenepithelanteil als auch der Myoepithelanteil maligne entartet ist, wird in drei Gesäugeleiten gefunden. Ausschlaggebend für die Befundung der drei komplexen Karzinome ist, daß neoplastisch entartete Myoepithelzellen auch in den Metastasen dieser Karzinome zu finden sind.

Eine Beurteilung des Differenzierungsgrades des Myoepithelanteils erweist sich als außerordentlich schwierig.

Unter diesem Gesichtspunkt sollten die Begriffe des „einfachen Adenokarzinoms“ und „komplexen Karzinoms“ neu überdacht werden. Die myoepitheliale Komponente bei „komplexen Karzinomen“ als generell neoplastisch entartet anzusehen, wie es beispielsweise MISDORP et al. (1971, 1972, 1973) und FRESE (1985) tun und es auch von der WHO (MISDORP und HAMPE 1974) vorgeschlagen wird, erweist sich als problematisch, wenn von einer Hyperplasie der Myoepithelien als ein Anpassungswachstum mit reiner Vermehrung der Zellanzahl ausgegangen wird. Von daher soll im Rahmen dieser Arbeit der Begriff des „komplexen Karzinoms“, wie er früher verstanden wurde, enger definiert und ergänzt werden durch den Begriff des Adenokarzinoms mit Myoepithelhyperplasie. Es werden die Tumoren somit eingeteilt in „Adenokarzinom“ (drüsiger epithelialer Anteil maligne entartet), „Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie“ (ebenfalls nur drüsiger epithelialer Anteil maligne entartet) und „komplexes Karzinom“ (drüsiger epithelialer und myoepithelialer Anteil maligne entartet).

Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie als Mischtumoren zu bezeichnen - das heißt es lägen im Tumor entartete epitheliale und mesenchymale Anteile vor (MOULTON 1990) -, kann aufgrund des angenommenen epithelialen Ursprungs von Myoepithel nicht aufrechterhalten bleiben.

Unbestritten bleibt bei allen Untersuchungen der hohe Anteil an Karzinomen mit Myoepithelbeteiligung am Tumorgeschehen (FRESE et al. 1989), was sich mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie deckt. Ein Anteil von 10 % für solide Karzinome und ein Anteil von 5 % für anaplastische Karzinome am Gesamtkollektiv der vorliegenden Untersuchungen spiegelt ebenfalls die Ergebnisse anderer Studien über Mammatumoren der Hündin wieder (SIMON et al. 1996). Es muß allerdings bemerkt werden, daß ein maligner Mammatumor die Diagnose „solides Karzinom“ erst dann erhält, wenn neben dem soliden Wachstum seiner Zellen kein anderes Zellwachstum wie alveoläres oder tubuläres Wachstum mehr erkennbar ist. Erklärbar werden so Ergebnisse anderer Studien, die solide Karzinome mit einem Anteil von bis zu 41,3 % (ESKENS 1983) an malignen Tumortypen feststellen.

Die Tendenz, daß anaplastische Karzinome und Kollisionstumoren bzw. Karzinosarkome nur relativ selten vorkommen, kann mit der vorliegenden Studie bestätigt werden und wird ebenfalls von GUTBERLET (1994) beobachtet. In ihrem Untersuchungsmaterial von 110 malignen Mammatumoren befinden sich ein anaplastisches Karzinom und kein Karzinosarkom. Auch die 118 Mammakarzinomproben von BUSCH (1993) enthalten kein anaplastisches Karzinom und nur ein Karzinosarkom.

Werden Multiplizität und Lokalisation der Mammatumoren betrachtet, so fällt auf, daß in nur einem Fall solitäres Tumorwachstum festzustellen ist. In allen anderen Fällen wird entweder plattenartiges Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe oder multiples Tumorwachstum innerhalb einer oder beider Gesäugeleisten gefunden. Hierbei muß beachtet werden, daß bei den zur Untersuchung genommenen Hündinnen oft ein weit fortgeschrittenes Krankheitsgeschehen vorlag, aufgrund dessen das Tier verstarb oder eine Euthanasie vorgenommen wurde. Unbestritten bleibt jedoch, daß multiples Tumorwachstum ein weit häufigeres Phänomen als ein solitäres Tumorwachstum darstellt, wobei Tumoren unterschiedlicher Dignität in ein und derselben oder beiden Gesäugeleisten nebeneinander lokalisiert sein können. Dieses wurde auch schon von OWEN (1979) und von FERGUSON (1985) so beobachtet. Die These, daß multiple maligne Mammatumoren ein selten beschriebenes Phänomen ist (MISDORP und HART 1979), kann so nicht bestätigt werden.

Lediglich 4 % aller Tumoren mit der Hauptdiagnose und 5 % aller Tumoren sind in den ersten thorakalen Mammarkomplexen der Gesäugeleiste lokalisiert. Dagegen finden sich 33 % aller Tumoren mit der Hauptdiagnose und 30 % aller Tumoren in den inguinalen Komplexen der Gesäugeleiste. Von kranial nach kaudal innerhalb der Komplexe ist eine stetige Zunahme von malignen Mammatumoren festzustellen. Die allgemeingültige Aussage, daß die Tumorzellhäufigkeit in den Drüsenkomplexen von thorakal nach inguinal zunimmt (ELSE und HANNANT 1979), läßt sich anhand der vorliegenden Ergebnisse bestätigen.

Jeder einzelne Axillarlymphknoten der 27 Hündinnen, zusätzlich fünf Lymphonodi axillares accessorii, werden histologisch mittels HE-Färbung und Immunfärbung angefärbt und befundet. Um die Axillarlymphknotenbefunde diskutieren zu können, sollen zuerst einmal die Ergebnisse von histologischer HE- und immunhistochemischer Färbung verglichen werden.

Eindeutig der konventionellen Färbemethode überlegen erweist sich die immunhistochemische Färbung beim Auffinden von Mikrometastasen in den Lymphknoten, was auch von humanmedizinischen Studien bestätigt wird (STOSIEK et al. 1996). In 10 HE-befundeten metastasenfrenen Lymphknoten können mittels immunhistochemischer Färbemethode Mikrometastasen nachgewiesen werden. 48 % der Metastasen bleiben mit der histologischen HE-Färbung unerkant. In zwei Lymphknoten besteht ein Verdacht auf Metastasen, welcher für einen Fall mittels Immunfärbung bestätigt und für einen Fall nicht bestätigt werden kann.

Auch können in immunhistochemisch angefärbten Lymphknoten genauere Angaben über die Lokalisation und die Anzahl von Tumorzellen gemacht werden.

BUSCH (1993) fand heraus, daß in mehr als der Hälfte aller seiner befundeten Inguinallymphknoten bei Mammatumorerkrankungen durch die Immunfärbung eine Verbesserung der qualitativen Diagnostik erreicht werden konnte. In seinen Untersuchungen bleiben 64 % von Lymphknotenmetastasen mit der konventionellen Färbemethode unerkant. Desweiteren vermutet er Tumorzellen in Lymphknotenregionen, in denen der immunhistochemische Schnitt keine positiven Reaktionen aufweist. Dieses Phänomen kann in der vorliegenden Untersuchung bestätigt werden, vergleicht man die Lokalisationen der Tumorzellen in den HE-Schnitten und Immunschnitten. Es werden 56 Lokalisationen der Tumorzellen in den HE-Schnitten gemacht, demgegenüber stehen 49 Lokalisationen in den Immunschnitten. Am deutlichsten wird der Unterschied bei den den gesamten Lymphknoten einnehmenden Metastasen. In den Immunschnitten können hier viel genauere Lokalisationen angegeben werden, ob sich Tumorzellen beispielsweise vornehmlich in der Rindenzone oder vornehmlich in der Markzone des Lymphknotens befinden.

In 29 % der Fälle befinden sich Tumorzellen im Randsinus, in Randsinusknähe und in der Rindenzone des Lymphknotens gegenüber 12 % in der Markzone. Diese bestimmte Absiedelung der Tumorzellen gibt die physiologische Durchflußrichtung im Lymphknoten wieder, wobei sich Lymphe im Knoten abwärts bewegt und zuerst im Randsinus absiedelt, während sie später zentral durch Rinde und Mark fließt (GILSON 1995).

Ein einziger HE-Befund mit Metastasen im Lymphknoten kann mit der immunhistochemischen Methode nicht bestätigt werden. Es handelt sich um einen mit anaplastischen metastatischen Tumorzellen behafteten Lymphknoten. Verwunderlich ist dieses weniger, fanden doch auch VOS et al. (1993) einen Reaktionsverlust für monoklonale Antikörper gegen Zytokeratine in metastatischen Tumorgeweben. Allerdings zeigen die Zellen selbst stark undifferenzierter Tumoren oder derer Metastasen ein relativ stabiles Expressionsmuster für ihre spezifischen Zytokeratine (GOWN und VOGEL 1985). Im zweiten vergleichbaren Fall der Studie färben sich sehr wohl anaplastische Tumorzellen immunhistochemisch an; somit kann der oben beschriebene Fall als „Ausreißer“ gewertet werden. Anscheinend verlieren seine stark entdifferenzierten Zellen ihre Antigenität gegenüber dem verwendeten monoklonalen Antikörper.

In der HE-Färbung stellen sich 61 % aller Lymphknoten als metastasenfrie dar, 39 % sind mit Mammatumormetastasen oder -mikrometastasen behaftet. Immunhistochemisch sind 46 % der Lymphknoten metastasenfrie und 54 % aller Lymphknoten metastasen- oder mikrometastasenpositiv, wobei 30 % der Lymphknoten metastasenpositiv und 24 % mikrometastasenpositiv sind.

Bezieht man die Zahlen auf das Gesamtkollektiv, so haben 70,4 % aller Hunde mit malignen Mammatumoren Axillarlymphknotenmetastasen.

Mit der Auswahl der Orte für die Knochenprobenentnahmen wird ein repräsentativer Querschnitt der Prädilektionsstellen für Knochenmetastasen, wie sie aus der Humanmedizin bekannt sind (REMMELE 1984, BARTH 1990, TOBIAS 1991, CAMPANACCI 1991, DIEL et al. 1994) und auch für den Hund zutreffen (MISDORP und DEN HERDER 1966, GOEDEGEBUURE 1979, BRODEY et al. 1983), gewählt.

Für das Gelingen des immunhistochemischen Nachweises von Metastasen und Mikrometastasen im Knochen sind eine Reihe von Faktoren ausschlaggebend.

So dürfen aggressive Bearbeitungsmethoden, wie beispielsweise die elektrolytische Entkalkung der Knochen oder das „Aufbrennen“ von Knochenschnitten auf den Objektträger, die Antigenität des Gewebes nicht beeinträchtigen. Aus diesem Grund werden im Rahmen der Vorversuche Mammatumorgewebeproben den gleichen Bearbeitungsmethoden ausgesetzt, wie sie für die Knochenproben geplant sind. Das Gelingen der Darstellung von neoplastisch entarteten Drüsenepithelien aus besagter Probe mittels immunhistochemischer Technik beweist, daß trotz aggressiver Verarbeitungsmethoden der ursprüngliche Charakter morphologischer Strukturen von Zellen und Geweben erhalten bleibt.

Desweiteren muß der am Lymphgewebe etablierte Zytokeratin-Antikörper AE-1 (BUSCH 1993) ebenfalls Tumorzellen epithelialen Ursprungs im Knochenmark markieren, was in den Vorversuchen gelingt. In der Humanmedizin ist die Verwendung monoklonaler Antikörper und die APAAP-Methode Standarttechnik für den Nachweis von Tumorzellen im Knochenmark (ORUZIO et al. 1997).

Die insgesamt 199 Knochen der 27 Hunde werden nach immunhistochemischer Anfärbung zu 86 % als metastasenfrie befundet. In 16 Knochen (entspricht 8 %) können Metastasen eines Mammatumors und in 12 Knochen (entspricht 6 %) können Mikrometastasen eines Mammatumors nachgewiesen werden. Es werden bis zu drei immunpositive Reaktionen pro Knochen gefunden, was für ein multiples Vorkommen von Metastasen in einem einzelnen Knochen spricht und auch schon von PHARR (1994) so beschrieben wird.

In fünf linken Humeri, fünf rechten Humeri, vier linken Femur, einem rechten Femur, drei linken Beckenknochen, sechs rechten Beckenknochen, vier siebten Lendenwirbeln und in einem Sternum werden Mammatumormetastasen oder -mikrometastasen nachgewiesen.

Die an 10 Hunden mit malignen Mammatumoren nachgewiesenen Knochenmetastasen von MISDORP und DEN HERDER (1966) befanden sich zweimal im Femur, einmal im Becken und dreimal in der Lendenwirbelsäule, also lediglich viermal in weiteren Skelettbereichen. GOEDEGEBUURE (1979) konnte in fünf Fällen mit Primärtumorlokalisation in der Mammarleiste insgesamt elfmal Knochenmetastasen nachweisen, wobei fünfmal der Humerus, fünfmal der Femur und lediglich einmal der erste Halswirbel betroffen war.

Bezieht man die Zahlen dieser Studie auf das Gesamtkollektiv, so haben 44,4 % der Hunde mit malignen Mammatumoren Knochenmetastasen ausgebildet.

Folgende Fragen können nun aufgrund der Ergebnisse erörtert werden:

1. Spielt der Tumortyp beim Metastasierungsgeschehen in die Lymphknoten eine Rolle?
2. Spielt die Lokalisation eines Mammatumors im Metastasierungsgeschehen in die Lymphknoten eine Rolle?
3. Spielt die Größe eines Mammatumors im Metastasierungsgeschehen in die Lymphknoten eine Rolle?
4. Spielt ein multiples Vorkommen von Mammatumoren im Metastasierungsgeschehen in die Lymphknoten eine Rolle?
5. Welcher Zusammenhang besteht zwischen Knochenmetastasen und Typ, Lokalisation, Größe und multiplem Vorkommen des Mammatumors?
6. Besteht eine Beziehung zwischen bestimmten histologischen Befunden des Tumors und Metastasen bzw. welche histologischen Befunde des Tumors beeinflussen negativ das Krankheitsgeschehen?
7. Besteht eine Beziehung zwischen der Lymphknotengröße und weiteren Lymphknotenbefunden (Blutungen, Nekrosen, Hyperplasie) zu Lymphknotenmetastasen?
8. Wie wird die Größe einer Lymphknotenmetastase bewertet? Welche Rolle spielen Mikrometastasen?
9. Haben Axillarlymphknotenmetastasen bei Mammatumoren den gleichen Stellenwert wie Inguinallymphknotenmetastasen?
10. Welcher Stellenwert wird den Knochenmetastasen beigemessen? Wo sind sie im Knochen lokalisiert und wie wird ihre Größe bewertet?
11. Wie werden Fernmetastasen zusätzlich zu Lymphknotenmetastasen bewertet?

Offensichtlich hat der Tumortyp eine große Bedeutung für die Metastasierung von Tumorzellen in die Axillarlymphknoten. Alle soliden und anaplastischen Karzinome weisen in der vorliegenden Untersuchung Axillarlymphknotenmetastasen auf. Als besonders aggressiv werden solide und anaplastische Karzinome von KÄLIN et al. (1985) beschrieben und auf ihre hohen Metastasierungsrate wird in der Literatur oft hingewiesen (FRESE 1985, MISDORP et al. 1972, 1973, MOULTON 1990).

Adenokarzinome haben in 70 % der Fälle in die Lymphknoten metastasiert. Hierzu hinzugezählt wird der Kollisionstumor (Karzosarkom), bei dem sich Tumorzellen epithelialen Ursprungs im Axillarlymphknoten nachweisen lassen. Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie weisen in nur 4 von 9 Fällen Axillarlymphknotenmetastasen (44 %) auf, wobei interessanterweise lediglich einmal Metastasen und dreimal Mikrometastasen nachgewiesen werden.

Dieses ist die niedrigste Quote für einen Metastasennachweis, allerdings im Vergleich die höchste Quote für einen Mikrometastasennachweis. Komplexe Karzinome, bei denen der Myoepithelanteil maligne entartet ist, zeigen bei einer Gesamtzahl von 2 Tumoren einmal Metastasenbildung und einmal Mikrometastasenbildung.

Wird auf die in Kapitel 2.4.3.3. beschriebene Rangfolge für die Malignität der Mammtumoren zurückgeblickt, so weisen die Axillarlymphknotenmetastasierungsrate der Karzinome dieser Studie eindeutig vergleichbare Ergebnisse vor.

Es sind anscheinend Karzinome, bei denen solides oder anaplastisches Tumorzellwachstum festzustellen ist, in ihrem biologischen Verhalten als weit aggressiver zu bezeichnen, als solche Karzinome, die eine hyperplastische Myoepithelkomponente aufweisen. Auch schon die Unterschiede in den Metastasierungsraten der reinen Adenokarzinome und der Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie zeigen eine geringere Malignität für weitere auf.

Insgesamt gesehen sind die Ergebnisse der Studie betreffs des Tumortyps und seiner Metastasierungspotenz trotz der geringen Anzahl an untersuchten Hunden durchaus konform mit Ergebnissen anderer Studien und Angaben aus der Literatur.

Die zweite Frage, welche im Zusammenhang mit Axillarymphknotenmetastasen interessiert, ist die nach einer Beziehung zwischen der Tumorlokalisation und aufgetretenen Metastasen. Hier ergibt sich sicher die Schwierigkeit, daß immer, bis auf einen Fall, multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in einer oder beiden Gesäugeleisten zu beobachten ist. Deshalb besteht durchaus die Möglichkeit, daß ein Tumor minderer Malignität für die Ausbildung von Lymphknotenmetastasen gleichfalls in Frage kommt, obwohl ein Tumor höherer Malignität in ein und derselben Gesäugeleiste lokalisiert ist.

Deshalb werden im Rahmen der Studie Befundpaare aus den Lokalisationen von Mammatumoren und vorhandenen Lymphknotenmetastasen gebildet, welche „unmögliche“ Lymphabflußwege von Tumorzellen ausschließen (s. Kap. 3.2.8.1.).

Es wird ersichtlich, daß ein Mammatumor, der im zweiten abdominalen Mammarkomplex lokalisiert oder sogar im inguinalen Komplex zu finden ist, durchaus Metastasen in die Axillarymphknoten setzen kann. Vielleicht kann diese erstaunliche Tatsache zur fruchtbaren Diskussion über mögliche Abflußwege der Lymphe aus der Gesäugeleiste beisteuern. So kann insbesondere OWEN (1979) widersprochen werden, der einen kaudalen Lymphabfluß aus dem zweiten abdominalen und dem inguinalen Gesäugeleiste in den Inguinallymphknoten und einen kranialen Abfluß aus den beiden thorakalen und dem ersten abdominalen Komplex in die Axillarymphknoten und prästernalen Lymphknoten beschreibt. Geht man von Lymphgefäßanastomosen zwischen I und A2, zwischen A2 und A1 und zwischen T2 und A1 aus, was aus verschiedensten Literaturangaben und besonders aus den durchgeführten Versuchen von SAUTET et al. (1992) hervorgeht, so ist ein kranialer Lymphabfluß in die Axillarymphknoten aus I und A2 durchaus möglich. Erwiesenermaßen zeigen sieben Hunde der Studie, deren Mammatumoren entweder in A2 oder I lokalisiert sind, Metastasierung in die Axillarymphknoten.

In einem Fall lassen sich bei der Lokalisation von Mammatumoren in der rechten Gesäugeleiste Lymphknotenmetastasen links nachweisen. Dieses würde der Tatsache widersprechen, daß keine lymphatische Verbindung zwischen beiden Gesäugeleisten besteht (BAUM 1918, THEILEN und MADEWELL 1979, SAUTET et al. 1992). Allerdings handelt es sich bei diesem speziellen Fall um ein solides Karzinom, welches in plattenartiger Ausdehnung in die kontralaterale Gesäugeleiste einwächst und welches eine ausgeprägte Lymphangiosis carcinomatosa aufweist. Unter diesem Aspekt ist es durchaus denkbar, daß in den lymphatischen Abflußwegen und auch in den Lymphknoten der kontralateralen Seite Metastasen zu finden sind.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß im Krankheitsgeschehen „Gesäugetumoren der Hündin“ auch dann mit Metastasierung von Tumorzellen in die Axillarymphknoten gerechnet werden muß, wenn ein Tumor im zweiten abdominalen Mammarkomplex und im inguinalen Mammarkomplex lokalisiert ist. In diesem Zusammenhang wäre sicher eine Untersuchung über Mammatumormetastasen in die Sternallymphknoten, die das dritte tributäre Lymphabflußgebiet der Gesäugeleiste darstellen, eine sinnvolle Ergänzung dieser Arbeit.

Als weiteres wichtiges Kriterium im Metastasierungs geschehen von Mammatumoren wird von vielen Autoren die Tumorgöße diskutiert. Eine kritiklose Übernahme der Größenangaben von Primärtumoren aus der Humanmedizin erscheint als problematisch, da anatomische Proportionen nicht stimmig wären.

MISDORP und HART (1976) teilen die Mammatumoren in ihren Untersuchungen nach Größe (gemessen ist der größte Durchmesser) und Volumen in cm^3 ein. In Anlehnung daran und aus anderen Literaturangaben der Veterinärmedizin wird für diese Studie eine Tumorgroßeneinteilung getroffen (s. Kap. 3.2.9.) und mit den vorhandenen Axillarlymphknotenmetastasen verglichen.

Bei einer Tumorgroße von über 10 cm im größten Durchmesser und/oder einem Tumolvolumen von über 100 cm^3 liegen ausnahmslos Lymphknotenmetastasen/-mikrometastasen vor. Beträgt der Tumordurchmesser jedoch unter 5 cm und/oder ist das Tumolvolumen kleiner als 10 cm^3 , finden sich lediglich in drei von neun Fällen Mikrometastasen. Der kleinste Tumor mit Axillarlymphknotenmetastasen hat eine Längsausdehnung von 1,5 cm.

Sind diese Untersuchungsergebnisse nun aussagekräftig oder müssen sie aufgrund der verschiedenen langen Krankheitsdauern bzw. einem Fehlen von Informationen über rasche Größenzunahmen der Tumoren, was in der Praxis als das vielleicht zuverlässigste klinische Kriterium für mögliche Bösartigkeit gewertet wird, mit Skepsis betrachtet werden?

Tendenziell läßt sich feststellen, daß eine große tumoröse Veränderung eher metastasiert, als eine vergleichbar kleine Veränderung. Die Wahrscheinlichkeit, daß Tumorzellen invasiv in gesundes Gewebe einwachsen oder Lymph- und Blutgefäße penetrieren, wird natürlich umso größer, je mehr Zellen mit maligner Transformation und somit Verlust der physiologischen Funktion (WATERS 1995) pro Tumor vorhanden sind bzw. je ausgedehnter sich eine Veränderung darstellt.

Bemerkenswert allerdings bleibt die Tatsache, daß selbst kleine Tumoren potentiell metastasieren können und dieses auch immer bei der Vorgehensweise einer Mammatumorbehandlung Berücksichtigung finden muß.

Soll die Frage erörtert werden, ob multiples Tumorwachstum in der Gesäugeleiste mit einem Metastasierungs geschehen in Verbindung steht, so muß vorab betont werden, daß rein solitäres Tumorwachstum als Ausnahme angesehen werden muß (GUTBERLET et al. 1998).

Das für die Tumorgroße Gesagte trifft nun auch für multiples malignes Tumorwachstum im Gesäuge zu; es finden sich einfach wahrscheinlich mehr entartete Zellen, was natürlich nicht zwingend so sein muß.

Interessanterweise finden sich in der vorliegenden Studie in den Fällen, in denen multiples Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in beiden Gesäugeleisten vorkommt, ausnahmslos Axillarlymphknotenmetastasen oder -mikrometastasen, während dieses bei multiplem Tumorwachstum innerhalb lediglich einer Gesäugeleiste nicht so vorgefunden wird.

Beide Fälle, in denen plattenartiges Tumorwachstum über mehrere Mammarkomplexe gefunden wird, zeigen ebenso Metastasen- bzw. Mikrometastasenbildung.

Die abschließende Frage nach einer Beziehung von multiplem Tumorvorkommen und einer Metastasierung in die Lymphknoten kann somit schwer geklärt werden. Einzig und allein plattenartiges Tumorwachstum über mehrere Gesäugekomplexe scheint eine höhere Metastasierungs tendenz vorzuweisen.

Ein Vergleich von Tumortyp und Knochenmetastasen ergibt, daß alle vier soliden Karzinome Metastasierung von Tumorzellen in die Knochen aufweisen. Ein von zwei anaplastischen Karzinomen hat in die Knochen metastasiert; bei dem knochenmetastasenfreien anaplastischen Karzinom werden jedoch Lungenmetastasen nachgewiesen. Die Ergebnisse unterstreichen noch einmal die Aggressivität solider und anaplastischer Karzinome.

50 % der Adenokarzinome zeigen Metastasierung in die Knochen, wobei der Kollisionstumor (Karzinom Sarkom) hinzugezählt wird, da der Nachweis von epithelialen Tumorzellen im Knochen in diesem Fall beweisend für eine Metastasierung seines karzinomatösen Anteils ist.

Im Vergleich dazu zeigen 33 % aller Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie eine Knochenmetastasierung; es werden andererseits bei keinem komplexen Karzinom Knochenmetastasen nachgewiesen (diese weisen wiederum Lungenmetastasen auf).

Anhand der Knochenmetastasierungsdaten läßt sich noch einmal die Tatsache bestätigen, daß der Tumortyp eine große Bedeutung für eine potentielle Metastasierung von Tumorzellen hat und eine Malignitätsrangfolge von bösartigen Tumoren durchaus eine Berechtigung hat.

MISDORP und DEN HERDER (1966) wiesen in 10 Mammakarzinomfällen mit Knochenmetastasierung unter anderem dreimal ein solides Karzinom, dreimal ein Adenokarzinom und je einmal ein anaplastisches Karzinom und ein Karzinosarkom nach, wobei diese Untersuchung immerhin 32 Jahre zurückliegt und es fraglich ist, ob heute die damals so klassifizierten Tumoren ähnlich oder sogar gleich beurteilt würden.

59 % der Lokalisationen der malignen Mammatumoren befinden sich bei Metastasennachweis im Humerusknochen im kranialen venösen Abflußgebiet der Gesäugeleiste. Befindet sich eine Metastase im Femur und Becken, so liegt der Primärtumor in 83 bzw. 75 % der Fälle im kaudalen Abflußgebiet der Gesäugeleiste. In beeindruckenden 93 % ist der Primärtumor im kaudalen Abflußgebiet des Gesäuges lokalisiert, wenn Lendenwirbelmetastasen nachgewiesen werden.

Die Metastasierung maligner Mammatumoren erfolgt primär lymphogen (FRESE 1985). Da jedoch die Untersuchungen von GUTBERLET und RUDOLPH (1996) einen hohen Prozentsatz von Hämangiosis bzw. Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa im Verhältnis zu der reinen Lymphangiosis sehen und auch in der vorliegenden Studie nur mit der konventionellen Färbemethode allein fünfmal eine Hämangiosis carcinomatosa im Primärtumor nachgewiesen wird, muß von einer nicht unerheblich großen hämatogenen Verbreitung von Tumorzellen ausgegangen werden. Auch MISDORP und HART (1979) beschreiben bei 64 % der von ihnen untersuchten malignen Mammatumoren eine hämatogene Tumorzellausbreitung. Ein weiterer bemerkenswerter Aspekt ist die Tatsache, daß 50-60 % der Tumorzellen einen tributären Lymphknoten innerhalb von Stunden passiert und in efferente Lymphwege (5-15 %) gelangt oder in lymphovenöse Anastomosen (35-50 %) weiterwandert (CARR 1983, CARR et al. 1987, FISHER und FISHER 1967). Aus einer primär lymphogenen Metastasierung ist eine sekundär hämatogene Form geworden.

Werden alle diese Sachverhalte bedacht, so hat die Lokalisation eines metastasierungsfähigen Tumors in der Gesäugeleiste eine nicht unerhebliche Bedeutung für bestimmte Absiedelungsorte von Tumorzellen.

In einem Fall der Studie werden bei einem metastasierenden Mammatumor nur Knochenmetastasen nachgewiesen. Hierbei handelt es sich um eine Mikrometastase im rechten Humerus und sechs kleinere Tumorzellverbände periostal im Wirbelkanal des siebten Lendenwirbels. Als Primärtumor wird ein Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie diagnostiziert, welches in multiplen Tumoren in der linken Mammarleiste vom ersten abdominalen bis zum inguinalen Komplex und in der rechten Leiste vom zweiten thorakalen bis zum inguinalen Komplex wächst. Weder die Axillarlymphknoten noch eine Lungenprobe zeigen Hinweise auf metastasierte Tumorzellen auf. Es besteht nun die Möglichkeit, daß Tumorzellen auf primär hämatogenem Wege in die Knochen metastasiert sind, andererseits werden in oder an den Tumorproben keine Hämangiosis carcinomatosa festgestellt, was natürlich eine hämatogene Streuung von Tumorzellen nicht ausschließt. Da gerade in diesem Fall eine Tumorzellmetastasierung in die Lendenwirbelsäule festzustellen ist, kommt ein weiterer des öfteren in der Literatur diskutierter Aspekt hinzu.

LEAV und LING (1968) fanden eine nicht geringe Anzahl an Lendenwirbelsäulen- und Beckenknochenmetastasen bei caninen Prostatakarzinomen. Bei intraabdominalen Druckanstiegen, die zum Beispiel beim Urinieren oder bei der Defäkation physiologischerweise anzutreffen sind, kommt es zu einem temporären Kollaps der Vena cava caudalis, was den venösen Fluß umkehrt und einen Shunt zum vertebren Venenplexus entstehen läßt (GOLDSCHMIDT und THRALL 1985).

Die Venen des vertebralen Plexus sind klappenlos und erlauben somit dem mit Tumorzellemboli beladenen venösen Blut eine retrograde Flußrichtung und letztlich eine Tumorzellaussaat in Wirbelkörper der Lendenwirbelsäule und Becken (MORGAN 1972).

In der Humanmedizin werden Skelettmetastasen in Abwesenheit von Lungenmetastasen beim Brustkrebs, bei Karzinomen der Prostata, der Nieren, der Schilddrüse und des Magens nachgewiesen (CAMPANACCI 1991). Sie werden unter anderem auch dort mit einer Venenflußumkehr bei thorakalen und abdominalen Druckanstiegen in den vertebralen Venenplexus, der seinerseits mit den Venen des Kopfes, des Beckens, der Rippen und des proximalen Femurs verbunden ist, erklärt.

Werden die Tumorgröße und vorhandene Knochenmetastasen miteinander verglichen, so fällt auf, daß bei einer Tumorgröße von 10 cm im größten Durchmesser in 57 % der Fälle Knochenmetastasen nachweisbar sind. Bei einer Tumorgröße kleiner als 10 cm haben 31 % der Fälle und bei einer Tumorgröße von kleiner als 3 cm 23 % der Fälle in die Knochen metastasiert. Die Prozentzahlen beweisen auch hier (wie bei den Axillarlymphknotenmetastasen): je größer ein maligner Tumor ist, desto öfter metastasiert er.

Es muß jedoch auf die im Vergleich Tumorgröße und Lymphknotenmetastasen angesprochenen Aspekte hingewiesen werden. So zeigt sich doch auch hier, daß eine kleine Tumorgröße nicht unbedingt bedeutet, daß keine Fernmetastasen zu finden sind; es mißt nämlich der kleinste Mammatumor mit nachgewiesenen Knochenmetastasen im größten Durchmesser 2,5 cm.

Bei multiplem Tumorwachstum unterschiedlicher Dignität in beiden Gesäugeleiten haben sich in fünf von neun Fällen Knochenmetastasen ausgebildet. Dieses scheint eine Parallele zum Vergleich „multiples Tumorwachstum und Axillarlymphknotenmetastasen“ zu sein, wobei eine schlüssige Interpretation dieses Phänomens vorerst ausbleiben muß.

Die histologischen Parameter, die das Bild eines malignen Tumors prägen, sind mannigfaltig (RIEDE und WEHNER 1986, GUTBERLET 1994, BRATULIC et al. 1996, BENAZZI et al. 1996) und ihre Summe und Ausprägung sind für den Pathologen entscheidende Kriterien für die Beurteilung der Dignität einer tumorösen Veränderung. Es stellt sich nun die Frage, inwieweit die Mitoserate der Tumorzellen, das Tumorzellbild und das Tumorzellkernbild, die Stromaentwicklung im Tumor, die Gefäßdurchsetzung des Tumorstromas, ein Vorhandensein oder Nichtvorhandensein der Tumorkapsel, die Wachstumsart des Tumors, Entzündungsreaktionen, Nekrosenausprägung und Blutungen im und am Tumor, Gefäßeinbrüche von Tumorzellen und Lymphangiosis und Hämangiosis carcinomatosa als potentieller Hinweis für die Metastasierungsgefahr gesehen werden können. Um ein Gesamtbild zu erhalten, sind in diesem Zusammenhang nicht nur Metastasen in die Lymphknoten, die als erste „Auffangstation“ für Tumorzellen verstanden werden, sondern auch die im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesenen Fernmetastasen mitberücksichtigt worden.

Die Mitoserate der Tumorzellen, ein möglicher Hinweis auf eine ausgeprägte und schnelle Zellteilung bzw. Zellvermehrung, findet sich in 74 % der Fälle in nur geringer Ausprägung oder es sind sogar keine Mitosen sichtbar. Allerdings zeigen die Tumoren der Hunde, welche in Lymphknoten, Knochen und Lungen metastasiert haben, in fünf von acht Fällen eine mäßig bis ausgeprägte Mitoserate ihrer Zellen. Dieses entspricht zu 71 % der insgesamt gefundenen mäßig bis ausgeprägten Mitoseraten.

Tendenziell scheint also eine hohe Mitoserate mit einer erhöhten Metastasierungsgefahr einherzugehen, was auch dadurch belegt werden könnte, daß alle metastasenfrenen Hunde nur eine geringe Mitosenrate aufweisen. Demgegenüber werden in vier Fällen, in denen Metastasierungen nachgewiesen werden können, keine Mitosen der Tumorzellen gefunden.

Zusammenfassend gestaltet sich die Interpretation der Befunde als schwierig und es läßt sich eine allgemeingültige Aussage auch deshalb nicht treffen, da es sich bei der Betrachtung von Mitosebildern der Zellen in histologischen Schnitten um eine Momentaufnahme handelt, die in ihrer Gestalt und Ausprägung zeitlich variiert und auch abhängig ist vom Sektionszeitpunkt des Tieres nach dem Tode und dem Fixierungszeitpunkt des Gewebes.

Eindeutigere Aussagen lassen sich bei der Betrachtung des Zellbildes im Tumor machen.

Ein eher einheitliches Tumorzellbild liegt in sieben Fällen vor, die sich aus vier nicht metastasierten und drei metastasierten Tumoren zusammensetzen, während von zwanzig Tumoren mit einem polymorphen Zellbild siebzehn metastasiert haben. Insbesondere die acht Tumoren, welche in Lymphknoten, Knochen und Lungen metastasiert haben, zeigen siebenmal ein polymorphes Zellbild. Anhand der Zahlen können also uneinheitliche Zellgröße und häufige Zelltypen im Tumor als eine mögliche Metastasierungsgefahr gesehen werden. In vier Geschwülsten können neben anderen Zellen Tumorroiesenzellen, welche in den meisten Fällen einen epithelialen Immunphenotyp haben (DELLA SALDA et al. 1993), nachgewiesen werden. Von diesen vier Geschwülsten haben drei metastasiert, wobei in den Axillarlymphknotenmetastasen ebenfalls Tumorroiesenzellen sichtbar werden, die sich allerdings in einem Fall nicht immunhistochemisch anfärben lassen. Dieses deutet auf eine starke Entdifferenzierung der Zellen hin, was wiederum für Verluste und Andersartigkeiten von Zellfunktionen spricht.

Zwanzigmal fallen große Zellkerne beim Anschauen der Zellkerngröße der 27 Tumoren auf. Allein sechsmal wird die Kerngröße als groß eingestuft, wenn Lymphknoten-, Lungen- und Knochenmetastasierung des Tumors vorliegen, jedoch auch fünfmal bei den sieben metastasenfreen Tumorfällen.

In 23 von 27 Fällen liegt ein euchromatisches Zellkernbild vor, lediglich viermal ein heterochromatisches Bild. Werden eine prominente Zellkerngröße und ein heterochromatisches Zellkernbild als Kriterien für die Bösartigkeit eines Tumors gewertet, so können diese beiden Parameter dafür bei den vorliegenden Tumoren nicht herangezogen werden.

Die Verschiebung der Kern-Plasma Relation, die in den Tumoren insgesamt in 14 Fällen zugunsten des Kerns und in 13 Fällen zugunsten des Plasmas ausfällt, wird von Autoren, findet sie zugunsten des Kerns statt, als ein Malignitätszeichen beschrieben (MOULTON et al. 1986). Im vorliegenden Material lassen sich in diesem Punkt keine eindeutigen Aussagen treffen.

Schon eher ließe sich die Anzahl der Nucleoli im Zellkern in Beziehung zu Metastasierung und somit Bösartigkeit der Tumoren bewerten. Mehrere Nucleoli im Zellkern werden in 22 Tumorfällen nachgewiesen, wobei 17 dieser Tumoren mindestens einen Metastasierungsort aufweisen. Alle acht Fälle, in denen Lymphknoten-, Lungen- und Knochenmetastasen gleichzeitig nachzuweisen sind, haben in ihren Tumorzellkernen mehrere Nucleoli, deutlich und vergrößert sind sie in zusätzlich drei Fällen.

Eine allgemeingültige Aussage, ob eine Metastasierung von Tumorzellen mit der Zellkerngröße, mit einem heterochromatischem Zellkern oder mit einer Verschiebung der Kern-Plasma Relation zugunsten des Kerns korreliert, wird nicht getroffen.

Dem Tumorstroma, welches Fibroblasten, Endothelialzellen und extrazelluläre Matrix enthält (WATERS 1995), wird neueren Studien nach eine wichtige Rolle für die Mikroumgebung von Tumorzellen beigemessen.

Das Verständnis, wie bedeutsam diese Mikroumgebung für das Voranschreiten einer Tumorerkrankung oder die Ausbildung von metastasierungskompetenten Zellen ist, setzt voraus, daß man sich mit dem sogenannten angiogenetischen Phenotyp von Tumorzellen (FOLKMANN 1990) auseinandersetzt. Als angiogenetischen Phenotyp versteht man eine Tumorzelle mit der Fähigkeit, neue Blutgefäße bilden zu können. Erwiesenermaßen ist diese Fähigkeit korreliert mit einer Tumorgöße über 2 mm im Durchmesser.

Offensichtlich spielt die Induktion der Angiogenese von Tumorzellen im Metastasierungsprozeß eine bedeutende Rolle, da erstens neu geformte Blutgefäße hyperpermeabel sind und eine wenig effektive Barriere für Tumorzellen darstellen. Zweitens müssen die Tumorzellen, sind sie an einem entfernten Ort im Organismus angelangt und wollen sich dort erfolgreich ansiedeln, die Fähigkeit zur Angiogeneseinduktion mitbringen, um ihre eigene Blutversorgung einrichten zu können. Hilfreich sind den Tumorzellen nun bei der Bildung von neuen Blutgefäßen Wachstumsfaktoren wie TGF- β und FGF, einem proangiogenetischen Peptid, welches unter anderem die Migration und Proliferation von endothelialen Zellen stimuliert (CHAUDHURY und D'AMORE 1991, KLAGSBRUN und D'AMORE 1991). Diese Wachstumsfaktoren werden nun ihrerseits von Stromazellen (Fibroblasten) produziert und befinden sich in der extrazellulären Matrix (HERLYN und MALKOWICZ 1991), also am Ort der Mikroumgebung von Tumorzellen.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß das Tumorstroma Einfluß auf das Verhalten von Tumorzellen nimmt und daß die Fähigkeit von metastatisch kompetenten Tumorzellsubpopulationen, alle Stufen der Metastasierung erfolgreich nehmen zu können, nicht nur mit ihrer genetischen Konstitution, sondern auch von Interaktionen mit ihrer Umgebung abhängen (MAREEL et al. 1990, NICOLSON 1987).

Es zeigt sich im Tumormaterial der Studie, daß in sieben Fällen, bei denen eine ausgeprägte Stromaausbildung im Tumor angetroffen wird, sechsmal Metastasierung nachzuweisen ist. Hiervon können allein in drei Fällen sowohl Lymphknoten-, als auch Knochen- und Lungenmetastasen beobachtet werden.

Wird das Tumorstroma auf seine Gefäßdurchsetzung betrachtet, so fällt auf, daß das Tumorstroma in 57 % der metastasenfrenen Hunde eine geringe Gefäßanzahl aufweist, während in 65 % der metastasenbehafteten Hunde das Tumorstroma eine große Anzahl an Gefäßen aufweist. Interessanterweise zeigt die Hundegruppe, die Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen ausgebildet hat, ausnahmslos eine große, regelmäßige Gefäßdurchsetzung ihres Tumorstromas.

Es scheint von außerordentlicher Wichtigkeit zu sein, eine histologische Tumorprobe auf das Vorhandensein von Stroma und die Durchsetzung des Stromas mit Gefäßen zu beurteilen. Es lassen sich verlässliche Rückschlüsse auf die Malignität einer Veränderung ziehen, wird ein ausgeprägtes Tumorstroma angetroffen bzw. findet sich eine ausgeprägte Gefäßdurchsetzung des Stromas.

In der Humanmedizin wird die Gefäßdichte in einem Tumor als prognostische Information bei Frauen mit Brustkrebs genutzt (BOSARI et al. 1992, WEIDNER et al. 1992).

Wird eine ausgeprägte Stromaausbildung im Tumor als negativ bewertet, so muß andererseits bedacht werden, daß gerade solide Karzinome, die in der Regel durch stromaarme solide Tumormassen charakterisiert sind (FRESE 1985), ein aggressives biologisches Verhalten zeigen und auch im Rahmen dieser Studie als besonders bösartig bewertet werden.

Womit zu dem Punkt der Wachstumsart der Tumorzellen übergeleitet werden kann.

Es zeigt sich, daß solides Wachstum der Tumorzellen mit einer deutlich erhöhten Metastasierungsrate einhergeht. In der Tumorgruppe des Untersuchungsmaterials, die Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen aufweisen, wird ein ausschließliches oder überwiegendes solides Zellwachstum in sieben Fällen beobachtet. Zweimal zeigt sich innerhalb dieser Gruppe anaplastisches Tumorzellwachstum. Konform sind diese Zahlen mit den Ergebnissen des Vergleichs von Tumortyp und vorhandenen Metastasen. Die allgemeingültige und in der Literatur häufig getroffene Aussage nach dem besonders bösartigen Verhalten solider und anaplastischer Karzinome bestätigt sich somit auch hier.

Auffällig ist weiterhin die hohe Anzahl an rein alveolärem Tumorzellwachstum einhergehend mit einer Metastasierung. 80 % der Tumoren mit alveolärem Zellwachstum haben metastasiert. Tumoren, die neben anderen Wachstumsarten, alveolär-zystisches Zellwachstum aufweisen, haben weit weniger häufig metastasiert (43 %). MISDORP et al. (1972) beobachteten in 16 von 130 klassifizierten Adenokarzinomen im histologischen Bild eine zystische Komponente. Die meisten dieser Tumoren waren gut differenziert, Lymphgefäßeinbrüche wurden selten gesehen und ihr Erscheinungsbild war insgesamt eher gutartig.

Vielleicht kann die Tendenz festgehalten werden, daß, sobald eine zystische Komponente im Tumor festgestellt wird, ein eher minder aggressives Verhalten des Tumors zu erwarten ist.

Eindeutigere Ergebnisse könnten bei der Betrachtung von invasivem Tumorzellwachstum und insbesondere der Tumorkapsel und vorgefundenen Metastasen erwartet werden, es zeigt sich jedoch, daß auch die Tumoren der Hunde, welche keine Metastasen aufweisen, zu fast dreiviertel ein invasives Zellwachstum zeigen und daß die Tumorkapseln dieser Gruppe zwar vorhanden sind, aber von Zellen infiltriert oder durchbrochen vorgefunden werden. Es würde bei diesen Hunden also durchaus die Möglichkeit bestanden haben, im Verlaufe der Tumorerkrankung Metastasen auszubilden.

Invasives Tumorzellwachstum ist in 74 % aller beurteilten Tumorproben festzustellen, wobei in 57 % der Tumoren der metastasenfreien Hunde und in 90 % der Tumoren der Hunde mit Metastasen ein Wachstum von Geschwulstzellen in die direkte Tumorumgebung sichtbar ist.

Wenn ausgeprägtes invasives Tumorzellwachstum vorliegt, lassen sich ausnahmslos Metastasen nachweisen.

Eine Tumorkapsel ist in 30 % der Fälle nicht vorhanden (diese Tumoren haben alle ausnahmslos metastasiert), in 63 % der Fälle wird sie von Tumorzellen infiltriert oder durchbrochen angetroffen und in lediglich 7 % der Fälle ist sie unversehrt vorhanden.

Interessanterweise handelt es sich bei dem einen Fall, bei dem eine unversehrte Tumorkapsel angetroffen wird, um einen Hund mit nachgewiesenen Knochenmetastasen. Es muß allerdings bemerkt werden, daß die Tumoren dieses Hundes eine ausgeprägte und regelmäßige Gefäßdurchsetzung aufweisen. Somit kann an diesem einen Fall festgemacht werden, daß auch gut abgekapselte Geschwulste, bei denen ein invasives Tumorzellwachstum nicht erkennbar ist, durchaus die Fähigkeit besitzen, Metastasen auszubilden. Es bestätigt sich hier noch einmal, wie wichtig es ist, den Tumor und speziell das Tumorstroma auf seine Gefäßdurchsetzung zu beurteilen.

BUSCH (1993) zeigte mit seinen Ergebnissen die Tendenz auf, daß invasive und expansive Karzinome annähernd gleich häufig metastasieren. Dieses läßt sich nicht zuletzt auch wegen der Unterscheidungsschwierigkeiten von invasiven und expansiven Tumoren in zweidimensionalen Schnittpräparaten (WEISS 1984) nicht bestätigen. So bleibt vor allen Dingen offen, ab wann das Wachstum einer tumorösen Veränderung als invasiv bezeichnet werden kann. Wird im Schnittpräparat eine von Tumorzellen infiltrierte oder gar durchbrochene Kapsel angetroffen, so müßte konsequenterweise und nach der Definition her schon von invasivem Wachstum gesprochen werden. Als fraglich zu beurteilen ist jedoch, eine gut abgekapselte Veränderung generell als gutartig anzusehen, was im oben beschriebenen Fall widerlegt wird und aus den Ergebnissen von BUSCH (1993) herausgezogen werden sollte.

Je stärker Nekrosen oder Blutungen im Tumor angetroffen werden, desto höher ist auch der Anteil von Fällen mit Metastasierung. Dieses deckt sich mit den Ergebnissen von GUTBERLET und RUDOLPH (1996), die unter anderem Gefäßeinbrüche in Lymph- und Blutgefäße mit Nekrosen und Blutungen im Tumor verglichen. Es scheint so, daß ausgeprägte Nekrotisierung und Blutung einen Weg für Tumorzellen in Lymph- und Blutbahnen öffnet.

Blutungen im oder am Tumor lassen sich zum einen mit einer Vulnerabilität von neu gebildeten Blutgefäßen und zum anderen mit einer Destruktion von vorhandenen Gefäßen durch infiltratives Tumorzellwachstum, was auch eine Nekrotisierung von Geweben mitsichbringt, erklären. Je ausgeprägter Blutung und Nekrose nun sind, umso mehr muß von einer großen Zahl an infiltrativ wachsenden und metastasierungsfähigen Zellen im Tumor ausgegangen werden.

Ein weiterer Aspekt ist der, daß je nach Ausmaß und Stärke einer Tumorzellinvasion in Blutgefäße lokale Kreislaufstörungen mit den Zeichen einer venösen Hyperämie, Stase und Blutungen auftreten (DOERR et al. 1978).

Werden Nekrosen und Blutungen also vermehrt im oder am Tumor angetroffen, kann von einer höheren Malignität der Veränderung ausgegangen werden.

Werden Entzündungsreaktionen und Metastasen verglichen, so zeigen 45 % der metastasierten Tumoren eine geringe und 55 % eine mäßige bis ausgeprägte Entzündungsreaktion, wobei es sich um lymphozytäre und granulozytäre Infiltrate handelt. Es läßt sich also durchaus die Tendenz erkennen, daß metastasierende Tumoren auch stärkere Entzündungsreaktionen zeigen. Dieses läßt sich allerdings dadurch erklären, daß Tumoren mit einer großen Anzahl an metastasierungskompetenten Zellen eine stärkere Nekrotisierungs- und Blutungstendenz besitzen und die Entzündungen eher als eine sekundäre Reaktion darauf zu verstehen sind.

Eine Betrachtung der Gefäßeinbrüche bzw. der Lymphangiosis und Hämangiosis carcinomatosa innerhalb eines Tumors oder in direkter Tumorumgebung soll als ein potentieller Hinweis für seine Metastasierungsgefahr verstanden werden (GUTBERLET und RUDOLPH 1996). Im vorliegenden Untersuchungsmaterial zeigen 55 % der metastasierten Tumoren eine Lymphangiosis carcinomatosa, welche besonders ausgeprägt in Fällen mit Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen sichtbar ist, und 25 % eine Hämangiosis carcinomatosa. In einem Fall, in dem keine Metastasierung in Lymphknoten oder Organe festzustellen ist, liegt eine Lymphangiosis carcinomatosa vor.

Gefäßeinbrüche in die Lymphbahnen scheint bei Mammakarzinomen ein häufigeres Ereignis zu sein als solche in die Blutbahnen. Dieses würde auch die allgemeine Aussage bestätigen, daß die Metastasierung von Mammakarzinomen primär lymphogen erfolgt (WEISS 1984, FRESE 1985), mit den vorliegenden Ergebnissen läßt sich jedoch eine primär venöse Ausbreitung von Tumorzellen aus der Gesäugeleiste nicht ausschließen, was auch durch den einen Fall mit nachgewiesenen Knochenmetastasen bei fehlenden Lymphknotenmetastasen bewiesen wäre.

Abschließend läßt sich sagen, je gründlicher und genauer eine histologische Tumorbeurteilung erfolgt, desto mehr kann auf eine potentielle Metastasierungsgefahr und somit auf die Bösartigkeit der Geschwulst geschlossen werden. Ist sich der Betrachter einer histologischen Tumorprobe darüber im Klaren, welche Befunde als besonders negativ zu bewerten sind, so läßt sich sicherlich eine tendenziell zuverlässige Aussage über den weiteren Krankheitsverlauf treffen.

Zusammenfassend sind nach vorliegenden Ergebnissen als besonders negativ zu bewerten:

1. Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa.
2. solides und anaplastisches Tumorzellwachstum
3. das Vorhandensein von Tumorroiesenzellen
4. ein polymorphes Zellbild
5. keine zystische Komponente im Tumor
6. ausgeprägtes Tumorstroma und eine große und regelmäßige Gefäßdurchsetzung des Stromas
7. mehrere Nucleoli im Zellkern
8. Nekrosen und Blutungen im oder am Tumor bzw. Entzündung

Laut VOLLMERHAUS (1984) wird die physiologische Lymphknotengröße beim Hund mit 3 bis 5 mm angegeben. Dieses erweist sich als problematisch, bedenkt man die größenmäßigen Ausprägungen der einzelnen Hunderassen.

In der vorliegenden Arbeit soll dennoch ein Vergleich zwischen der Lymphknotengröße und Lymphknotenmetastasen gezogen werden, wobei sich zeigt, daß 20 der 22 von Metastasen betroffenen Lymphknoten eine Längsausdehnung größer 5 mm haben.

Wird die Durchschnittslängenausdehnung aller mit Metastasen betroffenen Lymphknoten mit der der metastasenfremen Lymphknoten verglichen, so ergeben sich Werte von 1,94 cm zu 1,18 cm.

Dieses ist durchaus bemerkenswert, bedenkt man zusätzlich den Aspekt, daß der mit Metastasen behaftete Axillarlymphknoten mit der größten Längsausdehnung (3,5 cm) im kleinsten Hund der Studie (Yorkshire Terrier mit 3,2 kg Gewicht) gefunden wird.

Es zeigt sich also, daß die Lymphknoten, in denen Metastasen gefunden werden, durchschnittlich größer sind als solche ohne Metastasen.

Generell zu behaupten, daß Tumormetastasen im Lymphknoten immer mit einer Vergrößerung desselben einhergeht, wird von zwei Fällen der Untersuchung widerlegt, bei denen sich je in linkem und rechtem Lymphknoten ausgedehnte Metastasen finden lassen. Einmal ist die Längsausdehnung des linken Lymphknotens mehr als dreimal so groß wie die des rechten, obwohl dieser mit gleicher Ausprägung Metastasen enthält und das andere Mal ist der linke sogar mehr als viermal größer als der rechte metastasenbehaftete Lymphknoten.

Auch haben Mikrometastasen keinen Einfluß auf eine Lymphknotenvergrößerung.

Werden die metastasenträgenden Lymphknoten nach weiteren Befunden beurteilt, so fällt auf, daß in 59 % der Fälle zusätzlich Blutungen im Lymphknoten, in 50 % der Fälle zusätzlich Nekrosen und in 9 % der Fälle zusätzlich eine Hyperplasie des Lymphknotens gesehen wird.

Wird nun weiter davon ausgegangen, daß Blutungen und Nekrosenbildung Charakteristika von aggressiv wachsenden Tumoren sind, so kann bestätigt werden, daß diese Charakteristika auch in den Metastasen der entsprechenden Tumoren zu finden sind.

Grundsätzlich von einer Beziehung zwischen Blutungen und Metastasenbefund im Lymphknoten auszugehen, ist sicherlich falsch, da es die verschiedensten Gründe für eine Lymphknotenblutung gibt (wie zum Beispiel nicht tumorös bedingte Blutungen im Einzugsgebiet des Lymphknotens) und auch immerhin 41 % der metastasenpositiven Lymphknoten keine zusätzlichen Blutungen aufweisen. So lassen sich auch bei einem nicht geringen Anteil metastasennegativer Lymphknoten als Nebenbefunde Blutungen nachweisen.

Schon eher denkbar ist ein direkter Zusammenhang zwischen Lymphknotennekrosen und Lymphknotenmetastasen eines malignen Mammatumors. Zum einen zeigen gerade die Tumoren, die ausgedehnt metastasiert haben, zum Teil ausgeprägte Nekrosenbildung. Zum anderen muß bedacht werden, daß wenn der regionale Lymphknoten als erste Auffangstation für Tumorzellen und somit auch als der Ort, an dem eine erste effektive Immunantwort auf metastasierende Zellen stattfindet, verstanden wird, eine Erschöpfungsreaktion der immunkompetenten Zellen im Lymphknoten bei einer zunehmenden „Tumorlast“ stattfindet. Histologisch zeigt sich ein solcher Lymphknoten im Endstadium mit einem lymphozytären Substanzverlust, Fibrosen, Nekrosen und einem Ersatz seines Parenchyms mit Tumorzellen (CARR 1983, CARR et al. 1987, TACHIBANA und YOSHIDA 1986).

Interessant zu betrachten wird dieses Phänomen unter dem Aspekt, wenn angenommen wird, daß ein regionärer Lymphknoten im Einzugsgebiet eines metastasierenden Tumors nur eine effektive Immunantwort auf einen begrenzten Tumordruck geben kann, was meistens nur im Anfangsstadium einer Tumorerkrankung der Fall ist (zum Beispiel wenn der Tumor noch nicht klinisch sichtbar ist) (FIDLER et al. 1975, FISHER und FISHER 1971, FISHER und FISHER 1972, FISHER et al. 1975, YAITA et al. 1988, YOSHIDA und TACHIBANA 1985). Der Lymphknoten zeigt als Anzeichen für eine Antigenaufnahme und -verarbeitung eine lymphatische Hyperplasie, die, trotz fehlenden Tumorzellen oder Mikrometastasen im Lymphknoten, auf einen direkten oder indirekten Tumorzellkontakt des Lymphknotens schließen lassen würde.

Ein praktischer Wert entsteht dadurch noch lange nicht. Beachtung sollten hyperplastische Lymphknoten im Einzugsgebiet von Geschwulsten jedoch finden, denn ein nicht geringer Anteil an metastasennegativen Lymphknoten zeigt im Rahmen der Studie eine Hyperplasie, was natürlich nicht als beweisendes Kriterium für einen Antigen- bzw. Tumorzellkontakt des Lymphknotens gewertet werden sollte, schließlich ist ja auch Entzündung als mögliche Grundlage für die Hyperplasie möglich.

In diesem Zusammenhang interessiert die Größe einer Lymphknotenmetastase, wobei hierfür die Befunde der Immunfärbungen hinzugezogen werden, da genauere Angaben über positive Tumorzellen im Lymphknoten gemacht werden können.

In zehn Lymphknoten werden weit mehr als 251 Tumorzellen nachgewiesen, die normale Struktur des Lymphknotens ist weitgehend aufgehoben und der gesamte Lymphknoten wird von Tumorzellen ausgefüllt. Es handelt sich also um Lymphknoten im Endstadium ihrer Funktion, mit einem lymphozytärem Substanzverlust und einem Ersatz ihrer Parenchyme mit Tumorzellen.

Auf der anderen Seite weisen eine nicht unerhebliche Anzahl an Lymphknoten Mikrometastasen in unterschiedlicher Ausprägung auf. Teilweise werden im und in direkter Lymphknotenumgebung nur eine Tumorzelle oder ein Zellverband von zwei Tumorzellen angetroffen, teilweise sieht man Mikrometastasen in der Ausprägung von Zellverbänden bis zu 50 Tumorzellen.

Werden im Lymphknoten nur einzelne und einige wenige Tumorzellen angetroffen, so handelt es sich sicher um eine Momentaufnahme und es besteht kein Zweifel darüber, daß es sich um ein passageres Phänomen im Metastasierungsprozeß handelt, wie dies auch von STOSIEK et al. (1996) so gesehen wird. Das Schicksal dieser einzelnen Tumorzellen ist somit noch unklar; werden sie von der körpereigenen Immunabwehr beseitigt oder können sie sich als manifeste Metastase absiedeln? Sobald diese Frage nicht mit erschöpfender Sicherheit geklärt werden kann, sind sie als potentielle Metastase zu betrachten und verdienen natürlich höchste Aufmerksamkeit.

Ein Lymphknoten mit nur einer einzigen Tumorzelle ist als metastasenpositiv zu betrachten (DOERR 1984, HUEBNER 1984).

Auf die prognostische Bedeutung einer Mikrometastase bzw. einer einzelnen positiven Zelle im Lymphknoten soll und kann im Rahmen dieser Arbeit nicht eingegangen werden.

Welchen Stellenwert haben nun Axillarlymphknotenmetastasen?

Um diese Frage beantworten zu können, sollen zunächst einmal die Ergebnisse dieser Studie mit Ergebnissen aus Untersuchungen über Inguinallymphknotenmetastasen bei Mammakarzinomen verglichen werden.

Im Rahmen der vorliegenden Studie werden bei 70,4 % der untersuchten Hunde Axillarlymphknotenmetastasen oder -mikrometastasen nachgewiesen.

BUSCH (1993), der sich der gleichen immunhistochemischen Methode, wie sie in der vorliegenden Arbeit verwendet wird, bediente, wies in 85,7 % seiner untersuchten Inguinallymphknoten von Hündinnen mit malignen Mammatumoren Metastasen oder Mikrometastasen nach. Nach einer Literaturzusammenstellung von MOULTON (1990) metastasieren 64 % der Mammatumoren in die regionären Lymphknoten.

Wird ein Mittelwert der Zahlen von BUSCH und MOULTON gebildet, so erhält man annähernd einen Wert, der sich in der vorliegenden Studie für Axillarlymphknoten ergibt. Die Metastasierungsquoten für Axillarlymphknoten und Inguinallymphknoten liegen also unbedeutend weit auseinander.

Bedenkt man zusätzlich die möglichen lymphatischen Abflußwege in der Gesäugeleiste, so kommt man zu dem Schluß, daß ein Mammatumor, egal wo er in der Leiste lokalisiert ist, praktisch in die Axillarlymphknoten metastasieren kann. Für eine Metastasierung in die Inguinallymphknoten ist dieses nicht gleichermaßen möglich, da keine lymphatische Anastomose vom ersten thorakalen Gesäugekomplex zu anderen Komplexen besteht (SAUTET et al. 1992).

Unabhängig von der Häufigkeit im Vorkommen von Mammatumoren in der Gesäugeleiste, die bekanntlich von kranial nach kaudal zunimmt und auch in dieser Studie so bestätigt wird, kann ein im zweiten abdominalen und inguinalen Mammarkomplex lokalisierter Mammatumor in die Axillarlymphknoten, ein im ersten thorakalen Komplex gelegener Tumor jedoch nicht in die Inguinallymphknoten metastasieren.

Die hohen Metastasierungsraten in die Axillarlymphknoten belegen diese Tatsache.

Wird nun dem Kliniker empfohlen, Mammatumoren in einem frühen Stadium zu operieren, wobei hierbei die Herausnahme der gesamten betroffenen Mammarleiste inklusive der Inguinallymphknoten bevorzugt wird, müßten konsequenterweise die Axillarlymphknoten mit exstirpiert werden. Aufgrund der gegebenen anatomischen Schwierigkeiten und damit Risiken einer solchen Operation behält sich der Chirurg vor, die Axillarlymphknoten zu belassen.

Diese Situation stellt, bedenkt man die hohen Metastasierungsraten in die Axillarlymphknoten, die zur Zeit empfohlene und praktizierte chirurgische Behandlung von Mammatumoren in Frage, da auch bei allen Tieren der Studie, denen gesamte Gesäugeleisten entfernt wurden, ausnahmslos Axillarlymphknotenmetastasen nachgewiesen werden können.

Kann dem praktischen Tierarzt nun zugemutet werden, in Abwägung der möglichen Risiken aufgrund des problematischen Operationsgebietes eine Axillarlymphknotenextirpation in Betracht zu ziehen? Es kommt erschwerend hinzu, daß bei jedem vierten Hund ein Lymphonodus axillaris accessorius vorkommt (VOLLMERHAUS 1984, SAUTET et al. 1992, EVANS 1993, ROGERS et al. 1993), welcher sogar dem Axillarlymphknoten vorgeschaltet ist (GILSON 1995) und dementsprechend, wie die vorliegende Studie zeigt, auch tumormetastasenpositiv sein kann.

Vielleicht können die Überlegungen zu den folgenden Ergebnissen der Knochenmetastasen, diese Fragen, wenn auch nicht endgültig, so doch zum Teil, beantworten.

Die Metastasierungsrate in die Knochen beträgt 44,4 %. Ein Fall der Studie weist neben einer Knochenmetastasierung keinerlei andere Metastasen auf.

Wird die Metastasierungsrate dieser Studie in die Knochen mit denen in der veterinärmedizinischen Literatur angegebenen Werten verglichen, so ergibt sich eine viel höhere Rate, die sich Angaben aus der Humanmedizin annähert. Beim Brustkrebs der Frau wird von 20-70 % Knochenmetastasierung ausgegangen (JOHNSTON 1970).

MOULTON (1990) gibt für Metastasierungen in das Skelettsystem bei malignen Mammatumoren des Hundes einen Wert von 10 % an, MISDORP und DEN HERDER (1966) fanden in lediglich 10 von 114 Hunden (entspricht 8,8 %) mit Mammatumoren Knochenmetastasen.

Mit dem immunhistochemischen Nachweis von Mammakarzinomzellen im Knochen wird die von vielen Autoren geäußerte Annahme bewiesen, daß eine Metastasierung von Tumorzellen in das Skelett eine bis heute unterbewertete Dimension hat.

Betrachtet man allerdings die Größe der Veränderungen bzw. die Anzahl der Tumorzellen im Knochen, so wird deutlich, warum bis zum heutigen Zeitpunkt Knochenmetastasen als seltenes Ereignis angesehen werden. Bei der überwiegenden Zahl der Knochenschnitte werden lediglich Veränderungen, die eine Größe von unter 50 Tumorzellen haben, nachgewiesen. Auch in den immerhin 16 Knochenschnitten, in denen im oder am Knochen Zellverbände von weit mehr als 251 Tumorzellen zu sehen sind, handelt es sich um Veränderungen und Areale relativ kleinen Ausmaßes. Ob sich diese gefundenen Metastasen makroskopisch sichtbar oder in bildgebenden diagnostischen Verfahren dargestellt hätten, wird in der Mehrzahl der Fälle bezweifelt.

Auch GOEDEGEBUURE (1979) fand in seiner Studie über canine bösartige Tumoren mit Knochenmetastasen teilweise nur kleine Sekundärgeschwulste in der Knochenmarkhöhle. Desweiteren beobachtete er in einer Vielzahl von Fällen keinerlei klinische Anzeichen, die auf eine Knochenmetastasierung hingedeutet hätten.

Für BRODEY et al. (1966), JACOBSON (1971), KAS et al. (1969) und OWEN (1962) werden sekundäre Knochenmetastasen beim Hund deshalb selten diagnostiziert, weil ihre komplette metastatische Ausprägung sich oft nicht entwickeln kann, bevor der Hund stirbt oder getötet wird, was mit der vorliegenden Arbeit ebenfalls bestätigt werden kann.

Metastatische Veränderungen im Knochen verhalten sich ihrer Natur nach osteolytisch oder osteoklastisch (CAMPANACCI 1991, PHARR 1994). Beide Formen führen zu Funktionsverlusten des Knochens, sind sie in ausreichender Größe vorhanden.

In den Knochen eines Hundes der Studie können Tumorzellareale mit einer starken Nekrotisierungstendenz gefunden werden. Lokalisiert sind sie in der Knochenmarkhöhle und in der Substantia spongiosa. Die Substantia compacta des Knochens ist nicht angegriffen. Ein Voranschreiten des Krankheitsprozesses und somit ein Übergreifen auf Hartbestandteile des Knochens hätte in diesem Fall sicherlich zu Funktionseinschränkungen oder -verlusten im Bewegungsapparat geführt, was sich demnach auch in klinischer Symptomatik geäußert hätte.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß beim Mammakarzinom des Hundes die Metastasierung von Tumorzellen in das Skelettsystem häufiger stattfindet, als bisher angenommen. Allerdings stehen Größe und Art der gefundenen Läsionen einer möglichen frühzeitigen klinischen Erkennung im Wege, sodaß ihre klinische Bedeutung vorerst in Frage gestellt werden kann.

Vielleicht mag in diesem Zusammenhang verwundern, daß bei einer nicht geringen Anzahl an Hunden (29,65 %) Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen nachgewiesen werden können, wobei in dieser Gruppe die Lungenmetastasen größtenteils ausgeprägt vorliegen und einen weitgehenden Verlust des funktionellen Organgewebes erkennen lassen. Hypothetisch wären diese Hunde also eher einem Lungenversagen erlegen, als daß sich Funktionseinschränkungen im knöchernen Bewegungsapparat gezeigt hätten.

Bei ausgeprägter Lungenmetastasierung und nachgewiesenen Knochenmetastasen kann von einer vorwiegenden Verbreitung der Tumorzellen nach dem Cava-Typ der Metastasierung ausgegangen werden, wobei hier das Metastasierungsmuster durch anatomische Gegebenheiten bestimmt wird.

Betrachtet man die Lokalisationen der nachgewiesenen Knochenmetastasen, so fällt die überwiegende Absiedelung der Tumorzellen im Knochenmark auf, bekanntermaßen ein häufiger Metastasierungsort für eine Reihe von Karzinomen beim Menschen (ORUZIO et al. 1997). Insgesamt werden 60 % der immunpositiven Reaktionen im Knochen (Knochenmark, Substantia spongiosa und Substantia compacta) gefunden. Die Hartbestandteile des Knochens, also Substantia compacta mit Haverschen Kanälen, scheinen jedoch selten von einer Metastasierung betroffen zu sein. In einem Fall läßt sich Tumorzellwachstum von periostär her in die Substantia compacta und Haverschen Kanäle finden. Hier lassen sich auch auffällig oft Tumorzellemboli in Lymph- und Blutgefäßen in direkter Knochenumgebung nachweisen.

46 % der positiven Reaktionen in den langen Röhrenknochen sind diaphysär, 35 % metaphysär und 19 % epiphysär lokalisiert. Die Diaphyse der langen Röhrenknochen erfährt eine intensive Durchblutung durch Vasa nutritia, die gleichzeitig die größten Gefäße des Knochens sind und auch die Markräume versorgen.

Die Angaben über die Absiedelung von Tumorzellen in den bestimmten Abschnitten von Humerus und Femur decken sich zum Teil mit denen aus der Literatur (RUSSELL und WALKER 1983, PHARR 1994), zum Teil werden andere Lokalisationen angegeben (GOEDEGEBUURE 1979).

Als letzter Diskussionspunkt interessiert die Bewertung der Fernmetastasen in Beziehung zu den Axillarlymphknotenmetastasen.

Insgesamt sind 74,05 % aller Hunde mit malignen Mammatumoren von einer Metastasierung betroffen, also fast drei Viertel aller Hunde.

Davon haben bezogen auf die Gesamtanzahl an Hunden nur Lymphknotenmetastasen 11,1 %, nur Knochenmetastasen 3,7 %, Lymphknoten- und Knochenmetastasen 11,1 %, Lymphknoten- und Lungenmetastasen 18,5 % sowie Lymphknoten-, Knochen- und Lungenmetastasen der größte Anteil an Hunden, nämlich 29,65 %.

Die Zahlen machen deutlich, daß der Großteil an Hunden mehr als einen Absiedelungsort von Tumorzellen aus der Mammaleiste aufweist.

Die folgenden Aspekte sollen nun die auch schon weiter oben angesprochenen Fragen nach dem Sinn einer chirurgischen Mammatumorbehandlung vertiefen.

Das naheliegende und ultimative Ziel einer Mammatumorbehandlung sollte die Entfernung und histologische Befundung eines bösartigen Primärherdes sein. Bei der Abschätzung und Beurteilung der Aggressivität und somit auch der Metastasierungspotenz des Tumors können die in der vorliegenden Studie herausgearbeiteten Kriterien hinzugezogen werden. Als Grundvoraussetzung gilt es also, zu erkennen, welche Tumorzellen als besonders bösartig zu bezeichnen sind oder welche Tumorzellen sich besonders bösartig verhalten werden. Dabei hilft die sorgfältige Befundung des Tumortyps und seines histologischen Erscheinungsbildes. Man kann zu dem Schluß kommen bzw. es muß immer bedacht werden, daß eine Entfernung des Tumors die Überlebenszeit des Patienten nicht zwingend verlängern muß. Dieses ist abhängig davon, wie aggressiv eine Geschwulst beurteilt wird und unabhängig davon, ob Metastasierungen vorliegen.

Was macht nun eine für den Patienten negativ bedeutsame Lymphknotenmetastase aus?

Untersuchungen aus der Humanmedizin ergaben, daß für die Hälfte bis zu Zweidrittel der Brustkrebspatientinnen mit histologisch erkennbaren Lymphknotenmetastasen hierfür keine klinische Bedeutsamkeit besteht (CADY 1984, RIES et al. 1994).

Ein zweiter Faktor ist, daß eine effektive Entfernung metastasenbehafteter Lymphknoten die Überlebenszeit oft nicht positiv beeinflusst (GILSON 1995). Hierbei spielt eine entscheidende Rolle, daß eine Tumorstreuung in lebenswichtige Organe normalerweise die Todesursache ist, während metastasenpositive regionale Lymphknoten keinen Einfluß auf die Mortalität eines Betroffenen besitzen. Eine prophylaktische oder therapeutische Lymphadenektomie bei vorhandenen Fernmetastasen scheint von fraglichem Wert zu sein, sollte sich doch in dieser Situation jegliche Therapiebemühung gegen den systemisch ausgebreiteten Tumor richten. Gäbe es in der Veterinärmedizin effektive Therapieansätze gegen systemische Metastasen, könnte natürlich auch die prophylaktische oder therapeutische Behandlung eines metastasenbehafteten Lymphknotens an Bedeutung gewinnen.

Gerade weil die Vergesellschaftung von Lymphknotenmetastasen mit anderen Fernmetastasen, wobei es sich hier insbesondere um ausgedehnte Lungenmetastasierungen handelt, bei einem bedeutsam großen Anteil an Hunden zu beobachten ist, kommen in diesen Fällen chirurgische Therapieansätze nicht in Frage.

Knochenmetastasen scheinen von geringerer klinischer Bedeutsamkeit zu sein, hingegen weisen Hunde mit nachgewiesenen Tumorzellen im Skelettsystem wiederum oft Lungenmetastasierungen auf.

Eine Therapieentscheidung muß also individuell getroffen werden; das heißt, sind Fernmetastasen klinisch präsent, entfällt ein chirurgischer Therapieansatz. Kann eine systemische Tumorzellausbreitung weitgehend ausgeschlossen werden, was oft in Verbindung mit einer zeitlich begrenzten Krankheitsdauer und somit mit einem Krankheitsprozeß im Anfangsstadium steht, kommt eine chirurgische Therapie in Frage, wobei konsequenterweise alle regionalen Lymphknoten mit entfernt werden müssen. Auf die Schwierigkeiten, die hierbei bestehen, wurde schon eingegangen.

Es wird deutlich, daß bei einer möglichst frühen Erkennung einer tumorösen Erkrankung in der Gesäugeteile des Hundes eine kurative Therapie am effektivsten greifen kann. Der Diagnose eines Tumors in möglichst frühen Stadien seines Voranschreitens muß höchster Priorität gewährleistet werden. Ein frühzeitig erkannter Tumor weist möglicherweise ein geringeres Potential an zellulärer Heterogenität und auch metastatischer Kompetenz auf und ist somit auch effektiver beherrschbar.

Es könnten nun auch, neben der radikalen Beseitigung aller Tumorzellen, was sich bei früh metastasierenden und invasiv, ohne Abkapselung wachsender oder allgemein als sehr aggressiv erkannten Tumoren sowieso als schwierig erweist, alternative Therapieansätze zusätzlich in Betracht gezogen werden. Die Blockierung der Expression bestimmter prometastatischer oder angiogenetischer Phänotypen (KHOKHA et al. 1992), eine zytotoxische Chemotherapie gegen Mikrometastasen (OGILVIE et al. 1993) oder innovative Strategien, die auf eine Veränderung der Mikroumgebung bestimmter Zielorgane (zum Beispiel pulmonale Stromazellen) und somit Interaktionen zwischen metastasierenden Tumorzellen und der Mikroumgebung des Zielorgans inhibieren (CULLEN et al. 1992), seien in diesem Zusammenhang genannt.

Um von solchen neuen Therapieformen Gebrauch machen zu können, ist das Wissen über zu erwartende Ausbreitungsmuster bestimmter Tumoren von außergewöhnlicher Wichtigkeit.

Zuletzt sollen zwei Theorien über die Verbreitung von Tumorzellen im Organismus genannt werden, welche die generelle Entfernung des Primärtumors und tributärer Lymphknoten in Frage stellt.

Eine erste Theorie besagt, daß regionäre Lymphknoten anatomisch gesehen eine ineffektive Barriere für metastatisch kompetente Tumorzellen darstellen, das heißt, der Lymphknoten wird zum größten Teil von Tumorzellen passiert und es findet ihre rasche systemische Verbreitung statt (WATERS 1995). In diesem Falle würde ein regionaler Lymphknoten, in dem Tumorzellen nachgewiesen werden können, dem Therapeuten als Indikator für das biologische Verhalten des Primärtumors dienen und es wäre ein multidisziplinärer systemischer Therapieansatz angebracht.

In einer zweiten Theorie wird die Proliferation von Metastasen vom Primärtumor reguliert. In Tierversuchen konnte nachgewiesen werden, daß die Entfernung des Primärtumors ein Voranschreiten von Metastasen bedingt (FISHER et al. 1983). Systemische Metastasen scheinen vom Primärtumor in ihrem Wachstum inhibiert zu werden; ihre Proliferation hängt davon ab, ob der Primärherd „intakt“ ist oder nicht. Für den Hund oder den Menschen wurde dieses Phänomen noch nicht beschrieben und es müßte beim Zutreffen dieses Phänomens der zum jetzigen Zeitpunkt übliche Therapieansatz bei Krebserkrankungen überdacht werden.

5. Zusammenfassung

Mammatumoren bei der Hündin: Immunhistochemischer Nachweis von Metastasen und Mikrometastasen im Axillarlymphknoten und im Knochen

182 Mammagewebebeurteilungen, 118 Axillarlymphknoten- und Anhangslymphknotenproben und 526 Knochenproben sowie zusätzlich weitere Routineproben von 27 Hündinnen mit malignen Mammatumoren der Sektionen aus dem laufenden Sektionsgut des Institutes für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin der Jahre 1996 und 1997 werden histologisch und immunhistologisch untersucht. Für die Immunhistochemie wird die APAAP-Methode und der Zytokeratinantikörper AE-1 verwendet.

Die Terrier sind mit einem Anteil von 19 %, die Dackel mit einem Anteil von 15 % unter den Rassen in diesem Untersuchungsgut vertreten. Der größte Anteil (40 %) ergibt sich für Mischlingshunde. Das Durchschnittsalter der Hunde beträgt 11,3 Jahre.

Alle Mammagewebebeurteilungen werden nach HE-Anfärbung befundet und klassifiziert. Es ergeben sich 27 Hauptdiagnosen bei insgesamt 40 Diagnosen der malignen Mammatumoren aller 27 Mammaleisten. Es liegen als Hauptdiagnosen neun Adenokarzinome, neun Adenokarzinome mit Myoepithelhyperplasie, vier solide Karzinome, zwei komplexe Karzinome, zwei anaplastische Karzinome und ein Kollisionstumor/Karzinom vor.

In fast allen Fällen liegt ein multiples Tumorwachstum in den Gesäugeleisten vor und es zeigt sich von kranial nach kaudal innerhalb der Komplexe eine stetige Zunahme von malignen Mammatumoren.

Alle 118 Lymphknotenproben werden nach HE- und Immunfärbung befundet und es ergibt sich für die HE-gefärbten Lymphknoten eine metastasenpositive Rate von 40 %, während die immungefärbten Lymphknoten zu 54 % metastasenpositiv sind. Die immunhistochemische Färbemethode erweist sich der konventionellen Methode zum einen im Auffinden von Mikrometastasen in Lymphknotengewebe und zum anderen im Festlegen der genauen Anzahl und Lokalisation von Tumorzellen im Lymphknoten als überlegen. Die Absiedelung von Tumorzellen gibt die physiologische Durchflußrichtung im Lymphknoten wieder, so finden sich in 29 % der Fälle Mammatumorzellen im Randsinus, in Randsinusknähe und in der Rindenzone des Lymphknotens gegenüber 12 % in der Markzone. Ein Lymphknoten mit nur einer einzelnen Tumorzelle ist als metastasenpositiv zu betrachten, da der Nachweis einer einzigen Tumorzelle als potentiell manifeste Metastase angesehen werden muß.

Die 526 Knochenproben der insgesamt 199 Knochen der 27 Hunde weisen nach immunhistochemischer Anfärbung in 14 % Metastasen bzw. Mikrometastasen eines Mammatumors auf. Für die Knochenprobenentnahme werden aus der Literatur bekannte Prädispositionsstellen für Knochenmetastasen gewählt und es werden insgesamt in zehn Humerusknochen, fünf Femurknochen, neun Beckenknochen und vier Lendenwirbelknochen sowie einem Sternum Metastasen nachgewiesen. 60 % der positiven Reaktionen sind im Knochenmark, in der Substantia spongiosa und der Substantia compacta lokalisiert, wobei hier die meisten Reaktionen im Knochenmark zu finden sind. 40 % der positiven Reaktionen befinden sich in der direkten Knochenumgebung (periostal). In den langen Röhrenknochen befinden sich 46 % der positiven Reaktionen in der Diaphyse, 35 % in der Metaphyse und 19 % in der Epiphyse.

Die Metastasierungsraten bezogen auf das Gesamtkollektiv der 27 Hunde mit malignen Mammatumoren betragen für Axillarlymphknotenmetastasen 70,4 % und für Knochenmetastasen 44,4 %, wobei den nachgewiesenen Knochenmetastasen vorerst keine klinische Bedeutung beigemessen wird.

Der Tumortyp hat eine große Bedeutung für die Metastasierung von Tumorzellen sowohl in die Lymphknoten als auch in die Knochen. Besonders aggressiv verhalten sich solide und anaplastische Karzinome, während Karzinome, welche eine hyperplastische Myoepithelkomponente aufweisen, geringe Metastasierungsraten zeigen.

Eine genaue und sorgfältige Tumorbeurteilung erweist sich für die Abschätzung einer potentiellen Metastasierungsgefahr einer Geschwulst als unerlässlich.

Als besonders negativ sind im histologischen Tumorbild hierbei zu bewerten:

Lymph- und Hämangiosis carcinomatosa, solides und anaplastisches Tumorzellwachstum, das Vorhandensein von Tumorriesenzellen, ein polymorphes Zellbild, keine zystische Komponente im Tumor, ausgeprägtes Tumorstroma sowie eine ausgeprägte und regelmäßige Gefäßdurchsetzung des Tumorstromas, mehrere Nucleoli im Zellkern sowie Nekrosen und Blutungen bzw. Entzündungsreaktionen im oder am Tumor.

Ein Mammatumor, der im kaudalen abdominalen oder inguinalen Mammarkomplex zu finden ist, kann in die Axillarlymphknoten metastasieren. Dieses, die hohen Metastasierungsraten in die Axillarlymphknoten und ferner die Tatsache, daß bei allen mammektomierten Tieren der Studie Axillarlymphknotenmetastasen nachgewiesen werden konnten, stellen die zum heutigen Zeitpunkt übliche chirurgische Mammatumorbehandlung, nämlich die Mammektomie mit lediglich inguinaler Lymphknotenexstirpation, in Frage.

Bei der Metastasierung von Tumorzellen über den Blutweg in die Knochen sind die klappenlosen Venen des vertebralen Venenplexus beachtenswert. Zum einen lassen sich so hohe Metastasierungsraten in die Knochen erklären, die in der veterinärmedizinischen Literatur scheinbar zu niedrig angesiedelt sind. Zum anderen kann direkt eine Tumorzellausbreitung von der Mammarleiste beispielsweise in die Knochen des Axialskeletts erfolgen, ohne daß der Weg der Tumorzellen über die Lunge führt.

Die Lymphknoten, Knochen und Lungen fast dreiviertel aller Hunde sind von einer Metastasierung ausgehend von einem primären Mammatumor betroffen, wobei es sich in den meisten Fällen um Kombinationen von Lymphknoten- und Fernmetastasen handelt. Sind Metastasierungen in lebenswichtige Organe klinisch manifest, so entfällt ein chirurgischer Therapieansatz bei der Mammatumorbehandlung.

6. Summary

Mammary carcinoma of the bitch: Immunohistochemical detection of metastases and micrometastases in the axillary lymph nodes and bones.

182 samples of mammary tissue, 118 samples of axillary and axillary accessory lymph nodes as well as 526 bone samples and further routine tissue samples were collected from 27 bitches with malignant mammary tumours submitted for autopsy to the Institute of Veterinary Pathology of the Freie Universität Berlin in the years 1996 and 1997. These samples were investigated histologically and immunohistologically. Immunohistochemistry is carried out with the alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase (APAAP) method and the anti-cytokeratin antibody AE1.

Among the breeds, terriers are affected in 19 % of the cases, dachshounds in 15 %. Mongrels are most frequently affected (40 %). The average age of the dogs is 11.3 years.

All tissue samples of the mammary gland were routinely stained with H&E and the tumours were classified. 27 main diagnoses stand against 40 diagnoses of malignant mammary tumours altogether in 27 mammary chains. Of the main diagnoses there are nine adenocarcinomas, nine adenocarcinomas with hyperplasia of myoepithelium, four solid carcinomas, two complex carcinomas, two anaplastic carcinomas and one collusion tumour/carcinosarcoma.

In nearly all cases, there is multiple tumour growth in the mammary chains. The number of malignant tumours grows steadily from cranial to caudal localisation.

All 118 lymph node samples are stained with H&E and immunohistochemically and diagnosed. The rate of metastasis in the lymph nodes is 40 % in the H&E stain, whereas the immunostained lymph nodes are positive for metastasis in 54 % of cases. The immunohistochemical staining method is superior to the conventional method in so far as it reveals more micrometastasis and it aids in determining the exact number and localisation of tumour cells in the lymph nodes. The localisation of tumour cells is orientated in the direction of the lymph flow through the lymph node. Thus 29 % of cases show tumour cells in the marginal sinus, near the marginal sinus or in the cortex, whereas 12 % of metastasis are located in the medullary zone. A lymph node with only one tumour cell is to be considered positive for metastasis, as the detection of a single tumour cell must be considered as a possible manifest metastasis.

In 526 bone samples of 199 bones of 27 bitches, immunohistochemical staining reveals 14 % of the samples with metastasis or micrometastasis of a mammary tumour. The selection of the bone samples is done from predilection sites according to the literature. Ten humeri, five femur bones, nine pelvic bones and four lumbal vertebrae as well as one sternum show metastasis.

60 % of the positive reactions are found in the bone marrow, the spongiosa and the compacta with most of the reactions localised in the bone marrow. 40 % of positive reactions are localised directly around the bones. In the long bones, 46 % of positive reactions are in the diaphysis, 35 % in the metaphysis and 19 % in the epiphysis.

The rate of metastasis related to the collective of the 27 bitches with malignant mammary tumours is for axillary lymph node metastasis 70.4 %, for bone metastasis 44.4 %. The bone metastases are presently not considered to be clinically relevant.

The type of tumour is of major importance for metastasis of tumour cells in lymph nodes and in bones. Especially aggressive are solid carcinomas and anaplastic carcinomas, whereas adenocarcinomas with hyperplasia of myoepithelium show a lower rate of metastasis.

An exact and thorough diagnosis of the tumour is necessary for the evaluation of the potential danger for metastasis. Particular negative in the prognosis in histologic tumour assessment are thereby: lymph- and hemangiosis carcinomatosa, solid and anaplastic tumour growth, the presence of tumour giant cells, polymorphous cells, no cystic component of the tumour, abundant stroma, tumours interspersed regularly and abundantly with vessels, multiple nucleoli, necrosis and hemorrhage or inflammatory reactions in and around the tumour.

A mammary tumour located in the caudal abdominal or inguinal mammary complex has the potential to metastasize to the axillary lymph node. This, the high rate of metastasis to the axillary lymph nodes and the fact, that in all mamectomised bitches metastases to the axillary lymph nodes were found, presently pose a question mark to the usual surgical treatment of the mammary tumours, that is the extirpation of the mammary chain with the inguinal lymph nodes.

In metastasis of tumour cells via the blood to the bones, the vertebral vein plexus that contains veins without valves is to be noted. This makes it possible to explain high rates of metastasis to the bones, that are apparently considered too low in veterinary literature. Furthermore, a direct spread of tumour cells to the bones of the axial skeleton would be possible without the tumour cells passing the lungs.

Organs of nearly three quarters of the bitches are affected by metastasis following a primary tumour of the mammary gland. Most cases show a combination of lymph node metastasis and metastasis to other organs. If metastasis into organs essential for life functions are present, a surgical therapy is not indicated.

7. Anhang

Tabelle 1: Vorstellung der Hunde (zu **Kap. 3.2.1.**)

Sek Nr.	Rasse	G	A/J	Gew kg	klin. Anamnese	path anatom+histolog Bef zusätzl. zu Mt mit Met
S 1192/96	American-Staffordshire Terrier	w	5	26	Unruhe, Tachypnoe, Speichelfluß, Exitus; Vergiftungsverdacht	Cor pulmonale; Herzhypertrophie; Pankreasabszesse; Ovarialzysten
S 1052/96	Pitbull Terrier	w	5	23	Aszites (3 l); euthanasiert	Hämangiosarkom in multiplen Organen und Lk
S 897/96	DSH	w	8	27	Inappetenz, Dyspnoe, Umfangsvermehrung Abdomen; euthanasiert	Paragangliom an der Herzbasis mit Metastasen in Lunge und Nieren
S 497/96	RHT	w	10,8	12,8	Mt-OP; Cushing-Syndrom; euthanasiert	Hypophysenadenom; Herzklappenfibrose
S 648/96	Spitz Mix	w	14,0	7,96	Mt rechts; Kolik; Aszites; euthanasiert	Hämoperitoneum; Herzklappenfibrose; Nephritis
S 691/96	RHT	w	15	?	Leukozytose; Leberversagen; euthanasiert	Leukose; Nephritis; Mitralklappenfibrose
S 764/96	DSH	w	11	?	Mt; Laufbeschwerden; Apathie; euthanasiert	Herzhypertrophie; Niereninfarkte
S 1342/96	Schnauzer-Terrier Mix	w	14	9	Unterhautblutungen, blasse Schleimhäute; Exitus	follikuläre Atrophie der Milz; Lungenödem; Adipositas; Nephritis
S 1348/96	Cocker-Spaniel	w	12,3	15,5	offene Mt; euthanasiert	chron. Nephrose; Adipositas
S 1465/96	RHT	w	11,5	9,5	V.a. Lebertumor; Apathie; euthanasiert	Nebennierentumor mit Metastasen in der Leber
S 1386/96	Rottweiler	w	10,5	35	Mt; euthanasiert	maligne Lymphome in der Milz
S 1633/96	Rottweiler Mix	w	12	25	Z.n. Mtextirpation; Kachexie; euthanasiert	multiple Fibrosarkome; Lipome; Muskelatrophie
S 97/97	Pitbull Terrier	w	10	34	Z.n. Mammektomie li+re Gesäugeleiste; Atemnot; euthanasiert	Endometritis; Ovarialzysten; Unterhautödeme; Leberzellikterus
S 161/97	Vorstehhund	w	14	16,9	Atersschwäche; euthanasiert	Pyelonephritis; Herzklappenfibrose
S 266/97	Schnauzer Mix	w	10	12,5	Mt beide Mammarleisten; euthanasiert	Pankreastumor mit Metastasen in der Lunge
S 277/97	DSH Mix	w	10	26	Tumor im Abdomen; Mt; euthanasiert	Hämangiosarkom Milz; Bronchopneumonie
S 285/97	Terrier Mix	w	10	?	Mt; Laufbeschwerden; euthanasiert	Milztumor; Pyometra; Ikterus; allgem. Venenstau
S 301/97	Terrier Mix	w	14	15	Mt; euthanasiert	Ovarialtumor
S 375/97	Schnauzer Mix	w	16	9	Mt; Herzinsuffizienz; euthanasiert	Rechts- und Linksherzdilatation

Sek Nr.	Rasse	G	A/J	Gew kg	klin. Anamnese	path anatom+histolog Bef
S 550/97	Briard	♀	12	31	Expirationsgeräusche; Hypothyreose; euthanasiert	Nebennierenadenom; Leberkarzinom; Lungen- ödem; Nephritis
S 646/97	Foxterrier	w	11,6	6,8	Mt; euthanasiert	Nephritis; Herzhypertrophie
S 647/97	Collie Mix	w	14	12	Mt; Inkontinenz; euthanasiert	allgemeine Muskelatrophie
S 660/97	Yorkshire Terrier	w	12	3,2	Mt-Operationen; ver- größerter Lk Achsel- beuge; euthanasiert	Herzdilatation; Cor pulmonale; Nierenzyste
S 999/97	Terrier Mix	w	15	20	Mt; Inkontinenz; euthanasiert	Enteritis
S 1049/97	LHT	w	14	9	ulzerierte Mt; euthanasiert	Mitralklappenfibrose; Hyper- plasie Nebennierenrinde
S 614/96	Cocker Spaniel	w	12	12	Fieber; Lahmheit; euthanasiert	Uteruskarzinom mit Lungen,- Knochen und Lkmetastasen
S 1496/97	Dackel Mix	w	18	5,6	Mt; Hemiplegie; Dys- pnoe; euthanasiert	Nebennierenhyperplasie; Alopezie

Sek Nr: Sektionsnummer; G: Geschlecht; A/J: Alter/Jahre; Gew: Gewicht; klin.: klinische; path anatom+histolog Bef: pathologisch anatomische und histologische Befunde; zusätzl.: zusätzlich; Mt: Mammatumor(en); Met: Metastasen; w: weiblich; ♀: weiblich kastriert; DSH: Deutscher Schäferhund; RHT: Rauhaarteckel; LHT: Langhaarteckel; OP: Operation; Z.n.: Zustand nach; li: linke; re: rechte

Tabelle 2: Pathologisch-histologische Mammatumordiagnosen, fettgedruckt ist die Hauptdiagnose (zu Kap. 3.2.3.)

	liT1	liT2	liA1	liA2	liI	reT1	reT2	reA1	reA2	reI
S 1192/96	–	–	–	AdCa	AdCa	–	–	–	AME	AME
S 1052/96	–	–	–	–	–	–	AME	–	AME	–
S 897/96	–	–	–	–	AME	–	–	–	–	–
S 497/96	–	–	–	–	solCa	–	–	AME	AdCa	solCa
S 648/96	–	–	–	–	–	–	–	AME	AME	–
S 691/96	–	AdCa	AdCa	AdCa	AME	–	–	–	–	–
S 764/96	×	–	AdCa	anaCa	anaCa	×	–	AdCa	–	AdCa
S 1342/96	–	AME	–	–	AME	–	–	–	–	AME
S 1348/96	–	koCa	koCa	koCa	AdCa	AME	koCa	koCa	koCa	AdCa
S 1465/96	–	–	AME	AME	AME	–	AME	AME	AME	AME
S 1386/96	×	–	–	–	koCa	×	–	koCa	–	–
S 1633/96	–	–	–	–	•	–	•	–	–	AME
S 97/97	•	•	•	•	AdCa	•	•	AdCa	AdCa	AdCa
S 161/97	–	–	–	–	AdCa	–	–	–	–	–
S 266/97	–	AME	AME	–	–	–	AME	AME	AME	AME
S 277/97	×	AME	–	AME	AdCa	×	–	–	AME	–
S 285/97	AME	AME	–	AME	AME	AdCa	AdCa	–	AME	AdCa
S 301/97	–	–	–	–	–	–	solCa	solCa	solCa	solCa
S 375/97	×	×	–	–	AME	×	×	AME	AME	AME
S 550/97	×	–	AdCa	–	AME	×	–	AdCa	AdCa	–
S 646/97	×	anaCa	anaCa	anaCa	anaCa	×	anaCa	anaCa	anaCa	anaCa
S 647/97	–	–	–	–	–	–	–	AdCa	AME	–
S 660/97	×	•	•	–	–	×	solCa	•	•	solCa
S 999/97	–	AME	KoTu	KoTu	–	–	AME	–	–	–
S 1049/97	solCa	solCa	solCa	–	–	–	AME	–	–	–
S 614/96	–	–	–	–	–	–	–	AME	AME	–
S 1496/97	AdCa	AdCa	AdCa	–	–	–	–	AdCa	AdCa	AdCa

li: linker; re: rechter; T1: erster thorakaler Mammarkomplex; T2: zweiter thorakaler Mammarkomplex; A1: erster abdominaler Mammarkomplex; A2: zweiter abdominaler Mammarkomplex; I: inguinaler Mammarkomplex; AdCa: Adenokarzinom; AME: Adenokarzinom mit Myoepithelhyperplasie; solCa: solides Karzinom; koCa: komplexes Karzinom; anaCa: anaplastisches Karzinom; KoTu: Kollisionstumor/Karzinom

–=ohne besonderen Befund/kein maligner Mammatumor

×=Mammarkomplex fehlt

• =Zustand nach Mammatumorextirpation/Mammektomie

Tabelle 3: Axillarlymphknotendiagnosen (zu Kap. 3.2.4.)

	Schnitt	HE	Immun	Diff./ Wachstum	Lok* HE/Immun	Anzahl* HE/Immun	Größe Lk cm ³
S 1192/96	Nr. 7 liAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv, tub	DVL/DVL	E/E	2x1x1
S 1192/96	Nr. 8 reAxLk	×	Mikromet MaCa	–	–/RS;UBG	–/B;F3	1x0,5x0,5
S 1052/96	Nr. 8 liAxLk	×1	n	–	–/–	–/–	1,8x1,5x1,3
S 1052/96	Nr. 7 reAxLk	×1	Mikromet MaCa	Drüsen- alveole	–/RZ	–/B	1,8x1,5x1,3
S 897/96	Nr. 5 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2x2x1
S 897/96	Nr. 4 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,8x0,8x0,5
S 497/96	Nr. 9 liAxLk	Met eines solCa	Met eines solCa	Zellstränge, sol Zellhaufen	DVL/RZ; UFG, ULG, UBG	E/E	2,2x1,2x0,8
S 497/96	Nr. 5 reAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv; Drüsen- lumina	DVL/DVL	E/E	0,5x0,3x0,2
S 648/96	Nr. 1 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,5x0,2x0,1
S 648/96	Nr. 2 reAxLk	×	Mikromet MaCa	–	–/MZ;UFG	–/A1;F1	0,5x0,2x0,1
S 691/96	Nr. 7 liAxLk	V.a. Met	n	–	–/–	–/–	1,5x0,5x0,5
S 691/96	Nr. 8 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	1,5x0,5x0,5
S 764/96	Nr. 9 liAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	Zellstränge, Zellhaufen; anaplastisch Lymph+Hämca	DVL;ULG, UBG, UFG, UMG/DVL	E/E	3x2x1
S 764/96	Nr. 10 reAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	z.T. ana- plastisch	K;RS,RSN, TB,TBN/ RS,RSN	A2;C/A2;C	3x2x1
S 1342/96	Nr.1 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2,2x1,2x0,8
S 1342/96	Nr. 2 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2,2x1,2x0,8
S 1348/96	Nr. 11 liAxLk	Met eines komplCa	Met eines komplCa	alv, pap; Alveolen, Drüsenlumina, Myoepithel	RS,RSN; TB,TBN/ RS;TB; RZ	D/D	2,5x2x1,5
S 1348/96	Nr. 12 reAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv; Zellstränge	RS,RSN;TB, TBN/RS;TB	D/D	0,8x0,4x0,2

	Schnitt	HE	Immun	Diff./ Wachstum	Lok* HE/Immun	Anzahl* HE/Immun	Größe Lk cm³
S 1465/96	Nr. 9 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,3x0,2x0,1
S 1465/96	Nr. 8 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,3x0,2x0,1
S 1386/96	Nr. 11 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2,2x1,2x0,8
S 1386/96	Nr. 10 reAxLk	×	Mikromet MaCa	kleine Zellhäufchen	–/RS;UK	–/A0;F3	2,2x1,2x0,8
S 1386/96	Nr. 9 reLnac	Mikromet MaCa	Mikromet MaCa	Drüsen- alveole	RS/RS	B/B	2,1x1,1x0,7
S 1633/96	Nr. 10 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2x1,5x1
S 1633/96	Nr. 9 reAxLk	×	Mikromet MaCa	Zellverband	–/RS	–/B	2x1,5x1
S 97/97	Nr. 6 liAxLk	Met eines MaCa	Met eines MaCa	Zellhaufen; Lymphca, Hämca	DVL;ULG, UBG,UFG/ ULG,UBG	C/B;F4	1,5x0,5x0,5
S 97/97	Nr. 5 reAxLk	Met eines MaCa	Met eines MaCa	Zellhaufen; Lymphca Hämca	DVL;ULG, UBG,UFG/ UBG	C/B;F4	1,5x0,5x0,5
S 161/97	Nr. 7 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	1,5x0,5x0,5
S 161/97	Nr. 8 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	1,5x0,5x0,5
S 266/97	Nr. 9 liAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv; Drüsen- lumina	RS/RS;UK	B/B;F0	0,5x0,2x0,2
S 266/97	Nr. 8 reAxLk	×	Mikromet MaCa	einzelne Tumorzellen	–/MZ;UK	–/A2;F2	0,5x0,2x0,2
S 277/97	Nr. 8 liAxLk	Mikromet MaCa	Mikromet MaCa	Zellstränge, Zellhaufen	MZ/MZ	B/B	1,5x0,5x0,5
S 277/97	Nr. 7 reAxLk	×	Mikromet MaCa	drei kleine Zellverbände	–/RZ	–/B	0,3x0,1x0,1
S 285/97	Nr. 10 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,8x0,5x0,5
S 285/97	Nr. 9 reAxLk	V.a. Met	Mikromet MaCa	einzelne Tumorzellen	–/UFG	–/F1	0,8x0,5x0,5
S 301/97	Nr. 9 liAxLk	×	Mikromet solCa	solider Zellhaufen	–/RS;UFG, UFM	–/A2;F4	0,6x0,6x0,6
S 301/97	Nr. 8 reAxLk	Met eines solCa	Met eines solCa	sol; Hämca	DVL;UBG/ DVL;UBG	E/E	2,5x2x0,8
S 375/97	Nr. 7 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1
S 375/97	Nr. 8 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1

	Schnitt	HE	Immun	Diff./ Wachstum	Lok* HE/Immun	Anzahl* HE/Immun	Größe Lk cm³
S 550/97	Nr. 7 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2x1x1
S 550/97	Nr. 8 reAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv; Drüsen- lumina	DVL/DVL	E/E	2x1x1
S 550/97	Nr. 9 reLnac	Mikromet AdCa	Mikromet AdCa	Zellverband; Lymphca	ULG/ULG	F3/F3	0,8x0,5x0,5
S 646/97	Nr. 2 liAxLk	Met eines anapCa	n!	Zellstränge, Zellhaufen; Lymphca	RS,RSN;TB, TBN;RZ; ULG/–	E;F3/–	2,2x1,2x0,8
S 646/97	Nr. 1 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	1,5x1,2x0,8
S 647/97	Nr. 5 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1
S 647/97	Nr. 1 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1
S 660/97	Nr. 6 liAxLk	Met eines MaCa	Met eines MaCa	alv, tub, sol; Drüsenlumina	DVL/DVL	E/E	2x2x1
S 660/97	Nr. 5 liLnac	×	n	–	–/–	–/–	1x0,1x0,1
S 660/97	Nr. 2 reAxLk	Met eines solCa	Met eines solCa	sol; Zellhaufen	DVL/DVL	E/E	3,5x2x1
S 999/97	Nr. 6 liAxLk	×	n	–	–/–	–/–	2,2x1,2x0,8
S 999/97	Nr. 7 reAxLk	×	Mikromet AdCa	einzelne Tumorzellen	–/MZ;UFG	–/A2;F2	2,2x1,2x0,8
S 1049/97	Nr. 6 liAxLk	Met eines solCa	Met eines solCa	sol; zentrale Nekrose; Lymph+ Hämca	RS,RSN; MZ;UFG, ULG,UBG/ MZ	E/E	2,2x1,2x0,8
S 1049/97	Nr.7 reAxLk	Met eines MaCa	Met eines MaCa	tub; Hämca	MZ;UFG, UBG/MZ; UFG	D/D	2,1x1,1x0,7
S 614/96	Nr. 4 liAxLk	×1	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1
S 614/96	Nr. 3 reAxLk	×1	n	–	–/–	–/–	0,2x0,1x0,1
S 1496/97	Nr. 2 liAxLk	Met eines AdCa	Met eines AdCa	alv, tub; Zellverbände	DVL/DVL	E/E	2x1x1
S 1496/97	Nr. 8 liLnac	×	Mikromet MaCa	einzelne Tumorzellen	–/UFG	–/F1	1x0,5x0,5
S 1496/97	Nr. 7 reAxLk	×	n	–	–/–	–/–	0,5x0,2x0,1
S 1496/97	Nr. 9 reLnac	×	n	–	–/–	–/–	0,3x0,2x0,1

Legende zu Tabelle 3:

HE: HE-Befund; Immun: Immunologischer Befund; Diff./Wachstum: Differenzierung und Wachstumsart der Tumorzellen; Lok: Lokalisation; Lk: Lymphknoten; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; liLnac: linker Lymphonodus axillaris accessorius; reLnac: rechter Lymphonodus axillaris accessorius; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n); V.a.: Verdacht auf; AdCa: Adenokarzinom; solCa: solides Karzinom; komplCa: komplexes Karzinom; anaplCa: anaplastisches Karzinom; MaCa: Mammakarzinom; alv: alveolär; tub: tubulär; pap: papillär; sol: solide; Lymphca: Lymphangiosis carcinomatosa; Hämca: Hämangiosis carcinomatosa

×=kein Hinweis auf Metastasen; ×1=kein Hinweis auf Mammatumormetastasen; n=immunologische Färbung negativ; n!=Das Ergebnis der Immunfärbung ist negativ. Es ist ein Lymphknoten mit Metastasen eines anaplastischen Karzinoms, die sich in der Immunfärbung nicht darstellen lassen. Dieses ist auf eine Entdifferenzierung der Tumorzellen zurückzuführen.

*=Die Erklärungen der Abkürzungen für die Lokalisationen und Anzahlen der Tumorzellen finden sich in den Kapiteln 3.1.4.3.1., 3.1.4.4.1. und 3.1.4.5.1.

Tabelle 4: Lymphknoten mit Mammatumormetastasen und zusätzlichen Nebenbefunden (zu **Kap. 3.2.4.1.1.**)

Hund	Lymph.carc.	Häm.carc.	Blutungen	Nekrosen	Hyperplasie
S 1192/96 liAxLk	–	–	+	+	–
S 497/96 liAxLk	–	–	–	+	–
S 497/96 reAxLk	–	–	–	–	–
S 764/96 liAxLk	+	+	+	+	–
S 764/96 reAxLk	–	–	+	–	–
S 1348/96 liAxLk	–	–	–	–	–
S 1348/96 reAxLk	–	–	–	–	–
S 1386/96 reLnacc	–	–	–	–	–
S 97/97 liAxLk	+	+	+	+	–
S 97/97 reAxLk	+	+	+	+	–
S 266/97 liAxLk	–	–	–	–	–
S 277/97 liAxLk	–	–	+	–	+
S 301/97 reAxLk	–	+	+	+	–
S 550/97 reAxLk	–	–	+	–	–

Hund	Lymph.carc.	Häm.carc.	Blutungen	Nekrosen	Hyperplasie
S 550/97 reLnacc	+	-	-	-	-
S 646/97 liAxLk	+	-	-	-	-
S 660/97 liAxLk	-	-	+	+	-
S 660/97 reAxLk	-	-	-	+	-
S 1049/97 liAxLk	+	+	+	+	-
S 1049/97 reAxLk	-	+	+	-	+
S 1496/97 liAxLk	-	-	+	+	-

Lymph.carc.: Lymphangiosis carcinomatosa; Häm.carc.:Hämangiosis carcinomatosa; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; reLnacc: rechter Lymphonodus axillaris accessorius

Tabelle 5 zeigt Größe und Anschnittsfläche der mit Metastasen behafteten Axillar- und Anhangslymphknoten. Es wird von einer physiologischen Lymphknotengröße von 5 mm ausgegangen und ein glatter Anschnitt mit gut zu trennender Rinde/Mark wird als physiologischer Zustand eingestuft. Nur Lymphknoten mit einer Größe von >5 mm und einem von der Norm abweichenden Anschnitt finden Berücksichtigung (zu **Kap. 3.2.4.1.1.**)

Tabelle 5:

Hund	Größe Lk*	Anschnitt	Rinde/Mark trennbar
S 1192/96 liAxLk	2 cm	höckrig	nein
S 497/96 liAxLk	2,2 cm	höckrig	nein
S 764/97 liAxLk	3 cm	höckrig	nein
S 764/96 reAxLk	3 cm	glatt	ja
S 1348/96 liAxLk	2,5 cm	höckrig	ja
S 1348/96 reAxLk	0,8 cm	glatt	ja
S 1386/96 reLnacc	2,1 cm	glatt	ja
S 97/97 liAxLk	1,5 cm	glatt, speckig	nein
S 97/97 reAxLk	1,5 cm	höckrig, derb	nein

Hund	Größe Lk*	Anschnitt	Rinde/Mark trennbar
S 277/97 liAxLk	1,5 cm	glatt	ja
S 301/97 reAxLk	2,5 cm	höckrig	nein
S 550/97 reAxLk	2 cm	höckrig	nein
S 550/97 reLnacc	0,8 cm	glatt	ja
S 646/97 liAxLk	2,2 cm	höckrig, derb	nein
S 660/97 liAxLk	2 cm	glatt	nein
S 660/97 reAxLk	3,5 cm	höckrig	nein
S1049/97 liAxLk	2,2 cm	höckrig, derb	nein
S 1049/97 reAxLk	2,1 cm	glatt	nein
S 1496/97 liAxLk	2 cm	glatt	nein

Größe Lk*= gemessen ist die Längsausdehnung, d.h. ein Lymphknoten der Größe 1x0,5x0,5 cm hat eine Längsausdehnung von 1; Lk: Lymphknoten; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; reLnacc: rechter Lymphonodus axillaris accessorius

Tabelle 6: Alle immunpositiven Lymphknoten (zu Kap. 3.2.4.1.2.)

Hund	Anzahl der angef. Zellen*	Diagnose	Übereinstmg. mit HE-Befund*2
S 1192/96 liAxLk	E	Met. eines AdCa	ja
S 1192/96 reAxLk	B, F3	Mikromet. eines AdCa	nein
S 1052/96 reAxLk	B	Mikromet. eines AdCa	nein
S 497/96 liAxLk	E, F4	Met. eines sol. Ca.	ja
S497/96 reAxLk	E	Met eines AdCa	ja
S 648/96 reAxLk	A1, F1	Mikromet. eines AdCa	nein
S 764/96 liAxLk	E	Met. eines MaCa	ja
S 764/96 reAxLk	A2, C	Met. eines AdCa	ja
S 1348/96 liAxLk	D	Met. eines kompl. Ca	ja

Hund	Anzahl der angef. Zellen*	Diagnose	Übereinstmg. mit HE-Befund* ²
S 1348/96 reAxLk	D	Met. eines AdCa	ja
S 1386/96 reAxLk	A0, F3	Mikromet. eines MaCa	nein
S 1386/96 reLnacc	B	Mikromet. eines MaCa	ja
S 1633/96 reAxLk	B	Mikromet eines AdCa	nein
S 97/97 liAxLk	B, F4	Met. eines MaCa	ja
S 97/97 reAxLk	B, F4	Met. eines MaCa	ja
S 266/97 liAxLk	F0, B	Met. eines AdCa	ja
S 266/97 reAxLk	A2, F2	Mikromet. eines AdCa	nein
S 277/97 li AxLk	B	Mikromet. eines MaCa	ja
S 277/97 reAxLk	B	Mikromet. eines AdCa	nein
S 285/97 reAxLk	A1	Mikromet. eines AdCa	ja
S 301/97 liAxLk	A2, F4	Mikromet. eines sol. Ca	nein
S 301/97 reAxLk	E	Met. eines sol. Ca	ja
S 550/97 reAxLk	E	Met. eines AdCa	ja
S 550/97 reLnacc	F3	Mikromet. eines AdCa	ja
S 646/97 liAxLk	_* ³	_* ³	nein
S 660/97 liAxLk	E	Met. eines AdCa Met. eines sol. Ca	ja
S 660/97 reAxLk	E	Met. eines sol. Ca	ja
S 999/97 reAxLk	A2, F2	Mikromet. eines AdCa	nein
S 1049/97 liAxLk	E	Met. eines sol. Ca	ja
S 1049/97 reAxLk	D	Met. eines AdCa	ja
S 1496/97 liAxLk	E	Met. eines AdCa	ja
S 1496/97 liLnacc	F1	Mikromet. eines AdCa	nein

Legende zu Tabelle 6:

angef.: angefärbten; Übereinstmg.: Übereinstimmung; Met.: Metastase(n); Mikromet.: Mikrometastase(n); AdCa: Adenokarzinom; sol. Ca: solides Karzinom; kompl. Ca: komplexes Karzinom; MaCa: Mammakarzinom; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; liLnacc: linker Lymphonodus axillaris accessorius; reLnacc: rechter Lymphonodus axillaris accessorius

*=siehe Kap. 3.1.4.4.1.; *2=s. Kap. 3.1.4.4.1. Punkt 5.; *3=es handelt sich um Metastasen eines anaplastischen Karzinoms, der Lymphknoten ist immunnegativ (vergl. auch Anhang Tabelle 3)

Zu Kap. 3.1.4.6.1. und Kap. 3.2.4.4.:

Um eine Aussage über den Ergebnisvergleich zwischen histologischen HE- und immunhistochemischen Befunden treffen zu können, erfolgt eine Einteilung aller Lymphknoten in 6 Befundgruppen. Im Folgenden sind alle Lymphknoten den 6 Befundgruppen zugeteilt:

Gruppe I wird durch folgende Lymphknoten vertreten: S 1052/96 liAxLk, S 897/96 liAxLk, S 897/96 reAxLk, S 648/96 liAxLk, S 691/96 reAxLk, S 1342/96 liAxLk, S 1342/96 reAxLk, S 1465/96 liAxLk, S 1465/96 reAxLk, S 1386/96 liAxLk, S 1633/96 liAxLk, S 161/97 liAxLk, S 161/97 reAxLk, S 285/97 liAxLk, S 375/97 liAxLk, S 375/97 reAxLk, S 550/97 liAxLk, S 646/97 reAxLk, S 647/97 liAxLk, S 647/97 reAxLk, S 660/97 liLnacc, S 999/97 liAxLk, S 614/96 liAxLk, S 614/96 reAxLk, S 1496/97 reAxLk, S 1496/97 reLnacc.

In Gruppe II finden sich folgende Lymphknoten: S 1192/96 liAxLk, S 497/96 liAxLk, S 497/96 reAxLk, S 764/96 liAxLk, S 764/96 reAxLk, S 1348/96 liAxLk, S 1348/96 reAxLk, S 1386/96 reLnacc, S 97/97 liAxLk, S 97/97 reAxLk, S 266/97 liAxLk, S 277/97 liAxLk, S 301/97 reAxLk, S 550/97 reAxLk, S 550/97 reLnacc, S 660/97 liAxLk, S 660/97 reAxLk, S 1049/97 liAxLk, S 1049/97 reAxLk, S 1496/97 liAxLk.

Bei der Gruppe III handelt es sich um folgende Lymphknoten:

Tabelle A

Lymphknoten	HE-Befund	immunhistochemischer Befund
S 1192/96 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma
S 1052/96 reAxLk	kein Hinweis auf Mammatumormetastasen	Mikrometastase eines AdCa der Mamma
S 648/96 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma
S 1386/96 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines Karzinoms der Mamma
S 1633/96 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastase eines AdCa der Mamma
S 266/97 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma
S 277/97 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma
S 301/97 liAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastase eines soliden Karzinoms der Mamma

Lymphknoten	HE-Befund	immunhistochemischer Befund
S 999/97 reAxLk	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma
S1496/97 liLnacc	kein Hinweis auf Metastasen	Mikrometastasen eines AdCa der Mamma

AdCa: Adenokarzinom; liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; liLnacc: linker Lymphonodus axillaris accessorius

Die Gruppe IV wird repräsentiert durch S 646/97 (liAxLk), wobei sich die anaplastischen Tumorzellen im Lymphknoten nicht immunhistochemisch anfärben lassen.

Gruppe V und VI setzen sich zusammen aus:

Tabelle B

Lymphknoten	HE-Befund	immunhistochemischer Befund
S 691/96 liAxLk (Gr. V)	Verdacht auf Mammatumormetastasen	negativ. Kein Hinweis auf Metastasen.
S 285/97 reAxLk (Gr. VI)	Verdacht auf Metastasen	positiv. Mikrometastasen eines AdCa der Mamma.

liAxLk: linker Axillarlymphknoten; reAxLk: rechter Axillarlymphknoten; Gr.: Gruppe

Tabelle 7: Alle Knochenschnitte (zu **Kap. 3.2.5.**)

	liHu	reHu	liFe	reFe	liBe	reBe	L7	sonstige	positive Reaktionen
S 1192/96	3	1	3	3	2	1	2	–	liBe, reBe, L7
S 1052/96	7	6	6	5	3	3	2	–	×
S 897/96	3	5	3	2	4	4	1	Ri (2x)	×
S 497/96	1	1	2	2	1	1	2	Ri, Dig	liFe
S 648/96	2	2	2	2	3	2	1	Ri	×
S 691/96	2	1	3	3	2	2	1	–	×
S 764/96	5	3	4	3	3	2	1	Ri (2x)	×
S 1342/96	5	4	4	4	4	4	2	Tib/Fib (3x)	×
S 1348/96	5	4	4	4	3	3	1	L 2/3 (2x), Rad (3x)	×
S 1465/96	4	5	3	4	3	3	1	–	reHu, L7
S 1386/96	4	7	6	4	4	2	2	–	×
S 1633/96	4	2	4	3	2	2	2	Ri (2x)	×
S 97/97	5	4	4	5	3	2	2	–	liHu (2x), liFe (3x), reFe, liBe, reBe, L7 (2x)
S 161/97	3	2	3	3	1	1	1	–	×
S 266/97	2	3	2	4	4	2	1	–	reHu, reBe, L7
S 277/97	3	4	2	3	2	3	2	–	liHu

	liHu	reHu	liFe	reFe	liBe	reBe	L7	sonstige	positive Reaktionen
S 285/97	3	3	3	3	2	2	1	–	×
S 301/97	4	4	3	4	2	3	1	–	liHu (2x), reHu
S 375/97	4	3	3	3	2	1	2	–	×
S 550/97	3	3	3	2	2	2	2	–	×
S 646/97	3	4	3	3	2	1	1	–	reBe
S 647/97	2	2	3	3	2	2	1	–	×
S 660/97	4	3	2	2	2	1	1	Ste (2x)	Ste
S 999/97	3	3	2	3	1	1	2	–	liFe, liBe, reBe
S 1049/97	3	3	3	2	2	1	1	–	liHu, reHu (2x)
S 614/96	1	1	1	1	1	1	1	–	×
S 1496/97	5	3	3	3	2	3	1	–	liHu (2x), reHu, liFe, reBe (2x)

li: linker/s; re: rechter/s; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ri: Rippe(n); Dig: Digitalknochen; Tib/Fib: Tibia/Fibula; L 2/3: zweiter und dritter Lendenwirbel; Rad: Radius; Ste: Sternum

×=keine positive Reaktion (kein Hinweis auf Metastasen)

Tabelle 8: Alle zytokeratinpositiven Knochenschnitte (zu **Kap. 3.2.5.**)

Hund	Schnitt/ Knochen	Anzahl u. Art der positiven Zellen*	Lokalisation der positiven Zellen* ²	Diagnose* ³
S 1192/96	Nr. 1 li Becken	C; Zellverband mit Drüsenstrukturen	SS, KM; UMGW	Metastase eines AdCa
S 1192/96	Nr. 8 re Becken	F4; große Tumorzellen mit großen Kernen	UBGW	Metastase eines MaCa
S 1192/96	Nr. 12 L7	B; rechteckiges Zellpaket aus 6 Tumorzellen	KM; direkte Rückenmarknähe	Mikrometastase eines MaCa
S 497/96	Nr. 7 li Femur	C; Zellverband von 60-70 Zellen, heterogenes Bild	SS, KM; epiphysär	Metastase eines MaCa
S 1465/96	Nr. 12 re Humerus	B; Tumorzellen bilden Drüsenlumina	SC, SS; Übergang von Diaphyse zu Epiphyse	Mikrometastase eines AdCa
S 1465/96	Nr. 16 L7	F4; 6 kleinere Tumorzellverbände	U; periostär im Rückenmarkkanal	Metastase eines MaCa
S 97/97	Nr. 3 li Humerus	F4; 2 Zellhaufen, hetero- genes Bild	UMGW; metaphysär	Metastase eines MaCa
S 97/97	Nr. 8 li Humerus	C, F4; Zellverbände von 10-100 Tumorzellen, Drüsenlumina	HK, SS; UBG, ULG, UBGW, UMGW; diaphysär	Metastase eines AdCa
S 97/97	Nr. 17 li Femur	A1; 6 Einzelzellen bzw. Tumorzellemboli	KM; diaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 97/97	Nr. 18 li Femur	F4; Drüsenlumina	ULG, UBG; diaphysär	Metastase eines AdCa
S 97/97	Nr. 19 li Femur	A0, B;F2, F3; Emboli u. Verbände m.Drüsenlumina	SC, HK; ULG, UBG; diaphysär	Mikrometastasen eines AdCa
S 97/97	Nr. 25 re Femur	F3; 3 kleine Zellverbände, kleine Drüsenalveole	UBGW; epiphysär	Mikrometastase eines AdCa

Hund	Schnitt/ Knochen	Anzahl u. Art der positiven Zellen*	Lokalisation der positiven Zellen*2	Diagnose*3
S 97/97	Nr. 5 li Becken	F0, F3; 2 kleine Tumorzellverbände	UBGW	Mikrometastase eines MaCa
S 97/97	Nr. 14 re Becken	F3, F4; 6 Zellverbände von 20-100 Einzelzellen	UBG, ULG, UBGW	Metastasen/Mikro- met. eines MaCa
S 97/97	Nr. 13 L7	F3; 3 Tumorzellverbände von jeweils ca. 25 Zellen	ULG	Mikrometastasen eines MaCa
S 97/97	Nr. 15 L7	F4; Tumorzellen füllen eine Lymphkapillare aus	ULG	Metastase eines MaCa
S 266/97	Nr. 11 re Humerus	F3; Zellpaket, körneliges Zytoplasma	UBGW; diaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 266/97	Nr. 12 re Becken	C; Zellverband von ca. 100 Tumorzellen	SS	Metastase eines MaCa
S 266/97	Nr. 14 L7	B; 2 Zellverbände von jeweils 40 Tumorzellen	SS, KM	Mikrometastasen eines MaCa
S 277/97	Nr. 1 li Humerus	B; Zellpaket, Tumorzellen zeigen polymorphes Bild	KM; diaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 301/97	Nr. 1 li Humerus	F3; Zellhäufchen, sehr große Zellkerne	UBGW; metaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 301/97	Nr. 2 li Humerus	B; kleiner Zellverband von 3 Tumorzellen	KM; metaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 301/97	Nr. 10 re Humerus	B; Zellhaufen von 10 Einzelzellen	KM; metaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 646/97	Nr. 8 re Becken	F1; 3 Einzelzellen, großer deutlicher Zellkern	UBGW	Mikrometastase eines MaCa
S 660/97	Nr. 17 Sternum	F4; rundliches Tumorzell- areal, Drüsenalveolen	UBGW; deutliches in- vasives Wachstum	Metastase eines MaCa
S 999/97	Nr. 13 li Femur	B; Tumorzellstrang, heterogenes Zellbild	KM; diaphysär	Mikrometastase eines MaCa
S 999/97	Nr. 1 li Becken	A2, B; z.T. Einzelzellen bzw. Tumorzellemboli	KM	Mikrometastasen eines MaCa
S 999/97	Nr. 6 re Becken	A2; Einzelzellen bzw. Tumorzellemboli	KM	Mikrometastase eines MaCa
S 1049/97	Nr. 5 li Humerus	E; Tumorzellareale mit starker Nekrotisierung	SS, KM; epi-, dia- und metaphysär	Metastasen eines MaCa
S 1049/97	Nr. 6 re Humerus	E; Areale mit starker Nekrotisierungstendenz	SS, KM; epi-, dia- und metaphysär	Metastasen eines MaCa
S 1049/97	Nr. 7 re Humerus	E; Areale mit starker Nekrotisierungstendenz	SS, KM; epi-, dia- und metaphysär	Metastasen eines MaCa
S 1496/97	Nr. 1 li Humerus	D; scharf begrenzter Tumorzellverband, Drüse	KM; metaphysär; invasives Zellwachstum	Metastase eines AdCa
S 1496/97	Nr. 4 li Humerus	E; Zellverband scharf be- grenzt, solides Wachstum	KM; metaphysär	Metastase eines MaCa
S 1496/97	Nr. 11 re Humerus	E; solides Tumorzell- wachstum, Nekrosen	KM; metaphysär	Metastase eines MaCa

Hund	Schnitt/ Knochen	Anzahl u. Art der positiven Zellen*	Lokalisation der positiven Zellen* ²	Diagnose* ³
S 1496/97	Nr. 14 li Femur	E; solides Zellareal, z.T. mit Drüsenlumina	SS, KM; diaphysär	Metastase eines AdCa
S 1496/97	Nr. 9 re Becken	E; ausgedehntes Areal, in- vasives Wachstum	SS, KM, HK	Metastase eines MaCa
S 1496/97	Nr. 12 re Becken	E; solides und invasives Tumorzellwachstum	KM; diffus von Tumor- zellverbänden durchsetzt	Metastase eines MaCa

li: linker/s; re: rechter/s; AdCa: Adenokarzinom; MaCa: Mammakarzinom; L7: siebter Lendenwirbel

*=siehe Kap. 3.1.4.5.1. Punkt 1.

*²=siehe Kap. 3.1.4.5.1. Punkt 2.

*³=siehe Kap. 3.1.4.5.1. Punkt 3.

In Tabelle 9 sind die immunpositiven Knochen den jeweiligen Hunden zugeordnet. Es wird ersichtlich, wieviele positive Reaktionen pro Knochen vorhanden sind (zu **Kap. 3.2.5.1.**)

Hund	li Humerus	re Humerus	li Femur	re Femur	li Becken	re Becken	L7	Sternum
S 1192/96					1x	1x	1x	
S 497/96			1x					
S 1465/96		1x					1x	
S 97/97	2x		3x	1x	1x	1x	2x	
S 266/97		1x				1x	1x	
S 277/97	1x							
S 301/97	2x	1x						
S 646/97						1x		
S 660/97								1x
S 999/97			1x		1x	1x		
S 1049/97	1x	2x						
S 1496/97	2x	1x	1x			2x		

li: linker/s; re: rechter/s; L7: siebter Lendenwirbel

nx=Anzahl Schnitte mit immunpositiven Reaktionen

Tabelle 10: Diagnosen der Mammarleisten und alle nachgewiesenen Metastasen (zu **Kap. 3.2.6.**)

Hund	Diagnose Mt	Met AxLk	Mikromet AxLk	Met Knochen	Mikromet Knochen	weitere Met*
S 1192/96	AdCa	li (HE, I)	re (I)	liBe, reBe	L7	Lu, Ni
S 1052/96	AdCa+MEH	–	re (I)	–	–	–
S 897/96	AdCa+MEH	–	–	–	–	–
S 497/96	sol Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	liFe	–	Lu, Pe
S 648/96	AdCa+MEH	–	re (I)	–	–	li+re ILk li+re LuLk
S 691/96	AdCa	–	–	–	–	–

Hund	Diagnose Mt	Met AxLk	Mikromet AxLk	Met Knochen	Mikromet Knochen	weitere Met
S 764/96	anapl Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	–	–	Lu
S 1342/96	AdCa+MEH	–	–	–	–	–
S 1348/96	kompl Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	–	–	Lu
S 1465/96	AdCa+MEH	–	–	L7	reHu	–
S 1386/96	kompl Ca	–	re (I) re (HE, I)*2	–	–	Lu, Le
S 1633/96	AdCa+MEH	–	re (I)	–	–	–
S 97/97	AdCa	li (HE, I) re (HE, I)	–	liHu, liFe, L7	liFe, reFe, liBe, reBe, L7	Lu
S 161/97	AdCa	–	–	–	–	–
S 266/97	AdCa+MEH	li (HE, I)	re (I)	reBe	reHu, L7	–
S 277/97	AdCa	–	li (HE, I) re (I)	–	liHu	–
S 285/97	AdCa	–	re (I)	–	–	Lu
S 301/97	sol Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	–	liHu, reHu	Lu, Mi reILk
S 375/97	AdCa+MEH	–	–	–	–	–
S 550/97	AdCa	re (HE, I)	re (HE, I)*2	–	–	–
S 646/97	anapl Ca	li (HE) li (HE)	–	–	reBe	Lu, weitere Lk
S 647/97	AdCa	–	–	–	–	–
S 660/97	sol Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	Ste	–	Lu+Lk, Hi
S 999/97	Koll Tu	–	re (I)	–	liFe, liBe, reBe	V.a. Lu
S 1049/97	sol Ca	li (HE, I) re (HE, I)	–	liHu, reHu	–	Lu
S 614/96	AdCa+MEH	–	–	–	–	–
S 1496/97	AdCa	li (HE, I)	li (I)	liHu, reHu liFe, reBe	–	Lu

Mt: Mammatumor; Met: Metastase(n); AxLk: Axillarlymphknoten; Mikromet: Mikrometastase(n); AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor; li: links; re: rechts; HE: HE-Färbung; I: Immunfärbung; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum; Lk: Lymphknoten; Lu: Lunge; Ni: Niere; Pe: Peritoneum; Le: Leber; Mi: Milz; Hi: Hirn;

ILk: Inguinallymphknoten; LuLk: Lumballymphknoten; V.a.: Verdacht auf

*=nachgewiesen mit HE-Färbung aus dem Routineprobenmaterial

*2=zusätzlich rechter Lymphonodus axillaris accessorius

Tabelle 11: Lokalisation des Tumors mit der höchsten Malignität (Hauptdiagnose) in der Gesäugeleiste und Axillarlymphknotenmetastasen (zu Kap. 3.2.8. und Kap. 3.2.8.1.)

Diagnose / Hund	Lokalisation i. d. Gesäugeleiste	AxLk Met		AxLk Mikromet	
		links	rechts	links	rechts
S 1192/96 AdCa	liA2, liI	+			+
S 1052/96 AdCa+MEH	reT2, reA2				+
S 497/96 sol Ca	liI, reI	+	+		
S 648/96 AdCa+MEH	reA1, reA2				+
S 764/96 anapl Ca	liA2, liI	+	+		
S 1348/96 kompl Ca	liT2, liA1 reT2, reA2	+	+		
S 1386/96 kompl Ca	liI reA1				+*
S 1633/96 AdCa+MEH	reI				+
S 97/97 AdCa	liI reA1, reA2, reI	+	+		
S 266/97 AdCa+MEH	liT2, liA1 reT2, reA1, reA2, reI	+			+
S 277/97 AdCa	liI			+	+
S 285/97 AdCa	reT1, reA2, reI				+
S 301/97 sol Ca	reT2, reA1, reA2, reI		+	+	
S 550/97 AdCa	liA1 reA1, reA2		+		+*
S 646/97 anapl Ca	liT2, liI reT2, reI	+			
S 660/97 sol Ca	liI reT2, reI	+	+		
S 999/97 Koll Tu	li A1, liA2				+
S 1049/97 sol Ca	liT1, liT2, liA1	+	+		
S 1496/97 AdCa	liT1, liT2, liA1 reA1, reA2, reI	+		+	

Legende zu Tabelle 11:

i. d.: in der; AxLk: Axillarlymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n); li: links; re: rechts; T1: erster thorakaler Komplex; T2: zweiter thorakaler Komplex; A1: erster abdominaler Komplex; A2: zweiter abdominaler Komplex; I: inguinaler Komplex; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor

*=zusätzlich rechter Lymphonodus axillaris accessorius

Tabelle 12: Lokalisation weiterer maligner Tumoren in der Gesäugeleiste und Axillarlymphknotenmetastasen (zu Kap. 3.2.8. und Kap. 3.2.8.1.)

Hund / Hauptdiagnose	weitere maligne Tumoren	Lokalisation i. d. Gesäugeleiste	AxLk Met / Mikromet
S 1192/96 AdCa	AdCa+MEH	reA2, reI	liAxLk, reAxLk
S 497/96 sol Ca	AdCa, AdCa+MEH	liA2, reA1, reA2	liAxLk, reAxLk
S 764/96 anapl Ca	AdCa	liT2, liA1, reA1, reI	liAxLk, reAxLk
S 1348/96 kompl Ca	AdCa, AdCa+MEH	liI, reT1, reI	liAxLk, reAxLk
S 1633/97 AdCa+MEH	Z.n. Mt Extirpation	reT2	reAxLk
S 97/97 AdCa	Z.n. Mammektomie	li+re Gesäugeleiste	liAxLk, reAxLk
S 277/97 AdCa	AdCa+MEH	liT2, liA2, reA2	liAxLk, reAxLk
S 285/97 AdCa	AdCa+MEH	liT1, liA2, liI	reAxLk
S 550/97 AdCa	AdCa+MEH	liI	reAxLk, reLnacc
S 660/97 sol Ca	Z.n. Mammektomie	li+re Gesäugeleiste	liAxLk, reAxLk
S 999/97 Koll Tu	AdCa+MEH	liT2, reT2	reAxLk
S 1049/97 sol Ca	AdCa+MEH	reT2	liAxLk, reAxLk

i. d.: in der; AxLk: Axillarlymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n); li: links; re: rechts; T1: erster thorakaler Komplex; T2: zweiter thorakaler Komplex; A1: erster abdominaler Komplex; A2: zweiter abdominaler Komplex; I: inguinaler Komplex; Lnacc: Lymphonodus axillaris accessorius; AdCa: Adenokarzinom; MEH: Myoepithelhyperplasie; sol Ca: solides Karzinom; anapl Ca: anaplastisches Karzinom; kompl Ca: komplexes Karzinom; Koll Tu: Kollisionstumor; Z.n. Zustand nach; Mt: Mammatumor

Tabelle 13: Tumorgröße und Axillarlymphknotenmetastasen (zu **Kap. 3.2.9.1.**)

Hund	Ø des Tu mit höchster Mal	Vol des Tu mit höchster Mal	kontralat Seite Ø und Vol	Gruppe*	AxLk Met	AxLk Mikromet
S 1192/96	8,5 cm	164 cm ³	8 cm; 120 cm ³	VI	+	-
S 1052/96	1,5 cm	1,5 cm ³	-	I	-	+
S 897/97	1 cm	1 cm ³	-	I	-	-
S 497/96	4 cm	48 cm ³	1cm; 1cm ³	V	+	-
S 648/96	10 cm	90 cm ³	-	VI	-	+
S 691/96	2,5 cm	1,25 cm ³	-	I	-	-
S 764/96	9 cm	94,5 cm ³	5 cm; 75 cm ³	V	+	-
S 1342/96	1,5 cm	0,75 cm ³	1,5 cm; 0,75 cm ³	I	-	-
S 1348/96	15 cm	750 cm ³	6 cm; 48 cm ³	VI	+	-
S 1465/96	3 cm	12 cm ³	1,5 cm; 1,5 cm ³	II	-	-
S 1386/96	10 cm	360 cm ³	1,5 cm; 1,5 cm ³	VI	-	+
S 1633/97* ²	1 cm	0,7 cm ³	-	VII	-	+
S 97/97* ²	2,5 cm	3,75 cm ³	-	VIII	+	-
S 161/97	0,7 cm	0,1 cm ³	-	I	-	-
S 266/97	3 cm	6,75 cm ³	1,5 cm; 2,25 cm ³	II	+	-
S 277/97	2,5 cm	2 cm ³	2,5 cm; 2 cm ³	I	-	+
S 285/97	1,8 cm	1,44 cm ³	4 cm; 72 cm ³	III	-	+
S 301/97	22 cm	115,5 cm ³	-	VI	+	-
S 375/97	1,8 cm	1,44 cm ³	-	I	-	-
S 550/97	3 cm	9 cm ³	3,5 cm; 7 cm ³	II	+	-
S 646/97* ²	5 cm	31,25 cm ³	-	VIII	+	-
S 647/97	1,5 cm	1,5 cm ³	-	I	-	-
S 660/97* ²	-	-	-	VIII	+	-
S 999/97	15 cm	960 cm ³	4,5 cm; 47,25 cm ³	VI	-	+
S 1049/97	8 cm	48 cm ³	0,7 cm; 0,7 cm ³	V	+	-
S 614/96	0,7 cm	0,7 cm ³	-	I	-	-
S 1496/97	7 cm	112 cm ³	3,5 cm; 26,25 cm ³	VI	+	-

Ø: größter Durchmesser; Tu: Tumor; Mal: Malignität; Vol: Volumen; kontralat.: kontralaterale; AxLk: Axillarlymphknoten; Met: Metastase(n); Mikromet: Mikrometastase(n)

*=siehe Kap. 3.1.4.6.2.: Gruppeneinteilung Tumorgröße

*²=Hund mammektomiert bzw. Tumor extirpiert; die Durchmesser- und Volumenangaben der Hunde mit *² beziehen sich entweder auf Rezidive oder zusätzlich vorhandene Tumoren

Tabelle 14: Lokalisation, Größe und multiples und solitäres Auftreten des Tumors und Knochenmetastasen (zu **Kap. 3.2.11.**)

Hund	Knochen mit Metastase(n)	Lok Tu mit höchster Mal*	Lok weitere Tu* ²	Tu Größe Gruppe* ³	Tu sol/multipel Gruppe* ³
S 97/97	li Hu, li Fe, li Be re Fe, re Be, L7	liI reA1, A2, I	Z.n. Mammektomie	VIII	VIII
S 277/97	li Hu	liI	liT2, liA2 reA2	I	VI
S 301/97	li Hu re Hu	reT2, A1, A2, I	–	VI	II
S 1049/97	li Hu re Hu	liT1, T2, A1	reT2	V	VI
S 1496/97	li Hu, li Fe re Hu, re Be	liT1, T2, A1 reA1, A2, I	–	VI	V
S 1465/96	re Hu, L7	li A1, A2, I re T2, A1, A2, I	–	II	V
S 266/97	re Hu, reBe, L7	liT2, A1 reT2, A1, A2, I	–	II	V
S 497/96	li Fe	liI reI	liA2 re A1, A2	V	VI
S 999/97	li Fe, li Be re Be	liA1, A2	liT2 reT2	VI	VI
S 1192/96	li Be reBe, L7	liA2, I	reA2, I	VI	VI
S 646/97	re Be	liT2, I reT2, I	–	VIII	VIII
S 660/97	Ste	li I re T2, I	Z.n. Mammektomie	VIII	VIII

Lok: Lokalisation; Tu: Tumor; Mal: Malignität; sol: solitär; li: links/er/es; re: rechts/er/es; Hu: Humerus; Fe: Femur; Be: Becken; L7: siebter Lendenwirbel; Ste: Sternum; T1: erster thorakaler Mammarkomplex; T2: zweiter thorakaler Mammarkomplex; A1: erster abdominaler Mammarkomplex; A2: zweiter abdominaler Mammarkomplex; I: inguinaler Mammarkomplex; Z.n.: Zustand nach

*=entspricht der Hauptdiagnose

*²=weitere maligne Tumoren in der Mammaleiste *³=vergl. Kap. 3.1.4.6.2.. und Kap. 3.1.4.6.3.

7.1. Bildteil

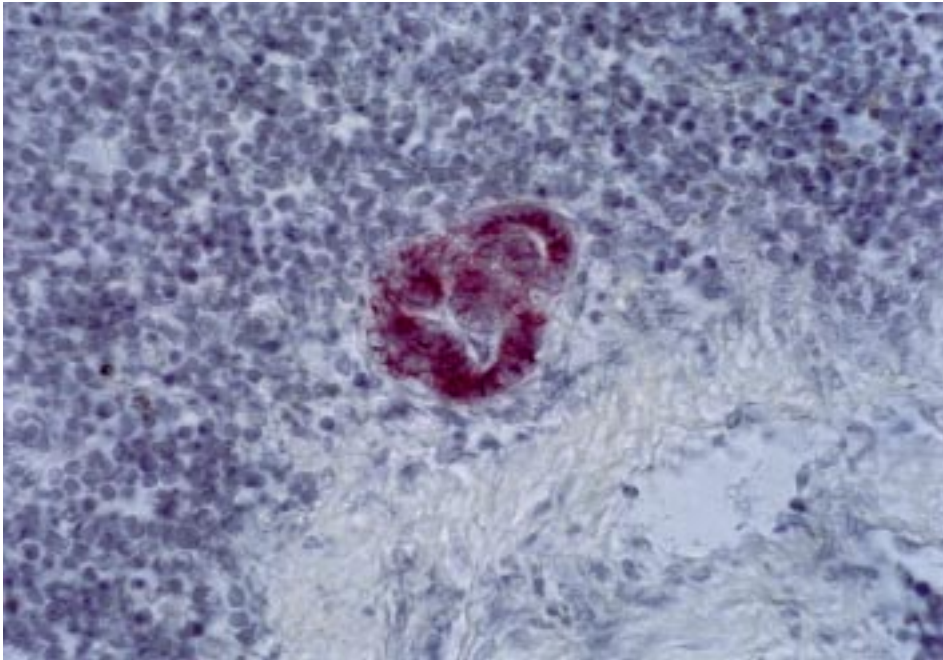


Abbildung 1: Mikrometastase der Größe B im Randsinus eines Lymphonodus axillaris accessorius. Immunfärbung, Hund: S Nr. 1386/96, Schnitt Nr. 9, rechter Lymphonodus axillaris accessorius
Vergrößerung: 40fach

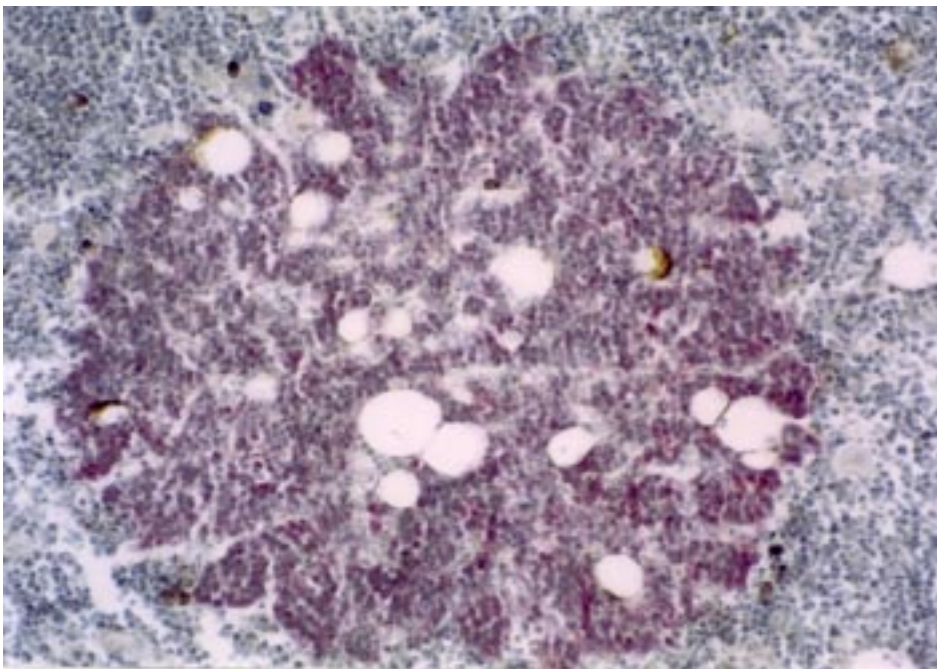


Abbildung 2: Metastase der Größe E im Knochenmark eines Humerusknochen. Immunfärbung, Hund: S Nr. 1496/97, Schnitt Nr. 4, linker Humerus,
Vergrößerung: 20fach

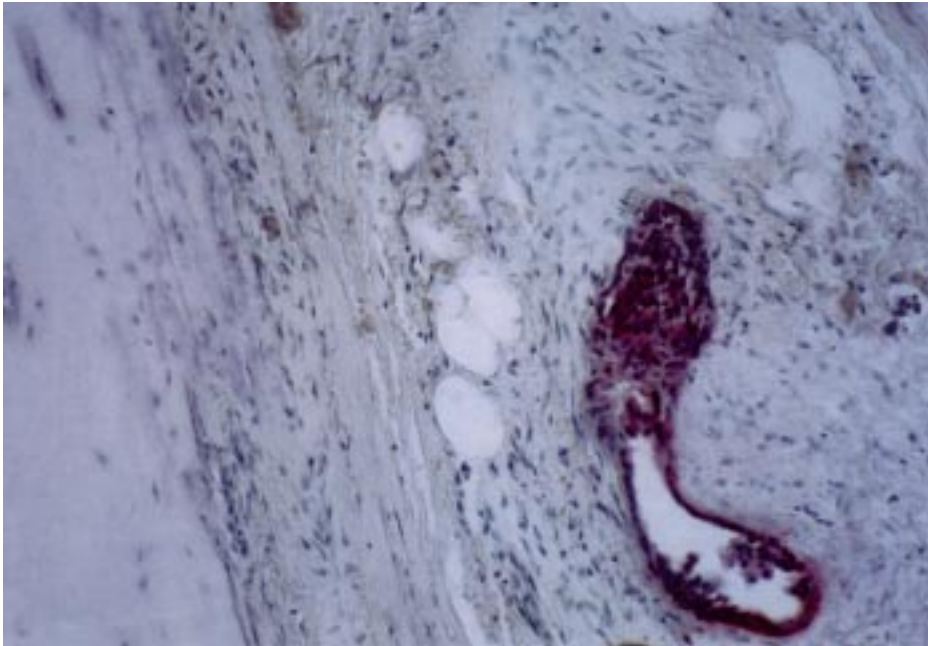


Abbildung 3: Teil einer Metastase der Größe F4 periostär des siebten Lendenwirbels.
 Von links nach rechts: Substantia compacta, Periost, Bindegewebe mit Mammatumormetastase.
 Immunfärbung, Hund: S Nr. 97/97, Schnitt Nr. 15, siebenter Lendenwirbel, Vergrößerung: 20fach

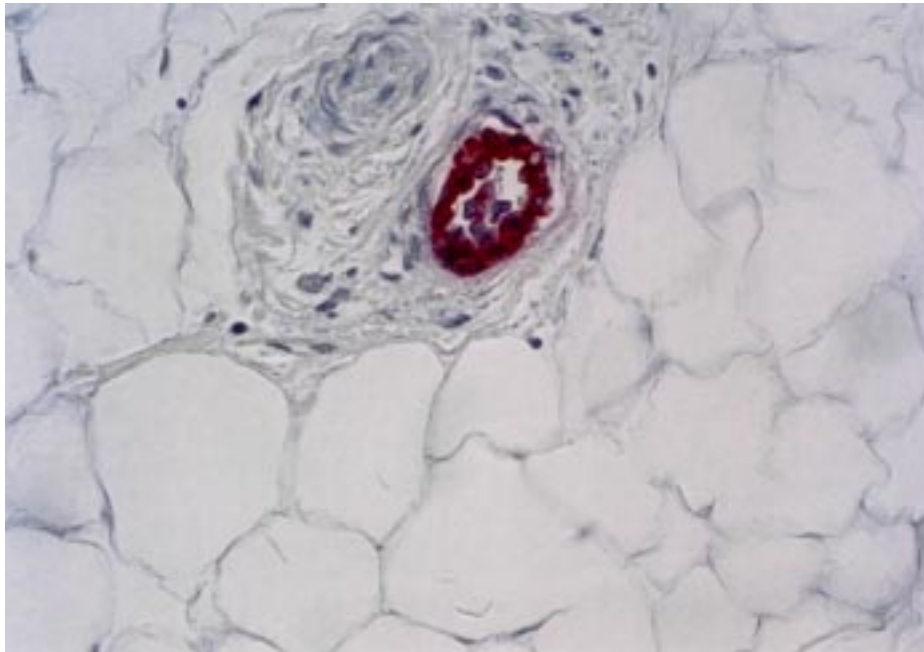


Abbildung 4: Angiosis carcinomatosa.
 Immunfärbung, Hund: S Nr. 97/97, Schnitt Nr. 15, siebenter Lendenwirbel
 Vergrößerung: 40fach

7.2. Abkürzungsverzeichnis

A1	erster abdominaler Mammarkomplex
A2	zweiter abdominaler Mammarkomplex
ABC	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex
APAAP	Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase-Komplex
bzw.	beziehungsweise
C	Celsius
cm	Zentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
DAB	Deutsches Arzneibuch
f.	folgend
ff.	folgende
g	Gramm
HE	Hämatoxylin-Eosin
HCL	Hydrochlorid
I	inguinaler Mammarkomplex
Kap.	Kapitel
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
NaCl	Natriumchlorid
neg.	negativ
Nr.	Nummer
PAP	Peroxidase-Antiperoxidase
pH	Potenz Wasserstoffionen
pos.	positiv
RPMI	Royal Park Memoria Institute
S.	Seite
s.	siehe
s.a.	siehe auch
sec	Sekunden
S. Nr.	Sektionsnummer
T1	erster thorakaler Mammarkomplex
T2	zweiter thorakaler Mammarkomplex
TBS	Tris-buffer-saline
u.a.	unter anderen
vergl.	vergleiche
WHO	World-Health-Organisation

8. Literaturverzeichnis

ALTMANNNSBERGER, M., M. OSBORN, K. WEBER, A. HILSCHER, A. SCHAUER (1981a):
The distribution of keratin type intermediate filaments in human breast cancer.
Virchows Arch (B) 37, 277 - 284

ALTMANNNSBERGER, M., M. OSBORN, A. SCHAUER, K. WEBER (1981b):
Antibodies to different intermediate filament proteins.
Lab Invest 45 (5), 427 - 443

ALTMANNNSBERGER, M., M. OSBORN, E. HEISE, T. DIRK, M. DROESE, K. WEBER (1985):
Cytokeratine in Mammacarcinomen.
Verh Dtsch Ges Pathol 69, 204 - 205

ALTMANNNSBERGER, M., T. DIRK, M. DROESE, K. WEBER, M. OSBORN (1986):
Keratin polypeptide distribution in benign and malignant breast tumors.
Virchows Arch (B) 51, 265 - 275

ALTMANNNSBERGER, M. (1988):
Intermediärfilamentproteine als Marker in der Tumordiagnostik.
Fischer, Stuttgart, New York

ASCH, B. B., H. L. ASCH (1986):
A keratin epitope that is exposed in a subpopulation of preneoplastic and neoplastic mouse mammary epithelial cells but not in normal cells.
Cancer Res 46, 1255 - 1262

AZNAVOORIAN, S., A. N. MURPHY, W. G. STETLER - STEVENSON, L. A. LIOTTA (1993):
Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis.
Cancer 71, 1368

BÄSSLER, R. (1978):
Pathologie der Brustdrüse.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York

BARTEK, J., E. M. DURBAN, R. C. HALLOWES, J. TAYLOR (1985a):
A subclass of luminal epithelial cells in the human mammary gland, defined by antibodies to cytokeratins.
J Cell Sci 75, 17 - 33

BARTEK, J., J. TAYLOR - PAPADIMITRIOU, N. MILLER, R. MILLIS (1985b):
Patterns of expression of keratin 19 as detected with monoclonal antibodies in human breast tissues and tumours.
Int J Cancer 36 (3), 299 - 306

BARTH, V. (1990):
Organbefall bei Fernmetastasen.
in: Atlas der Brustdrüse und ihrer Erkrankungen, Enke Verlag, 230 ff.

BAUM, H. (1918):

Das Lymphgefäßsystem des Hundes.
Arch Wiss Prakt Tierheilk 44, 521 - 650

BENAZZI, C., G. SARLI, M. GALEOTTI, P. S. MARCATO (1993):

Basement membrane components in mammary tumours of the dog and cat.
J Comp Path Vol 109, 241 - 252

BIRKEDAL - HANSEN, H., W. G. I. MOORE, M. K. BODDEN (1993):

Matrix metalloproteinases: A review.
Crit Rev Oral Biol Med 4, 197

BLOOD, C. H., B. R. ZETTER (1990):

Tumor interactions with the vasculature: Angiogenesis and tumor metastasis.
Biochim Biophys Acta 1032, 89

BOENISCH, T. (1989):

Färbemethoden.
in: Naish, S. (Hrsg.), Handbuch II immunchemischer Färbemethoden,
DAKO Corporation, 22 - 27

BOMHARD, D., J. DREIACK (1977):

Statistische Erhebungen über Mammatumoren bei Hündinnen.
Kleintierpraxis 22, 205 - 209

BOSARI, S., A. K. C. LEE, R. A. DE LELLIS (1992):

Microvessel quantitation and prognosis in invasive breast carcinoma.
Hum Pathol 23, 755

BOSTOCK, D. E., L. N. OWEN (1976):

Kapitel 2 Milchdrüsen.
in: Geschwülste bei Katze, Hund und Pferd. Ein Farbatlas,
F. K. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 54 ff.

BOSTOCK, D. E. (1986):

Canine and feline mammary neoplasms.
Br Vet J 142, 506 - 515

BRATULIC, M., Z. GRABAREVIC, B. ARTUKOVIC, D. CAPAK (1996):

Number of nucleoli and nucleolar organizer regions per nucleus and nucleolus. Prognostic value in canine mammary tumors.
Vet Pathol 33, 527 - 532

BRODEY, R. S., C. F. REID, R. M. SAUER (1966):

Metastatic bone neoplasms in the dog.
J Am Vet Med Assoc 148, 29 - 43

BRODEY, R. S., M. H. GOLDSCHMIDT, J. R. ROSZEL (1983):

Canine mammary gland neoplasms.
JAAHA 19, 61 - 90

BUDRAS, K. D., FRICKE, W (1987):

Atlas der Anatomie des Hundes.
2. Aufl., Hannover, Schlütersche

BUSCH, U. (1993):

Immunhistochemischer Nachweis von okkulten Tumorzellemboli und Mikrometastasen in den regionären Lymphknoten beim kaninen Mammakarzinom sowie eine postoperative Studie am Mammakarzinom operierter Hündinnen.

Vet Med Diss, FU Berlin

BUSSOLATI, G., P. GUGLIOTTA, I. MORRA, F. PIETRIBIASI, E. BERADENGO (1986):

The immunohistochemical detection of lymph node metastases from infiltrating lobular carcinoma of the breast.

Br J Cancer 54, 631 - 636

CADY, B. (1984):

Lymph node metastases. Indicators, but not govvernors of survival.

Arch Surg 119, 1067 - 1072

CAMPANACCI, A. (1991):

Bone metastases from carcinomas.

in: Bone and soft tissue tumors, 677 - 699

CARDONA, A., B. R. MADEWELL, D. K. NAYDAN, J. K. LUND (1989):

A comparison of six monoclonal antibodies for detection of cytokeratins in normal and neoplastic canine tissues.

J of Vet Diag Invest 1 (4): 316 - 323

CARR, I. (1983):

Lymphatic metastases.

Cancer Metastasis Rev 2, 307 - 317

CARR, I., N. PETTIGREW, B. WEINERMAN (1987):

Lymphatic metastasis and its treatment.

Cancer Treat Rev 14, 53 - 64

CARTER, C. L., C. ALLEN, D. E. HENSON (1989):

Relation of tumor size, lymphnode state and survival in 24 740 breast cancer cases.

Cancer 63, 181

CASELITZ, J., H. E. STEGNER, M. OSBORN, B. WALTHER, K. WEBER (1985):

Die Rolle der Myoepithelzellen bei normalem und neoplastisch verändertem Mammagewebe.

Verh Dtsch Ges Pathol 69, 119 - 122

CHAUDHURY, A. R., P. A. D'AMORE (1991):

Endothelial cell regulation by transforming growth factor-beta.
J Cell Biochem 47, 224

CHRISTENSEN, G (1979):

The mammae.

in: Miller's anatomy of the dog, second edition, WB Saunders Company,
Philadelphia, London, Toronto, Mexico City, Rio de Janeiro, Sidney, Tokyo, 101 - 106

COOPER, D. A., A. SCHERMER, R. PRUSS, T. T. SUN (1984):

The use of aIF, AE 1 and AE 3 monoclonal antibodies for the identification and classification of mammalian epithel keratins.

Different 28, 30 - 35

COOPER, D. A., A. SCHERMER, T. T. SUN (1985):

Biology of disease. Classification of human epithelia and their neoplasms using monoclonal antibodies to keratin: Strategies, applications and limitations.

Lab Invest 52, 243 - 250

CORDELL, J. L., B. FALINI, W. N. ERBER, A. K. GHOSH, Z. ABDULAZIZ, S. MACDONALD, K. A. F. PULFORD, H. STEIN, D. Y. MASON (1984):

Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal antialkaline phosphatase (APAAP complexes).

J Histochem Cytochem 32, 219 - 229

COTCHIN, E. (1958):

Mammary neoplasms of the bitch.

J Comp Pathol 68, 1 - 22

CULLEN, K. J., A. ALLISON, I. MARTIRE (1992):

Insulin-like growth factor expression in breast cancer epithelium and stroma.

Cancer Res Treat 22, 21

DAHME, E., E. WEISS (1958):

Zur Systematik der Mammatumoren des Hundes.

DTW 65, 458 - 461

DAVIES, B., D. W. MILES, L. C. HAPPERFIELD (1993):

Activity of type IV collagenases in benign and malignant breast disease.

Br J Cancer 67, 1126

DELLA SALDA, L., G. SARLI, C. BENAZZI, P. S. MARCATO (1993):

Giant cells in anaplastic mammary carcinoma of the dog and cat.

J Comp Path 109, 345 - 360

DENK, H. (1986):

Morphologische Nachweismethoden: Morphologisches Spektrum (Prinzipien, Mechanismen, Wertigkeit).

Verh Dtsch Ges Pathol 70, 18 - 27

DESTEXHE, E., L. LESPAGNARD, M. DEGEYTER, R. HEYMANN, F. COIGNOUL (1993):
Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial and connective tissue cells in canine mammary tumors.

Vet Pathol 30, 146 - 154

DIEL, I. J. , R. COLEMAN, R. D. RUBENS (1994):

Nature of metastatic bone disease.

in: Metastatic bone disease, Springer Verlag, 31 - 32

DOERR, W., G. SEIFERT, E. UEHLINGER (1978):

B III : Morphologie der Mamma der geschlechtsreifen Frau. 2 k) Lymphgefäße und regionäre Lymphknotengruppen.

in: Spezielle Pathologische Anatomie Band 11 : Pathologie der Brustdrüse, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 78 - 83

DOERR, W (1984):

Rundtischgespräch über diagnostische Probleme der Metastasierung.

Verh Dtsch Ges Pathol 68, 164 - 185

DUHM, B. (1990):

Darstellung von Intermediärfilamenten mit Hilfe der APAAP - Methode.

Mta 5, 5 - 19

EL ETREBY, M. F., K. J. GRÄF, P. GÜNZEL, F. NEUMANN (1979):

Evaluation of effects of sexual hormones of animals and man.

Arch Toxicol Suppl 2, 11 - 39

ELSE, R. W., D. HANNANT (1979):

Some epidemiological aspects of mammary neoplasia in the bitch.

Veterinary Record 104, 296 - 304

ERLANDSON, R. (1984):

Diagnostic immunohistochemistry of human tumors. An interim evaluation. Editorial.

Am J Surg Path 8, 615 - 624

ESKENS, U. (1983):

Statistische Untersuchungen über nach den Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) klassifizierte Geschwülste des Hundes unter besonderer Berücksichtigung der Mamma- und Hauttumoren.

Vet Med Diss, Gießen

EVANS, H. E. (1993):

The lymphatic system.

in: Miller: Anatomy of the dog, WB Saunders, Philadelphia, 717

EWERBECK, V. (1992):

Chirurgische Therapie von Skelettmastasen.

B. Krempien, C. Manegold: Kap. I Pathologie, Springer Verlag, 5 ff.

FERGUSON, H. R. (1985):

Canine mammary gland tumors.

Vet Clin North Am (Small Anim Pract) 15, 501 - 511

FEUER, E. J., LAP - ING WUN, C. C. BORING, W. D. FLANDERS, M. J. TIMMEL, T. TONG
(1993):

The lifetime risk of developing breast cancer. Reports.

J Natl Cancer Inst 85, 892 - 897

FIDLER, I. J., R. S. BRODEY (1967a):

The biological behavior of canine mammary neoplasms.

J Am Vet Med Ass, 151, No. 10, 1311 - 1318

FIDLER, I. J., R. S. BRODEY (1967b):

A necropsy study of canine malignant mammary neoplasms.

J Am Vet Med Ass 151, No. 6, 710 - 715

FIDLER, I. J., R. McWILLIAMS, S. BECH - NIELSON (1975):

Role of the regional lymph node in neoplasia: Cellular mediated activity in vitro by autologous regional or distant lymph nodes or peripheral blood lymphocytes of dogs with spontaneous neoplasms.

Immunol Comm 4, 325 - 335

FIDLER, I. J. (1985):

Macrophages and metastasis- a biological approach to cancer therapy.

Cancer Res 45, 4714

FISHER, B., E. FISHER (1967):

Barrier functions of lymph nodes to tumor cells and erythrocytes. I. Normal nodes.

Cancer 52, 1907 - 1913

FISHER, B., E. FISHER (1971):

Studies concerning the regional lymph node in cancer. I. Initiation of immunity.

Cancer 27, 1001 - 1004

FISHER, B., E. FISHER (1972):

Studies concerning the regional lymph node in cancer. II. Maintenance of immunity.

Cancer 29, 1496 - 1501

FISHER, B., N. WOLMARK, J. COYLE (1975):

Studies concerning the regional lymph node in cancer. VIII. Effect of two asynchronous foci on lymph node cell cytotoxicity.

Cancer 36, 521 - 527

FISHER, B., N. GUNDUZ, E. A. SAFFER (1983):

Influence of the intervval between primary tumor remoal and chemotherapy on kinetics and growths of metastasis.

Cancer Res 43, 1488

FOLKMANN, J. (1990):

What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?
J Natl Cancer Inst 82, 4

FRANK, D. W., K. T. KIRTON, T. E. MURCHISON, W. J. QUINLAN, M. E. COLEMAN, T. J. GILBERTSON, E. S. FEENSTRA, F. A. KIMBALL (1979):

Mammary tumors and serum hormones in the bitch treated with medroxyprogesterone acetate for four years.
Fert Steril 31, 340 - 346

FRESE, K. (1985):

Vergleichende Pathologie der Mammatumoren bei Haustieren.
Verh Dtsch Ges Pathol 69, 152 - 170

FRESE, K., B. DURCHFELD, U. ESKENS (1989):

Klassifikation und biologisches Verhalten der Haut- und Mammatumoren von Hund und Katze.
Der praktische Tierarzt 9, 69 - 84

FUCHS, E., S. COPPOCK, H. GREEN, D. W. CLEVELAND (1981):

Two distinct classes of keratin genes and their evolutionary significance.
Cell 27, 75 - 84

GALEA, M. H., E. ATHANASSIOU, J. BELL, B. DILKS, J. F. ROBERTSON, C. W. ELSTON, R. W. BLAMEY, I. O. ELLIS (1991):

Occult regional lymph node metastases from breast carcinoma: Immun histological detection with antibodies CAM 5.2 and NCRC-11.
J Pathol 165, 221 - 227

GEISLER, N., K. WEBER (1981):

Comparison of the proteins of two immunologically distinct intermediate sized filaments by amino acid sequence analysis: desmin and vimentin.
Proc Nat Acad Sci USA 78, 4120 - 4123

GEISLER, N., E. KAUFMANN, K. WEBER (1985):

Antiparallel orientation of the two double-stranded coiled-coils in the tetrameric protofilament unit of intermediate filaments.
J Mol Biol 182, 173 - 177

GEORGII, A. (1984):

Rundtischgespräch über diagnostische Probleme der Metastasierung.
Verh Dtsch Ges Pathol 68, 164 - 185

GEPPERT, M., Z. PAWLOWSKI, R. BEINHOFER (1984):

Zur Frage der Relevanz histologischer Befunde an axillären Lymphknoten beim Mammakarzinom.
Verh Dtsch Ges Pathol 68, 272 - 275

GIBBS, C., H. R. DENNY, V. M. LUCKE (1985):

The radiological features of non-osteogenic malignant tumours of bone in the appendicular skeleton of the dog: A review of thirty-four cases.

J Small Anim Pract 26, 537 - 553

GILSON, S. D. (1995):

Clinical management of the regional lymph node.

The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, Vol 25, No 1,

WB Saunders Comp, 149 - 167

GILBERTSON, S. R., I. D. KURZMAN, R. E. ZACHRAU, A. I. HURVITZ, M. M. BLACK (1983):

Canine mammary epithelial neoplasms: Biologic implications of morphologic characteristics assessed in 232 dogs.

Vet Pathol 20, 127 - 142

GILES, R. C., R. P. KWAPIEN, R. G. GEIL, H. W. CASEY (1978):

Mammary nodules in beagle dogs administered investigational oral contraceptive steroids.

J Nat Cancer Inst 60, 1351 - 1364

GOEDEGEBUURE, S. A. (1979):

Secondary bone tumours in the dog.

Vet Pathol 16, 520 - 529

GOLDSCHMIDT, M. H., D. E. THRALL (1985):

Secondary bone tumors in the dog.

Textbook of Small Animal Orthopaedics, Ch. D. Newton, D.M. Nuvamaker, 909 - 910

GORELIK, E., E. BERE, R. HERBERMAN (1984):

Role of NK cells in the antimetastatic effect of anticoagulant drugs.

In J Cancer 33, 87

GOWN, A. M., A. M. VOGEL (1985):

Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins. III. Analysis of tumors.

Am J Clin Pathol 84, 413 - 424

GRAU, H. (1974):

Das Lymphgefäßsystem.

in: Ellenberger, Baum: Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere,

18. Auflage, Springer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York, 746 - 808

GRIFFEY, S. M., B. R. MADEWELL, S. H. DAIRKEE, J. E. HUNT, D. K. NAYDAN, R. J. HIGGINS (1993):

Immunohistochemical reactivity of basal and luminal epithelium-specific cytokeratin antibodies within normal and neoplastic canine mammary glands.

Vet Pathol 30, 155 - 161

- GUTBERLET, K. (1994):
Mammatumoren bei Hunden: Immunhistochemische Darstellung von Gefäßendothel bei Krebszelleinbrüchen und Überarbeitung der WHO - Klassifikation.
Vet Med Diss, FU Berlin
- GUTBERLET, K., R. RUDOLPH (1996):
Angiosis carcinomatosa bei Mammatumoren der Hündin. Häufigkeit und Verbindung mit prognostisch wichtigen Faktoren.
Keintierpraxis 41, Heft 7, 473 - 482
- GUTBERLET, K., R. RUDOLPH, N. WEY, L. BRUNNBERG (1998):
Mammatumoren der Hündin
in: E. Wiesner: Handlexikon der tierärztlichen Praxis, 564 - 565
- HAAGENSEN, C. D. (1972):
Diseases of the breast.
2nd Edition Philadelphia, W. B. Saunders
- HABERMEHL, K. H. (1984):
Haut und Hautorgane: Milchdrüse, Mamma
in: Nickel, Schummer, Seiferle: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere,
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 485 - 492
- HAMILTON, J. M., R. W. ELSE, P. FORSHAW (1977):
Oestrogen receptors in canine mammary tumours.
Vet Rec 101, 258 - 260
- HANUKOGLU, I., E. FUCHS (1982):
The cDNA sequence of a human epidermal keratin: Divergence of sequence but conservation of structure among intermediate filament proteins.
Cell 31, 243 - 252
- HART, I. R. (1982):
Seed and soil revisited: mechanisms of site-specific metastasis.
Cancer Met Rev 1, 5
- HARVEY, H. J. (1976):
General principles of veterinary oncologic surgery.
J Am Anim Hosp Assoc 12, 335 - 339
- HELLMEN, E., R. BERGSTRÖM, L. HOLMBERG, I. B. SPANGBERG, K. HANSSON,
A. LINDGREN (1993):
Prognostic factors in canine mammary tumors: A multivariate study of 202 consecutive cases.
Vet Pathol 26, 420 - 428
- HERLYN, M., S. B. MALKOWICZ (1991):
Biology of disease: Regulatory pathways in tumor growth and invasion.
Lab Invest 65, 262

HONN, K. V., D. G. TANG (1992):

Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix.
Cancer Met Rev 11, 353

HONN, K. V., D. G. TANG, J. D. CRISSMAN (1992):

Platelets and cancer metastasis: A causal relationship?
Cancer Met Rev 11, 325

HÜBNER, K. (1984):

Rundtischgespräch über diagnostische Probleme der Metastasierung.
Verh Dtsch Ges Pathol 68, 164 - 185

HÜLSKEN, J., J. BEHRENS, W. BIRCHMEIER (1994):

Tumor suppressor gene products in cell contacts.
Curr Opin Cell Biol 6, 711 - 716

HYNES, R., A. DESTREE (1978):

10 nm filaments in normal and transformed cells.
Cell 13, 151 - 163

JACOBSON, S. A. (1971):

The comparative pathology of the tumours of bone.
Charles C Thomas, Springfield III, 379 - 381

JOHNSTON, A. D. (1970):

Pathology of metastatic tumors in bones.
Clin Orthop 73, 8 - 32

JONAT, W., H. EIDTMANN, K. FRIEDRICHS (1994):

Prognosefaktoren beim Mammakarzinom.
Gynäkologe 27, 37 - 44

JUAREZ, J., G. CLAYMAN, M. NAKAJIMA (1993):

Role and regulation of expression of 92-kDa type-IV collagenase (mmp-9) in 2 invasive squamous-cell-carcinoma cell lines of the oral cavity.
Int J Cancer 55, 10

KÄLIN, S., M. SUTER, G. LOTT - STOLZ (1985):

Mammatumoren beim Hund: Beurteilung, Prognose und biologisches Verhalten.
Schweiz Arch Tierheilk 127, 205 - 212

KAS, N. P., R. O. VAN DER HEUL, W. MISDORP (1969):

Metastatic bone neoplasms in dogs, cats and a lion (with some comparative remarks on the situation in man).
Zbl Vet Med, Reihe A, Bd 17, Heft 10

- KHOKHA, R., M. J. ZIMMER, S. M. WILSON, A. F. CHAMBERS (1992):
Up-regulation of TIMP-1 expression in B16-F10 melanoma cells suppress their metastatic ability in chick embryo.
Clin Exp Metastasis, 10, 365
- KLAGSBRUN, M., P. A. D. D'AMORE (1991):
Regulators of angiogenesis.
Ann Rev Physiol 53, 217
- KORCZAK, B., R. S. KERBEL, J. DENNIS (1991):
Constitutive expression and secretion of proteases in non-metastatic SP1 mammary carcinoma cells and its metastatic sublines.
Int J Cancer 48, 557
- LEAV, I., G. V. LING (1968):
Adenocarcinoma of the canine prostate.
Cancer 22, 1329
- LIEBICH, H. G. (1990):
Funktionelle Histologie, Farbatlas und Kurzlehrbuch der mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere.
Schattauer, Stuttgart, New York
- LOBECK, H (1990):
Orthologie und Pathologie der Zytokeratine.
Med. Habilitation, Berlin
- MAASS, H (1994):
Mammakarzinom: Epidemiologie.
Gynäkologe 27, 3 - 6
- MAC VEAN, D. W., A. W. MONLUX, P. S. ANDERSON JR., S. L. SILBERG, J. F. ROSZEL (1978):
Frequency of canine and feline tumors in a defined population.
Vet Pathol 15, 700 - 715
- MAGNOL, J. P., S. ACHACHE (1983):
Les tumeurs mammaires dans l'espèce canine.
in: *Cancérologie Vétérinaire et Comparée Générale et Appliquée*, Paris, Vigot & Frères, 346 - 350
- MAHADEVAN, V., I. R. HART (1990):
Metastasis and angiogenesis.
Acta Oncologica 29, 97
- MALEK, P., A. BELAN, J. KOLC (1965):
In vivo evidence of lymphovenous communications in the popliteal region.
Acta Radiol Diagn 3, 344 - 352

MAREEL, M. M., F. M. VVAN ROY, P. DE BAETSELIER (1990):
The invasive phenotypes.
Cancer Metastasis Rev 9, 45

MEPHAM, B. L., W. FRATER, B. S. MITCHELL (1979):
The use of proteolytic enzymes to improve immunoglobulin staining by the PAP technique.
Histochem J 11, 345 - 357

MIALOT, J. P., F. LAGNEAU, A. L. PARODI, F. ANDRÉ (1980):
Tumeurs mammaires de la chienne.
Le Point Vét 11 (52), 99 - 106

MIETTINEN, M, V. P. LETHO, I. VIRTANEN (1984):
Antibodies to intermediate filament proteins in the diagnosis and classification of human tumors.
Ultrastruct Pathol 7, 83 - 107

MISDORP, W. (1964):
Malignant mammary tumours in the dog and the cat compared with the same in the woman.
Thesis, Utrecht

MISDORP, W., B. A. DEN HERDER (1966):
A report of 10 cases in the female dog and some comparison with human cases.
Br J Cancer 20, 496 - 503

MISDORP, W., E. COTCHIN, J. F. HAMPE, A. G. JABARA, J. VON SANDERSLEBEN (1971):
Canine malignant mammary tumors: I. Sarcomas.
Vet Path 8, 99 - 117

MISDORP, W., E. COTCHIN, J. F. HAMPE, A. G. JABARA, J. VON SANDERSLEBEN (1972):
Canine malignant mammary tumors: II. Adenocarcinomas, solid carcinomas and spindle cell carcinomas.
Vet Path 9, 447 - 470

MISDORP, W., E. COTCHIN, J. F. HAMPE, A. G. JABARA, J. VON SANDERSLEBEN (1973):
Canine malignant mammary tumors: III. Special types of carcinomas, malignant mixed tumors.
Vet Path 10, 241 - 256

MISDORP, W., J. F. HAMPE (1974):
Tumors and dysplasias of the mammary gland.
Bull WHO 50, 111 - 133

MISDORP, W. (1976):
Histologic classification and further characterization of tumors in domestic animals.
Adv Vet Sci 20, 191 - 221

MISDORP, W., A. A. M. HART (1976):
Prognostic factors in canine mammary cancer.
J Natl Cancer Inst 56, 779 - 786

- MISDORP, W., A. A. M. HART (1979):
Canine mammary cancer. I. Prognosis.
J Small Anim Pract 20, 385 - 394
- MITCHELL, L., F. A. DE LA IGLESIA, M. S. WENKOFF (1974):
Mammary tumors in dogs: Survey of clinical and pathological characteristics.
Canad Vet J 15, 131 - 138
- MOLL, R., W. W. FRANKE, D. L. SCHILLER (1982):
The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells.
Cell 31, 11 - 24
- MOLL, R. (1986):
Epitheliale Tumormarker.
Verh Dtsch Ges Pathol 70, 28 - 50
- MOLL, R. (1988):
Differenzierungsprogramme des Epithels und ihre Änderungen.
Verh Dtsch Ges Pathol 72, 102 - 114
- MONLUX, A. W., J. ROSZEL, D. W. MACVEAN, T. W. PALMER (1977):
Classification of epithelial canine mammary tumors in a defined population.
Vet Pathol 14, 194 - 217
- MORGAN, J. P. (1972):
Radiology in veterinary orthopedics.
Lea & Febiger, Philadelphia, 154 ff.
- MORTON, R. A., C. M. EWING, A. NAGAFUCHI (1993):
Reduction of E-cadherin levels and deletion of the alpha-catenin gene in human prostate cancer cells.
Cancer Res 53, 3585
- MOULTON, J. E., D. O. N. TAYLOR, C. R. DORN, A. C. ANDERSEN (1970):
Canine mammary tumors.
Pathol Vet 7, 289 - 320
- MOULTON, J. E., L. S. ROSENBLATT, M. GOLDMAN (1986):
Mammary tumors in a colony of beagle dogs.
Vet Pathol 23, 741 - 749
- MOULTON, J. E. (1990):
Tumors of the mammary gland.
in: Moulton, J. E. Tumors of domestic animals, third edition, Univ. of California Press Berkeley, Los Angeles, London, 518 - 552
- MÜLLER, H., H. L. SCHMIDTS, T. SAKUMA, H. J. STUTTE (1984):
Morphologische Untersuchungen des Stromas von Mammakarzinomen.
Verh Dtsch Ges Path 69, 264 - 268

- MULLIGAN, R. M. (1975):
Mammary cancer in the dog: A study of 120 cases.
Am J Vet Res 36, Vol. 9, 1391 - 1396
- NAGLE, R. B., W. BÖCKER, J. R. DAVIS, H. W. HEID, M. KAUFMANN, D. O. LUCAS, D. E. JARASCH (1986):
Characterization of breast carcinomas by two monoclonal antibodies distinguishing myoepithelial from luminal epithel cells.
J Histochem Cytochem 34, 869 - 881
- NELSON, L. W., W. A. KELLY (1974):
Changes in canine mammary gland histology during the estrous cycle.
Toxicol Appl Pharmacol 27, 113 - 122
- NERURKAR, V. R., A. R. CHITALE, B. V. JALNAPURKAR, S. N. NAIK, V. S. LALITHA (1989):
Comparative pathology of canine mammary tumours.
J Comp Path 101, 389 - 397
- NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE (1984a):
Das Lymphgefäßsystem.
in: Nickel, Schummer, Seiferle: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. III Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane, Verlag Paul Parey Berlin und Hamburg, 384 ff.
- NICKEL, R., A. SCHUMMER, K. H. WILLE, H. WILKENS (1984b):
Passiver Bewegungsapparat. Skelettsystem.
in: Nickel, Schummer, Seiferle: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. I Bewegungsapparat, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 12 ff.
- NICOLSON, G. L. (1987):
Tumor cell instability, diversification and progression to the metastatic phenotype: From oncogene to oncofetal expression.
Cancer Res 47, 1473
- OGILVIE G. K., R. C. STRAW, V. J. JAMESON (1993):
Evaluation of single-agent chemotherapy for treatment of clinically evident osteosarcoma metastases in dogs: 45 cases (1987-1991).
J Am Vet Med Assoc 202, 304
- ORUZIO, D., D. HEMPEL, G. SCHLIMOK (1997):
Knochenmarksmikrometastasen epithelialer Tumoren. Nachweis und klinische Bedeutung.
Onkologie 3, 66 - 72
- OSBORN, M., K. WEBER (1983):
Biology of disease. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology.
Lab Invest 48, 372 - 394

OWEN, L. N. (1962):

The differential diagnosis of bone tumours in the dog.
Vet Rec 74, 439 - 446

OWEN, L. N. (1969):

Bone tumors in man and animals.
Butterworth, London, 129 - 139

OWEN, L. N. (1979):

A comparative study of canine and human breast cancer.
Invest Cell Pathol 2, 257 - 275

PAGET, J. (1889):

The morton lecture of cancer and cancerous diseases.
Brit Med J 2, 1091 - 1094

PANTEL K., C. AIGNHERR, J. KOELLERMANN (1995):

Immunocytochemical detection of isolated tumor cells in bone marrow of patients with untreated stage C prostatic cancer.
Eur J Cancer 31, 1627 - 1632

PANTEL, K., J. IBZBICKI, B. PASSLICK (1996):

Frequency and prognostic significance of isolated tumor cells in bone marrow of patients with non-small-cell lung cancer without overt metastases.
Lancet 347, 649 - 653

PAULI, B. U., H. G. AUGUSTIN - VOSS, M. E. EL - SABBAN (1990):

Organ-preference of metastasis.
Cancer Met Rev 9, 175

PHARR, J. W. (1994):

Secondary malignant bone tumours in the dog.
Veterinary Annual 34, 228 - 234

REMMELE, W. (1984):

Hämatogene Metastasierung / Organmetastasen.
in: Pathologie 3, Springer Verlag, 359 - 360

RIEDE, U. N., H. WEHNER (1986):

Autonomes Zellwachstum (Tumorpathologie).
in: Allgemeine und spezielle Pathologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 296 - 332

RIES, L. A. G., D. E. HENSON, B. A. HARRAS (1994):

Survival from breast cancer according to tumor size and nodal status.
Surg Oncol Clin North Am 3, 35 - 54

ROMEIS, B. (1989):

Mikroskopische Technik / Romeis

Neubearbeitet und herausgegeben von P. Blöck, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 17. Auflage

ROGERS, K. S., C. L. BARTON, M. LANDIS (1993):

Canine and feline lymph nodes. Part I. Anatomy and function.

Compend Contin Educ Pract Vet 15, 397 - 409

RUSSELL, R. G., M. WALKER (1983):

Metastatic and invasive tumors of bone in dogs and cats.

Vet Clin North Am 13, 163 - 180

SANDERSLEBEN, J. VON (1959):

Beitrag zur Frage der Malignität der Mammatumoren des Hundes.

Mh Tierheilk 11, 191 - 198

SANDERSLEBEN, J. VON (1968):

Die malignen Mammatumoren der Hündin unter besonderer Berücksichtigung ihrer Prognose.

Zbl Vet Med 15 (1), 111 - 115

SAUTET, J. Y., J. RUBERTE, C. LOPEZ, J. M. GINE, G. ORDONEZ, A. CINGIA (1992):

Lymphatic system of the mammary glands in the dog: An approach to the surgical treatment of malignant mammary tumors.

Can Pract 17 (2), 30 - 33

SCHLIMOK, G., I. FUNKE, B. HOLZMANN (1987):

Micrometastatic cancer cells in bone marrow: in vitro detection with anti-cytokeratin and in vivo labeling with anti-17-1A monoclonal antibodies.

Proc Natl Acad Sci USA 84, 8672 - 8676

SCHLOTKE, B. (1976):

Histochemische Untersuchungen zur Rolle der Myoepithelien (MEZ) bei der Morphogenese von Mammatumoren bei der Hündin. Teil 3: Immunhistochemische Befunde an Mammatumoren.

Zbl Vet Med A 23, 677 - 682

SCHNEIDER, R. (1970):

Comparison of age, sex and incidence rates in human and canine breast cancer.

Cancer 26, 419 - 426

SCHNEIDER, R., C. R. DORN, D. O. TAYLOR (1969):

Factors influencing canine mammary cancer development and postsurgical survival.

J Natl Cancer Inst 43 (6), 1249 - 1261

SIMON, D., P. GORONZY, I. STEPHAN, A. MEYER - LINDENBERG, M. AUFDERHEIDE, I. NOLTE (1996):

Mammatumoren beim Hund: Untersuchung zu Vorkommen und Verlauf der Erkrankung.

Prakt Tierarzt 77, Heft 9, 771 - 782

SORENSEN, S. C., B. B. ASCH, J. L. CONOLLY, N. A. BURSTEIN, H. L. ASCH (1987):
Structural distinctions among human breast epithelial cells revealed by the monoclonal antikeratin antibodies AE 1 and AE 3.
J Pathol 153, 151 - 162

STEINERT, P. M., A. C. STEVEN, D. R. ROOP (1985):
The molecular biology of intermediate filaments.
Cell 42, 411 - 419

STETLER - STEVENSON, W. G. (1990):
Type IV collagenases in tumor invasion and metastasis.
Cancer Metastasis Rev 9, 289

STOSIEK, P., M. KASPER, R. GOERTCHEN, U. KARSTEN (1986):
Metastasenachweis beim Mammakarzinom - Vergleichende histologische und immunhistochemische Untersuchungen mittels monoklonaler Anti-Zytokeratinantikörper an axillären Lymphknoten.
Pathologie 7, 324 - 326

STOSIEK, P., B. GERBER, M. KASPER (1996):
Zur prognostischen Bedeutung von Mikrometastasen in axillären Lymphknoten beim Mammakarzinom.
Pathologie 17, 433 - 439

SUN, T. T., S. C. G. TSENG, D. COOPER, A. HUANG, A. SCHERMER, M. H. LYNCH, R. WEISS, R. EICHNER (1984):
Monoclonal antibody studies of mammalian epithel keratins: A review.
Ann New York Acad Sci 455, 307 - 329

TACHIBANA, T., K. YOSHIDA (1986):
Role of the regional lymph node in cancer metastasis.
Cancer Med Rev 5, 55 - 66

THEILEN, G. H., B. R. MADEWELL (1979):
Tumors of the mammary glands.
in: Veterinary Cancer Medicine, Lea & Febiger, Philadelphia, 192 - 203

TOBIAS, J. (1991):
Treatment of metastatic disease: Spread into the skeleton.
in: Cancer, A colour atlas, Gower Medical Publishing, 106 - 107

TSENG, S. C. G., M. J. JARVINEN, W. G. NELSON, J. W. HUANG, J. WOODCOCK - MITCHELL, T. T. SUN (1982):
Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: Monoclonal antibody studies.
Cell 30, 361 - 372

VAN OUYEN, P. G., W. MISDORP (1967):
Metastasierte Mammatumoren beim Hund. II. Klinisch-pathologische Untersuchungen über Sarkome und Karzino-Sarkome der Milchdrüse.
Zbl Vet Med A 14, 328 - 334

VIRTANEN, I., M. MIETTINEN, V. P. LETHO (1984):

Diagnostic application of monoclonal antibodies to intermediate filaments.
Ann N Y Acad Sci 455, 635 - 647

VOLLMERHAUS, B. (1984):

Lymphatisches System.

in: Nickel, Schummer, Seiferle: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. III Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane,

Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 276 - 452

VOS, J. H., T. S. G. A. M. VAN DEN INGH, W. MISDORP, R. F. MOLENBEEK, F. N. VAN MIL, G. R. RUTTEMANN, D. IVANYI, F. C. S. RAMAEKERS (1993):

Immunohistochemistry with keratin, vimentin, desmin and alpha smooth muscle actin monoclonal antibodies in canine mammary gland: Malignant mammary tumours.

Vet Quarterly 14, 96 - 102

VYKOUPIK, K. F., B. SOUDAH, H. CHORITZ, U. NICOLAI, A. GEORGII (1984):

Häufigkeit und Erfassung der Metastasierung von Carcinomen im Knochenmark.

Verh Dtsch Ges Pathol 68, 307 - 310

WALTER, J. H., S. KLING (1995):

Biochemical and immunohistochemical characterisation of cytokeratins in normal and neoplastic canine mammary glands.

Europ J of Vet Pathol Vol.1, 3, 105 - 111

WATERS, D. J. (1995):

Tumor metastasis: Current biologic concepts and their implications for control of residual disease.

The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice, Vol 25, No 1,

WB Saunders Comp, 231 - 247

WEBER, K., M. OSBORN (1982):

The cytoskeleton.

Natl Canc Inst Monograph 60, 31 - 46

WEBER, K., N. GEISLER (1984):

Intermediate filaments from wool alpha-keratins to neurofilaments: A structural overview.

in: The transformed phenotype, cancer cells, Vol 1, Cold Spring Harbor Laboratory,

Cold Spring Harbor, 153 - 159

WEIDNER, N., J. FOLKMAN, F. POZZA (1992):

Tumor angiogenesis: A new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma.

J Natl Cancer Inst 84, 1875

WEISS, E. (1984):

Die Metastasierung von Spontantumoren der Haustiere.

Verh Dtsch Ges Pathol 68, 67 - 76

WEISS, E., E. KARBE (1990):

Geschwülste. In: Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin.
H. Stünzi, E. Weiss, 8. Auflage, Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg

WEISS, L., F. W. ORR, K. V. HONN (1988):

Interactions of cancer cells with the microvasculature during metastasis.
FASEB J 2, 12

WELLS, C. A., A. HERYET, J. BROCHIER, K. C. GATTER, D. Y. MASON (1984):

The immunocytochemical detection of axillary micrometastases in breast cancer.
Br J Cancer 50, 193 - 197

WILHELM, O., U. REUNING, F. JÄHNICKE, M. SCHMITT, H. GRAEFF (1994):

The roll of proteases in tumor invasion and metastasis.
Onkologie 17, 358 - 366

WILKENS, H. (1984):

Venen, Venae.

in: Nickel, Schummer, Seiferle: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd III Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane,
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 190 ff.

WILKINSON, G. T. (1971):

The treatment of mammary tumours in the bitch and a comparison with the cat.
Vet Rec 89, 13 - 16

WITHROW, S. J., E. G. MACEWEN (1996):

Small animal clinical oncology, WB Saunders, 2nd Ed.

WITTEKIND, C., U. N. RIEDE (1986):

Brustdrüse.

in: Riede, Wehner: Allgemeine und spezielle Pathologie,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 807 - 817

WOODCOCK - MITCHELL, J., R. EICHNER, W. G. NELSON, T. T. SUN (1982):

Immunolocalisation of keratin polypeptides in human epidermis using monoclonal antibodies.
J Cell Biol 95, 580 - 588

YAITA, H., K. YASUMOTO, A. NAGASHIMA (1988):

Antitumor actiity of regional lymph node lymphocytes in patients with lung cancer.
J Surg Oncol 38, 165 - 172

YOSHIDA, K., T. TACHIBANA (1985):

Studies on lymphatic metastases. I. Primary immunoregulatory role of regional lymph nodes in the establishment of lymphatic metastases.
J Natl Cancer Inst 75, 1049 - 1058

9. Lebenslauf

Name: Ulrich Arnicke
Geburtsdatum: 13. September 1964
Geburtsort: Osnabrück
Familienstand: verheiratet, 2 Kinder

Ausbildung:

1971-1975 Overberg Grundschule Paderborn
1975-1984 Reismann Gymnasium Paderborn
Mai 1984 Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife
WS 1984/85 Studium der Chemie an der Universität-Gesamtschule
Paderborn
01/85-04/86 Wehrdienst als Sanitäter am Standort Augustdorf/Westfalen
10/86-10/89 Ausbildung zum Krankenpfleger im St. Johannisstift Paderborn
10/89-02/96 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
März 1996 Approbation als Tierarzt

Berufstätigkeit:

05/96-12/98 Doktorand am Institut für Veterinär-Pathologie
der Freien Universität Berlin

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Roland Rudolph für die Überlassung des Themas sowie für die gewährte Unterstützung und Beratung bei der Abfassung der Arbeit.

Frau Dr. Katrin Gutberlet danke ich für die intensive Betreuung während des praktischen und schriftlichen Teils der Doktorarbeit und für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung und Auswertung der Untersuchungen.

Frau Petra Nehrig danke ich für die Hilfe bei der Anfertigung der Knochenpräparate.

Herrn Dr. Hans-Werner Fuchs gilt mein Dank für das leihweise zur Verfügung gestellte Mikroskop.

Herrn Dr. Jakob Walter danke ich für die Hilfe bei der Auswertung der immunhistochemischen Knochenschnitte.

Allen Mitdoktoranden/innen, insbesondere Frau Ute Schulden und Frau Andrea Golombiewski, sowie allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie möchte ich für die oft nützlichen und klärenden Gespräche danken.

Auch allen niedergelassenen Tierärzten, die mir Material für meine Doktorarbeit zukommen ließen, gilt mein Dank.

Das herzlichste Dankeschön geht an meine liebe Frau Annette, die in den letzten zwei Jahren unsere beiden Söhne immer dann alleine betreute, wenn deren Vater mit seiner Doktorarbeit beschäftigt war. Nur mit Annettes Hilfe konnte diese Arbeit gelingen.