

D. ERGEBNISSE

1. Rasse und Alter der Tiere in den verschiedenen Gruppen

Tab. 4: Fibrosarkom

Rasse	n	Rasse	n	Rasse	n
Airdale Terrier	1	Cocker Spaniel	1	Riesenschnauzer	1
Alaskan Malamute	1	Dobermann	1	Rottweiler	3
Beagle	1	Deutscher Schäferhund	2	Scotch Terrier	1
Bobtail	1	Golden Retriever	1	Teckel	1
Boxer	2	Irischer Wolfshund	2	Mischling	4
Bullmastiff	1	Pudelpointer	1		

männlich: 16

keine Angabe: 3

weiblich: 6

Arithmetisches Mittel Alter: 7,94 Jahre

Tab. 5: chronische Entzündung

Rasse	n	Rasse	n	Rasse	n
Basset	1	Deutscher Wachtelhund	1	Riesenschnauzer	3
Bouvier des Flandres	1	Deutscher Schäferhund	5	Rottweiler	1
Boxer	1	Großer Schweizer Sennenhund	1	Teckel	1
Cocker Spaniel	1	Münsterländer	1	Mischling	7

männlich: 16

keine Angabe: 3

weiblich: 5

Arithmetisches Mittel Alter: 6,12 Jahre

Tab. 6: Narbengewebe

Rasse	n	Rasse	n	Rasse	n
Berner Sennenhund	2	Pekinese	1	Staffordshire Terrier	2
Deutscher Schäferhund	1	Rottweiler	1	Teckel	7
Kaukasischer Ovtcharka	1	Shih Tzu	1	Tibet Terrier	1
Mischling	8				

männlich: 17

weiblich: 8

Arithmetisches Mittel Alter: 4,37 Jahre

Narbengewebe wurde von Hunden punktiert, bei denen folgende Operationen durchgeführt wurden:

Diskusfensterung	n = 11
Osteosynthese Os femoris	n = 3
Ruptur des vorderen Kreuzbandes	n = 3
Korrekturosteotomie Ulna	n = 2
Luxatio tarsi	n = 1
Wirbelfraktur	n = 1
Fraktur des Processus anconaeus	n = 1
Korrekturosteotomie Patellaluxation	n = 1
Endoprothetik Hüftgelenk	n = 1
Thoraxverletzung	n = 1

2. Statistische Auswertung

2.1 Allgemeine Merkmale

Die Qualität der Präparate (Tab. 7) wurde mehrheitlich mit gut (64 %) bewertet, dabei war der Anteil der Präparate mit ausreichender Qualität bei den chronischen Entzündungen (56 %) höher als bei den beiden anderen Gruppen.

Bei den Narben waren überwiegend Präparate mit einem geringen Zellgehalt vertreten (60 % geringer Zellgehalt). Bei chronischen Entzündungen variierte der Zellgehalt am stärksten. Die Gruppe der Fibrosarkome wies den höchsten Anteil an mittlerer oder hoher Zellularität auf (44% - 40 %). In allen Gruppen waren die meisten Präparate mittelgradig mit Blut kontaminiert (44 - 52 %). In keinem Fibrosarkompräparat wurden Bakterien gefunden, dagegen waren 24 % der chronischen Entzündungspräparate und 4 % der Narbenpräparate bakteriell kontaminiert (Tab. 7).

Tab. 7: Allgemeine Merkmale

Merkmal		Fibrosarkom n = 25	chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Total n = 75	Signifikanz
Qualität	ausreichend	32 %	56 %	20 %	36 %	p = 0,026
	gut	68 %	44 %	80 %	64 %	
Zellgehalt	gering	16 %	32 %	60 %	36 %	p = 0,020
	mittel	44 %	28 %	24 %	32 %	
	hoch	40 %	40 %	16 %	32 %	
Blut- kontamination	keine	4 %	4 %	0 %	2,7 %	p = 0,779
	wenig	20 %	24 %	32 %	25,3 %	
	mittlere	44 %	48 %	52 %	48 %	
	hohe	32 %	24 %	16 %	24 %	
Bakterien	nicht vorhanden	100 %	76 %	96 %	90,7 %	p = 0,008
	vorhanden	0 %	24 %	4 %	9,3 %	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt.

2.2 Zellpopulation

Bei Fibrosarkomen hatten die Fibroblasten den größten Anteil an der Gesamtzellpopulation. Ihr Median war signifikant höher als in den anderen Gruppen (78 %) ($p < 0,001$) (Tab. 8; Abb. 1). Bei den Medianen der Fibrozyten lag kein Unterschied in den Gruppen vor (4 - 6 %) (Tab. 8). Der Anteil der Entzündungszellen bei Patienten mit Fibrosarkomen war deutlich geringer als in den beiden anderen Gruppen. Der Median der neutrophilen Granulozyten betrug 5 % ($p = 0,001$) und der der Makrophagen nur 0 % (Tab. 8; Abb. 2; Abb. 3).

Es gab keinen statistisch auffälligen Unterschied zwischen den Medianen der Lymphozyten, Lymphoblasten und Plasmazellen (0 - 4 %). Lymphoblasten und Plasmazellen wurden nur vereinzelt festgestellt (Tab. 8).

Abb. 1: Fibroblasten

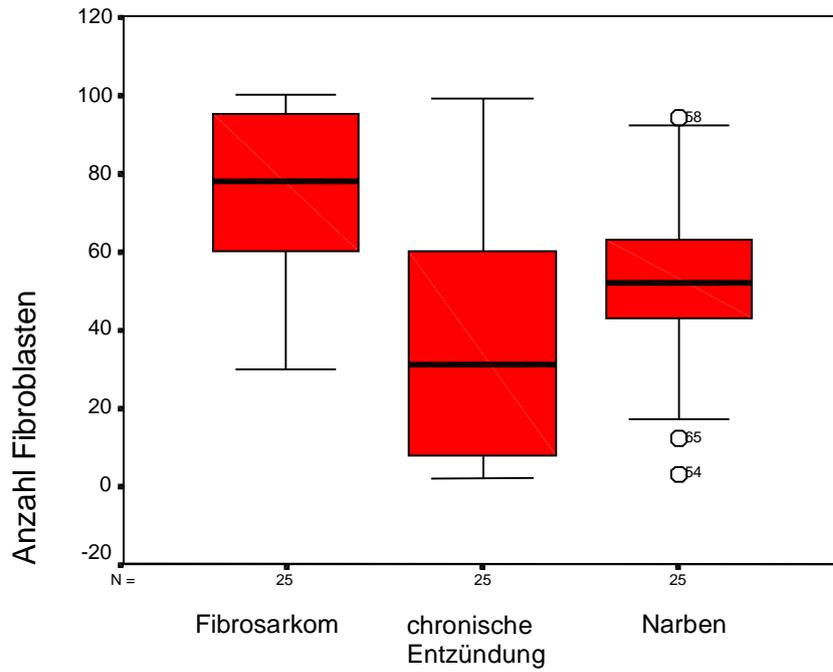


Abb. 2: Neutrophile Granulozyten

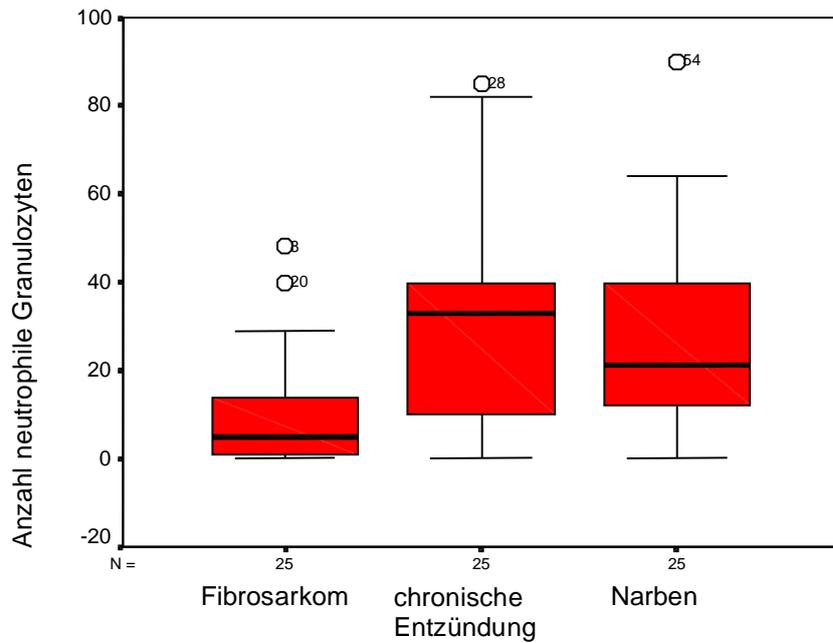
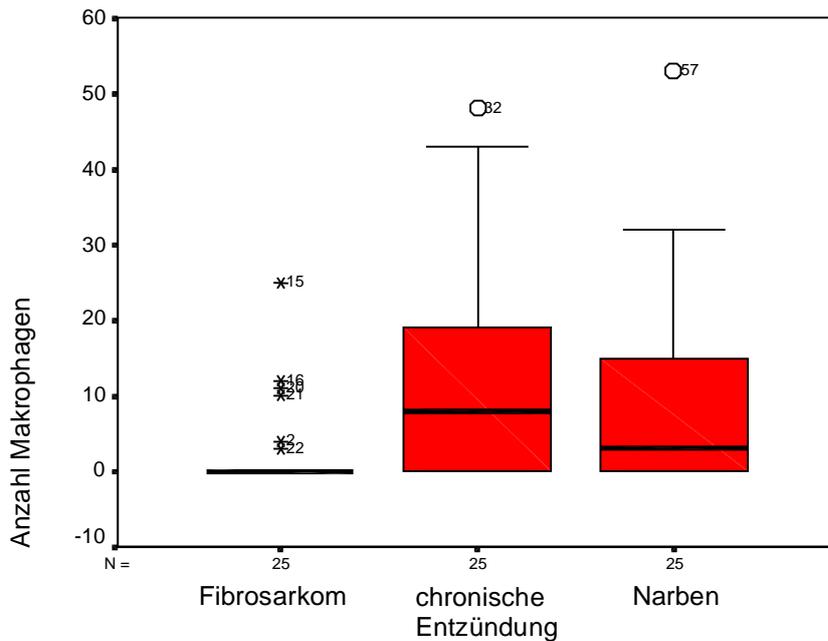


Abb. 3: Makrophagen



Tab. 8: Zellpopulation (%)

Merkmal	Gruppe	n	Median	Minimum	Maximum	2. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Fibroblasten	1	25	78	30	100	54	95,5	p < 0,001
	2	25	31	3	99	7	66	
	3	25	52	2	94	41,5	66,5	
Fibrozyten	1	25	6	0	29	0,5	13	p = 0,672
	2	25	4	0	22	0,5	12	
	3	25	4	0	20	2,0	11,5	
Neutrophile	1	25	5	0	48	1	14,5	p = 0,001
	2	25	33	0	82	10	51	
	3	25	21	0	90	10	40,5	
Makrophagen	1	25	0	0	25	0	1,5	p = 0,046
	2	25	8	0	48	0	19	
	3	25	3	0	53	0	18,5	
Lymphozyten	1	25	2	0	43	0	4,5	p = 0,494
	2	25	3	0	52	0	15,5	
	3	25	3	0	37	0	7	
Lymphoblasten	1	25	0	0	1	0	0	
	2	25	0	0	1	0	0	
	3	25	0	0	2	0	0	
Plasmazellen	1	25	0	0	0	0	0	p = 0,046
	2	25	0	0	2	0	0	
	3	25	0	0	0	0	0	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt.

1 = Fibrosarkom
2 = chronische Entzündung
3 = Narben

2.3 Zytologische Eigenschaften der Fibroblasten

2.3.1 Größenmessungen der Fibroblasten

Die Zelllängen - Mediane (29,2 μm) der Fibroblasten bei Fibrosarkomen waren signifikant größer als bei chronischen Entzündungen. Mit Hilfe des Mann-Whitney Test konnte kein bedeutender Unterschied letzteren und den Narben festgestellt werden (Tab. 9; Abb. 4).

Bei dem Merkmal Kernlänge (13,8 μm) lag im Mann-Whitney Test ein signifikanter Größenunterschied der Mediane der Fibroblasten von Fibrosarkomen und Narben vor (Tab. 9; Abb. 5).

Die Mediane der Zellquerschnitte zeigten keinen Gruppenunterschied (Tab. 9; Abb. 6). Auch die Mediane der Kern - Plasma - Verhältnisse zeigten keinen statistisch auffälligen Unterschied (2,42 - 2,58 μm) (Tab. 9; Abb. 7). Das Verhältnis von Fibroblasten zu Fibrozyten war in allen Gruppen ähnlich. Bei den chronischen Entzündungen war der Anteil an ausdifferenzierten Fibrozyten am größten (Tab. 9).

Tab. 9: Zytologische Eigenschaften von Fibroblasten und Fibrozyten

Merkmal	Gruppe	n	Median	Minimum	Maximum	2. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Zelllänge (μm)	1	25	29,20	14,69	57,76	23,82	34,22	p = 0,024
	2	25	23,33	15,29	37,75	19,60	25,12	
	3	25	24,27	15,59	38,16	21,56	27,86	
Querschnitt der Zellen (μm)	1	25	14,04	10,47	19,88	12,00	15,46	p = 0,547
	2	25	14,10	9,29	17,00	12,36	15,70	
	3	25	13,08	8,65	17,24	11,94	15,00	
Kernlänge (μm)	1	25	13,76	10,62	29,72	11,63	15,78	p = 0,042
	2	25	12,20	8,00	16,44	11,76	12,97	
	3	25	11,88	9,75	19,90	11,08	13,98	
Verhältnis Fibroblasten zu Fibrozyten	1	25	91/9	67/33	100/0	78/22	99/1	p = 0,501
	2	25	84/16	40/60	100/0	73/27	99/1	
	3	25	92/8	60/40	100/0	83/17	96/4	
Kern-Plasma-Verhältnis	1	25	1 : 2,42	1 : 1,75	1 : 3,71	1 : 2,11	1 : 2,75	p = 0,320
	2	25	1 : 2,58	1 : 1,58	1 : 3,71	1 : 2,34	1 : 3,25	
	3	25	1 : 2,5	1 : 1,96	1 : 3,08	1 : 2,21	1 : 2,86	

Pro Präparat wurden 25 Zellen ausgemessen.

1 = Fibrosarkom
2 = chronische Entzündung
3 = Narben

Abb. 4: Längendurchmesser der Fibroblasten

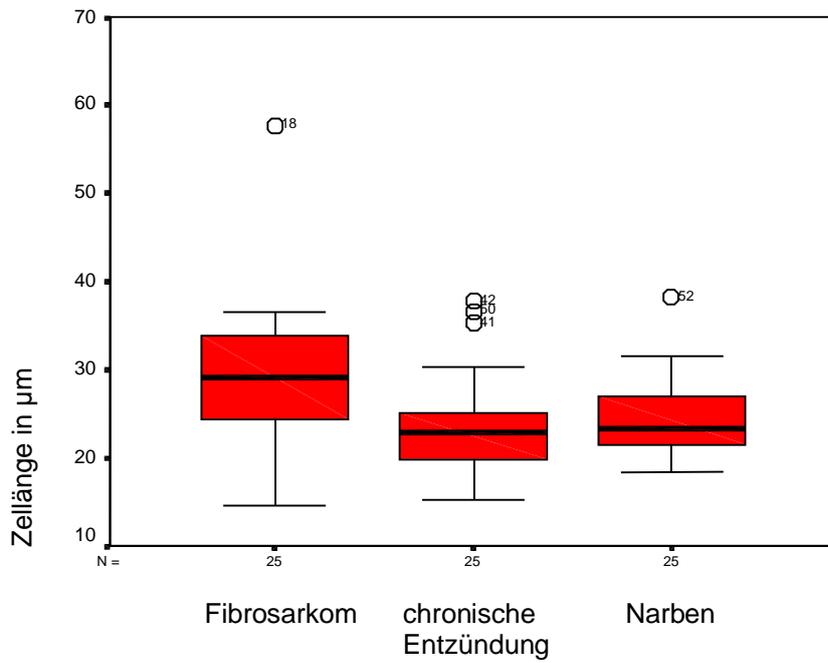


Abb. 5: Kernlänge der Fibroblasten

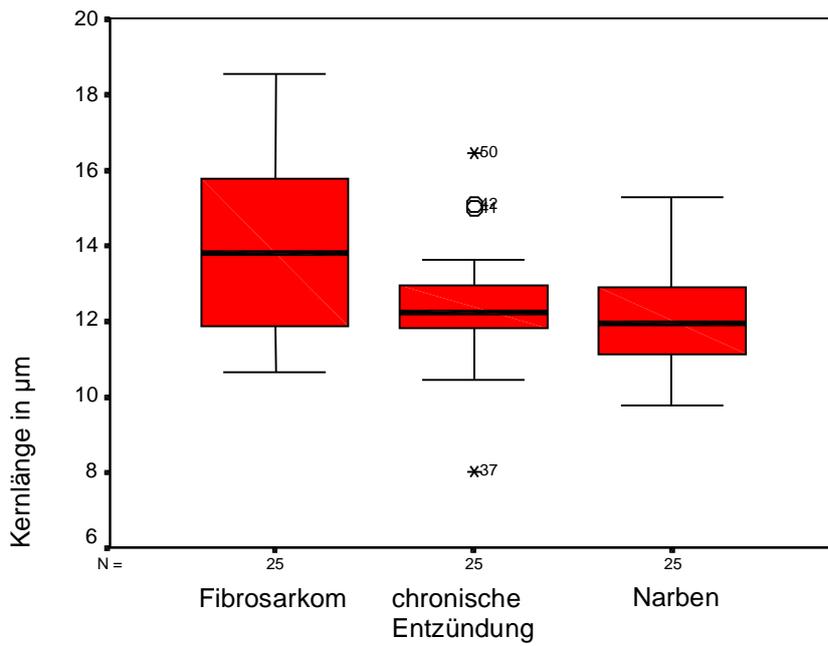
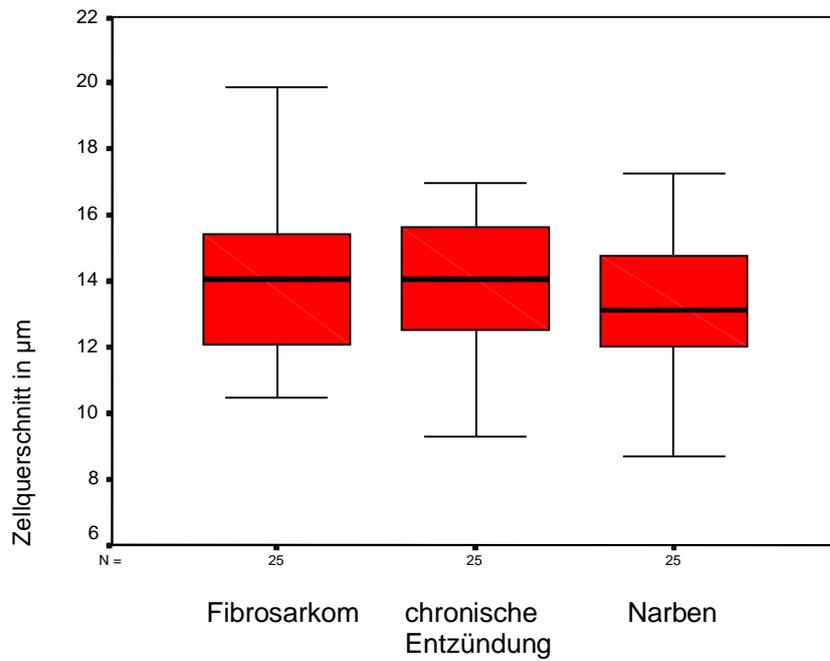
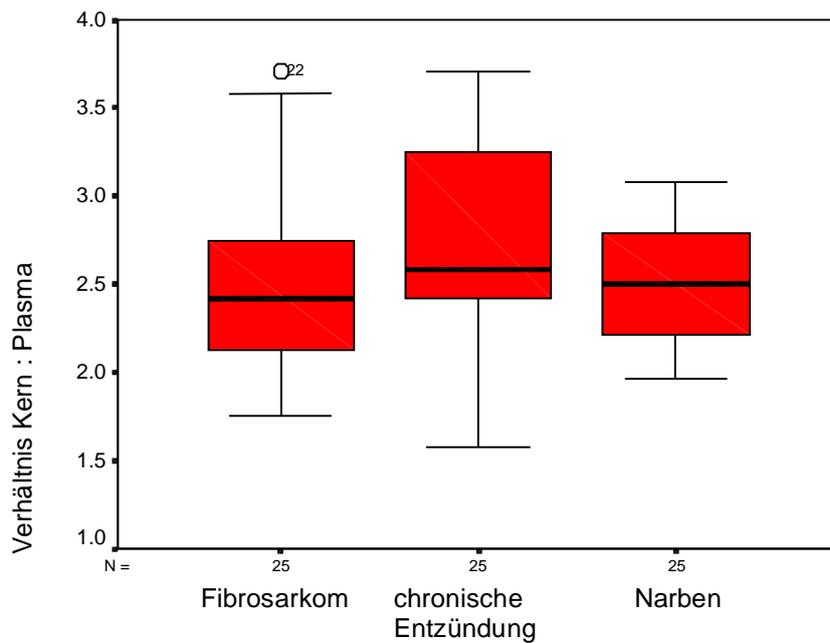


Abb. 6: Maximaler Durchmesser der Fibroblasten im Querschnitt**Abb. 7: Kern-Plasma-Verhältnis**

2.3.2 Vorkommen von Rundzellen und Mitosen bei Fibroblasten

Der Anteil an rundzelligen Fibroblasten war mit einem Median von 7 % bei den Fibrosarkomen signifikant am höchsten ($p < 0,001$) (Tab. 10; Abb. 8).

Die Anzahl der Mitosen war in der Gruppe der Fibrosarkome statistisch erkennbar höher als bei den Narben und den chronischen Entzündungen (Maximum 11 %)

(Tab. 10; Abb. 9). Bei beiden Untersuchungsmerkmalen gab es „Ausreißer“ in den Gruppen der chronischen Entzündungen und der Narben. Diese Extremwerte führen zu fließenden Übergängen zwischen den Gruppen.

Tab. 10: Eigenschaften der Fibroblasten (%)

Merkmal	Gruppe	n	Median	Minimum	Maximum	2. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Rundzellige Fibroblasten	1	25	7	0	40	0	22	$p < 0,001$
	2	25	0	0	19	0	0	
	3	25	0	0	16	0	4	
Mitosen	1	25	0	0	11	0	3,5	$p = 0,016$
	2	25	0	0	4	0	0	
	3	25	0	0	4	0	0	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt

1 = Fibrosarkom
2 = chronische Entzündung
3 = Narben

Abb. 8: Anteil rundzelliger Fibroblasten (%)

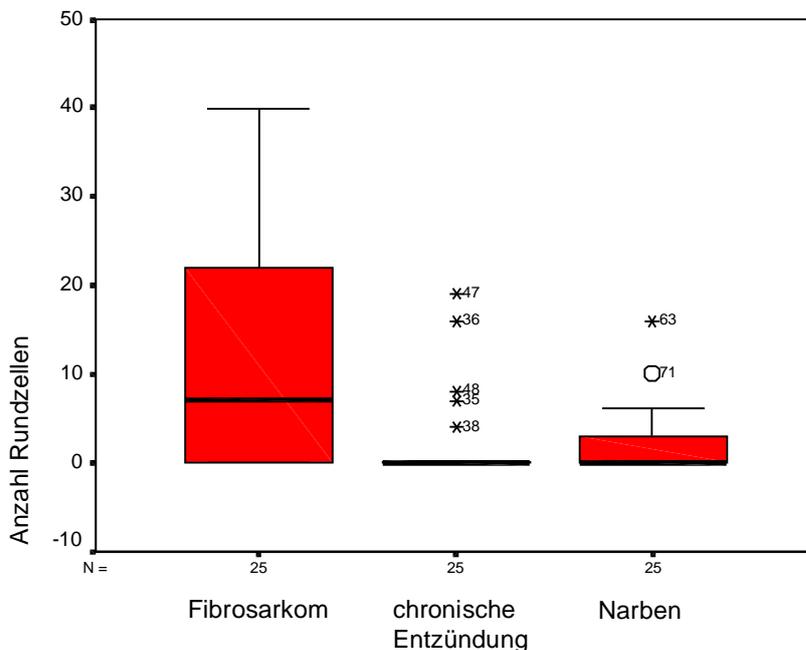
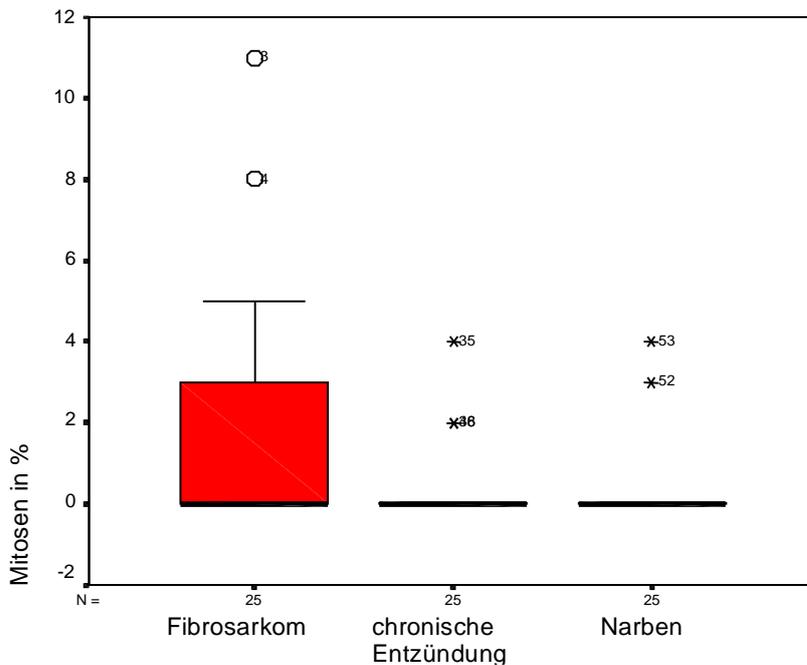


Abb. 9: Anteil von Fibroblasten mit Mitosen (%)

2.3.3 Häufigkeitsverteilungen klassifizierter Merkmale

2.3.3.1 Vorkommen von Zellnekrose bei Fibroblasten

In der Gruppe der Fibrosarkome war der Anteil an Präparaten mit mittelgradiger bis starker Zellnekrose sehr viel höher als bei chronischen Entzündungen und Narben (Tab. 11), jedoch nicht statistisch signifikant.

Tab. 11: Häufigkeit von Zellnekrose bei Fibroblasten

Vorkommen von Zellnekrose	Fibrosarkom n = 25	chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Total n = 75	Signifikanz
keine Zellnekrose	44 %	52 %	84 %	60 %	p = 0,081
wenig Zellen mit Zellnekrose	36 %	40 %	12 %	29,3 %	
mittelgradiger Anteil an Zellen mit Zellnekrose	12 %	4 %	4 %	6,7 %	
viele Zellen mit Zellnekrose	8 %	4 %	0 %	4 %	

Pro Präparat wurden 100 Fibroblasten ausgezählt.

Tab. 12: Kerneigenschaften der Fibroblasten

Merkmal		Fibrosarkom n = 25	Chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Total n = 75	Signifikanz
Kerne pro Zelle	ein Kern/Zelle	48 %	64 %	72 %	61 %	p = 0,380
	< 10% Mehrkernige	48 %	28 %	24 %	33 %	
	> 10% Mehrkernige	4 %	8 %	4 %	5,3 %	
Chromatin- struktur	feingranulär	32 %	76 %	52 %	53 %	p < 0,001
	grobgranulär	24 %	12 %	48 %	28 %	
	verklumpt	40 %	12 %	0 %	17,3 %	
	kondensiert	4%	0 %	0 %	1,3 %	
Kernmembran- verdickung	nicht vorhanden	76 %	100 %	100 %	92 %	p = 0,001
	vorhanden	24 %	0 %	0 %	8 %	
Kernfarbe	gering basophil	52 %	68 %	76 %	65,3 %	p = 0,192
	deutlich basophil	48 %	32 %	24 %	34,7 %	
Deutlichkeit Nukleoli	kaum erkennbar	36 %	72 %	40 %	49,3 %	p = 0,097
	erkennbar	52 %	24 %	48 %	41,3 %	
	deutlich	12 %	4 %	12 %	9,3 %	
Nukleoli pro Kern	1	40 %	44 %	44 %	42,7 %	p = 0,315
	2	32 %	48 %	28 %	36 %	
	>2	28 %	8 %	28 %	21 %	
Farbe Nukleoli	grau	16 %	20 %	16 %	17 %	p = 0,426
	rot	16 %	28 %	16 %	20 %	
	hellblau	40 %	16 %	20 %	25,3 %	
	dunkelblau	28 %	36 %	48 %	37,3 %	
Form Nukleoli	rund	72 %	100 %	84 %	85,3 %	p = 0,019
	eckig	28 %	0 %	16 %	14,7 %	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt.

2.3.3.2 Kerneigenschaften der Fibroblasten

Die Narben und chronischen Entzündungen enthielten in den meisten Präparaten einen Kern pro Zelle. Dagegen wiesen Fibroblasten bei Fibrosarkomen häufiger Mehrkernigkeit (Riesenzellen) auf (Tab. 12). Hierbei erfolgte keine methodische Differenzierung zwischen Geschwulstriesenzellen und reaktiven Riesenzellen (JÖSTEN und RUDOLPH 1997). Das Kernchromatin bei Fibrosarkomen war überwiegend verklumpt, wogegen die Chromatinstruktur der übrigen Gruppen fein- bis grobgranulär erschien (12 - 76 %) (Tab. 12; Abb. 10) (Signifikanz: $p < 0,001$).

Kernmembranverdickungen konnten mit einem Anteil von 24 % ausschließlich bei Fibroblasten von Fibrosarkomen festgestellt werden. Die Kernfärbung war überwiegend gering basophil, wobei der Anteil an Fibroblasten mit deutlich basophiler Kernfärbung bei Fibrosarkomen höher war (48 %) als der der übrigen Gruppen (Tab. 12).

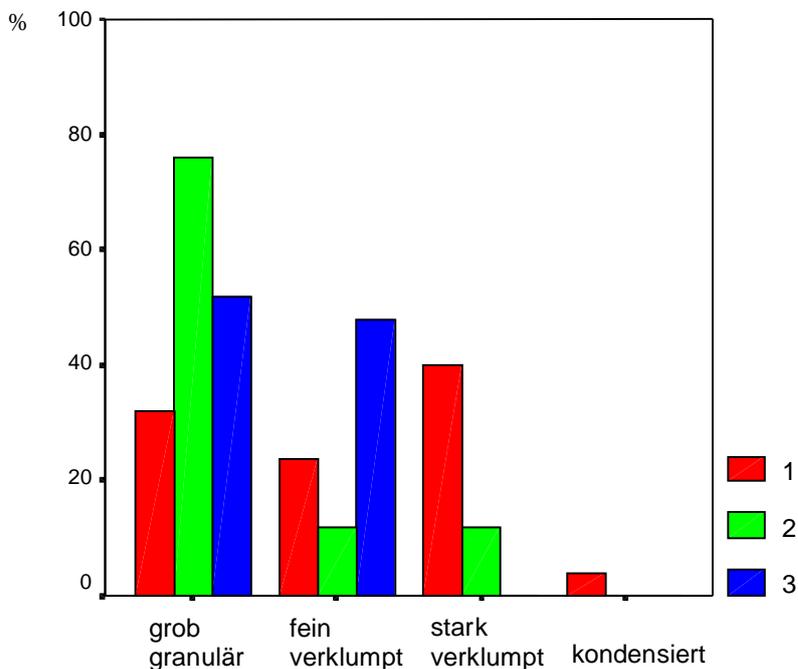
Die Nukleoli erschienen bei chronischen Entzündungen am wenigsten deutlich (72 %),

bei den Fibrosarkomen und den Narben waren sie erkennbar (52 %; 48 %). Etwa die Hälfte aller Zellkerne (48 %) bei chronischen Entzündungen wiesen zwei Nukleoli pro Kern auf. Bei Fibrosarkomen und Narben konnten häufiger mehr als zwei Nukleoli festgestellt werden (28 %) (Tab. 12).

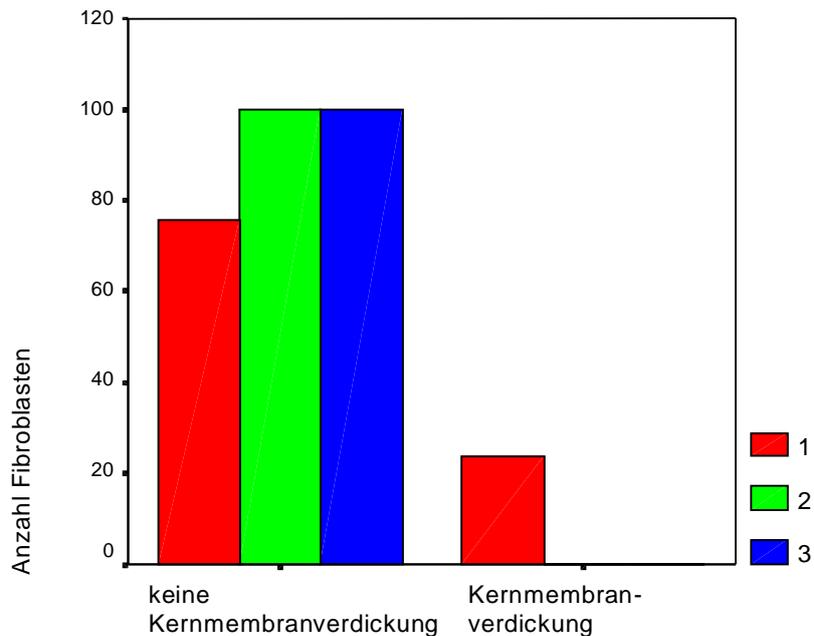
Bei chronischen Entzündungen und Narben überwogen dunkelblaue Nukleoli (36 %; 48 %), die bei Fibrosarkomen meist hellblau gefärbt waren (40 %) (Tab. 12).

Die Form der Nukleoli war in allen drei Gruppen vorwiegend rund. Der größte Anteil an eckigen Nukleoli wurde bei Fibroblasten der Fibrosarkome beobachtet (28 %) (Tab. 12). Die Nukleoli bei chronisch entzündetem Gewebe waren ausschließlich rund.

Abb. 10: Chromatinstruktur der Fibroblasten



- 1: Fibrosarkom
- 2: chronische Entzündung
- 3: Narben

Abb. 11: Kernmembranverdickung der Fibroblasten

- 1: Fibrosarkom
 2: chronische Entzündung
 3: Narben

Tab. 13: Zytoplasmeeigenschaften

Merkmal		Fibrosarkom n = 25	chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Total n = 75	Signifikanz
Deutlichkeit Zellgrenzen	nicht erkennbar	4 %	0 %	0 %	1,3 %	p = 0,055
	undeutlich	44 %	32 %	16 %	30,7 %	
	deutlich	36 %	64 %	80 %	60 %	
	sehr deutlich	16 %	4 %	4 %	8 %	
Farbe Zytoplasma	blass	56%	72%	68%	65,3%	p = 0,465
	leicht basophil	44%	28%	32%	34,7%	
Vakuolen im Zytoplasma	keine	48%	60%	36%	48%	p = 0,008
	wenig	48%	40%	28%	38,7%	
	viele	4%	0%	32%	12%	
	sehr viele	0%	0%	4%	1,3%	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt.

2.3.3.3 Zytoplasmeeigenschaften der Fibroblasten

Die Zellgrenzen waren bei Fibroblasten von Fibrosarkomen am wenigsten deutlich (44 %) und bei Fibroblasten von Narben am deutlichsten (80 %) (Tab. 13).

Die Farbe des Zytoplasmas von Fibroblasten war überwiegend blass, wobei bei Fibrosarkomen ein hoher Anteil an leicht basophilem Zytoplasma (44 %) festgestellt

wurde. Bei Narben kam es zu einer statistisch auffälligen Vermehrung von Vakuolen im Zytoplasma ($p = 0,008$) (32 %) (Tab. 13).

2.3.3.4 Fibroblastenassoziertes Kollagen

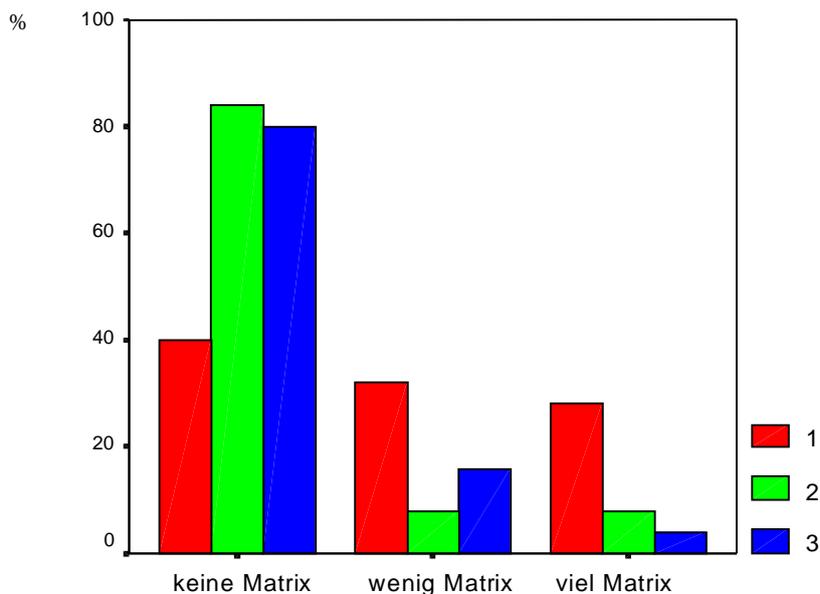
Tab. 14: Vorkommen von Kollagenmatrix

Matrix	Fibrosarkom n = 25	chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Total n = 75	Signifikanz
keine	40 %	84 %	80 %	68 %	p = 0,006
wenig	32 %	8 %	16 %	18 %	
viel	28 %	8 %	4 %	13,3 %	

Pro Präparat wurden 100 Zellen ausgezählt.

Kollagenmatrix wurde in Präparaten chronisch entzündetem Gewebe und Narben in geringem Ausmaß beobachtet, wogegen bei Fibrosarkomen der Anteil von Kollagenmatrix signifikant erhöht war (28 % Präparate mit viel Matrix) ($p = 0,006$) (Tab.14; Abb. 11).

Abb. 12: Vorkommen von Kollagenmatrix



- 1: Fibrosarkom
- 2: chronische Entzündung
- 3: Narben

2.4 Malignitätskriterien

In allen Gruppen wurden Malignitätskriterien beobachtet. Bei den Präparaten der Fibrosarkome wurden signifikant häufiger mehr als 3 Malignitätskriterien gefunden als in den beiden anderen Gruppen. Mehr als 3 Malignitätskriterien wurden nur bei 2 Patienten mit nicht-malignen Prozessen entdeckt ($p < 0,001$) (Tab. 15).

Tab. 15: Anzahl der Malignitätskriterien

Anzahl Malignitätskriterien	Fibrosarkom n = 25	Chronische Entzündung n = 25	Narben n = 25	Signifikanz
1 - 3	15	24	24	p < 0,001
4 - 8	10	1	1	

Tab. 16: Malignitätskriterien der Fibroblasten

Malignitätskriterien	Fibrosarkom n = 25		chronische Entzündung n = 25		Narben n = 25		Gesamt n = 75	
	n	%	n	%	n	%	n	%
keine Malignitätskriterien	4	16	16	64	14	56	34	45
Anisozytose	21	84	9	36	11	44	41	54,7
Anisokaryose	20	80	9	36	10	40	39	52
Makrokaryose	2	8	0	0	1	4	2	2,7
Makronukleoli	8	32	1	4	0	0	9	12
Anisonukleoliose	6	24	0	0	0	0	6	8
eckige Nukleoli	7	28	0	0	4	16	11	14,7
Kernmembranverdickung	6	24	0	0	0	0	6	8
Kernwandeinpressung	5	20	1	4	0	0	6	8
pathologische Mitose	3	12	1	4	1	4	5	5,2
zytoplasmatische Basophilie	1	4	0	0	0	0	1	1,3

Bei 16 % der Fibrosarkome waren keine Malignitätskriterien nachweisbar. Bei chronischen Entzündungen enthielten 64 % und bei Narben 56 % der Präparate keine Malignitätskriterien. Fibrosarkome hatten einen sehr hohen Anteil an Präparaten mit Anisozytose bzw. Anisokaryose (84 % und 80 %). Auch bei chronischen Entzündungen und Narben waren Anisozytose und Anisokaryose feststellbar (39 - 44 %) (Tab 16).

Malignitätskriterien, die nur bei Fibrosarkomen vorkamen, waren Anisonukleoliose, Kernmembranverdickung, Chromatinverklumpung und zytoplasmatische Basophilie. Bei etwa einem Viertel (24 %) aller Präparate der Fibrosarkome wurden

Kernmembranverdickung und Anisonucleoliose beobachtet (Tab. 16).

Pathologische Mitosen wurden bei Fibrosarkomen selten gefunden (12 %). Sie kamen aber auch bei chronischen Entzündungen und Narben vor (4 %) (Tab. 16).

28 % der Fibrosarkome wiesen Fibroblasten mit eckigen Nucleoli auf. Der Anteil der eckigen Nucleoli war aber auch bei den Narben mit einem Anteil von 16 % sehr hoch. Makronucleoli und Kernwandeinpressung wurden bei Fibrosarkomen und bei chronischen Entzündungen gefunden (Tab. 16).

Zwei Präparate aus der Gruppe der Fibrosarkome und ein Präparat (4 %) aus der Gruppe der Narben zeigten Makrokaryose (8 %) (Tab. 16).

Tab. 17: Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen und ihre statistische Signifikanz

Merkmal	Mehrgruppenvergleich	Paarweise Gruppenvergleiche Mann-Whitney-Test					
	Signifikanz	Signifikanz der Gruppenvergleiche					
Fibroblasten	p < 0,001	1-2	p < 0,001	1-3	p = 0,003	2-3	p = 0,032
Neutrophile Granulozyten	p = 0,001	1-2	p = 0,001	1-3	p = 0,002		
Makrophagen	p = 0,046	1-2	p = 0,001	1-3	p = 0,016		
Zelllänge	p = 0,024	1-2	p = 0,012				
Kernlänge	p = 0,042			1-3	p = 0,018		
Rundzellige Fibroblasten	p < 0,001	1-2	p < 0,001	1-3	p = 0,001		
Mitosen	p = 0,016	1-2	p = 0,031	1-3	p = 0,016		
Chromatinstruktur	p < 0,001	1-2	p < 0,017	1-3	p = 0,003	2-3	p = 0,009
Kernmembranverdickung	p = 0,001	1-2	p = 0,009	1-3	p = 0,009		
Form Nucleoli	p = 0,019	1-2	p = 0,004			2-3	p = 0,037
Vorkommen von Vakuolen	p = 0,008			1-3	p = 0,042	2-3	p = 0,012
Matrix	p = 0,006	1-2	p = 0,006	1-3	p = 0,010		
Malignitätskriterien >3	p < 0,001	1-2	p = 0,001	1-3	p = 0,001		
Vorkommen von Bakterien	p = 0,008	1-2	p = 0,009			2-3	p = 0,042

1 = Fibrosarkom

2 = chronische Entzündung

3 = Narben