

## **F. ZUSAMMENFASSUNG**

### **Zur zytologischen Untersuchung kutaner Fibrosarkome beim Hund**

Zytologische Diagnosekriterien für Fibrosarkome und benigne mesenchymale Proliferationen wurden untersucht und nach ihrer statistischen Signifikanz gesucht. Dazu wurden Präparate von 75 Hunden (25 Fibrosarkome, 25 chronische Entzündungen und 25 Narben) analysiert. Die Diagnosen waren gesichert durch eine von dem Institut für Veterinärpathologie der FU Berlin parallel vorgenommene histologische Untersuchung. In die Untersuchung gingen Präparate von Hunden aus 27 Rassen und verschiedene Mischlinge aller Altersstufen ein. Die Präparate wurden mit einer vierstelligen Zahl codiert, so dass während der Untersuchung nicht bekannt war, zu welcher Präparatgruppe der jeweilige Ausstrich gehörte.

Zytologisch wurden allgemeine Merkmale, Zellpopulation und Fibroblasten – Eigenschaften bestimmt. Es wurden die Größe von Kern- und Zytoplasmadurchmesser, das Verhältnis von Fibroblasten zu Fibrozyten und der Anteil rundzelliger Fibroblasten gemessen. Außerdem wurde das Kern - Plasma - Verhältnis ermittelt und das Vorkommen von Zellnekrose beurteilt. Von den Kerneigenschaften wurden die Anzahl der Kerne, die Chromatinstruktur, die Kernfarbe und die Eigenschaften der Nukleoli untersucht sowie das Vorkommen von Kernmembranverdickung und Mitosen bestimmt. Von den Zytoplasmaeigenschaften wurden die Deutlichkeit der Zellgrenzen, die Farbe des Zytoplasmas und das Vorkommen von Vakuolen im Zytoplasma beurteilt, sowie das Vorkommen kollagenassoziierter Matrix ermittelt.

Es wurden sowohl quantitative Messungen der Zellpopulation und Untersuchungen von Zellkomponenten als auch qualitative Bestimmungen von Merkmalen durchgeführt. Bei den qualitativen Merkmalen wurden die Parameter in 3 - 4 Gruppen unterteilt. Untersucht wurde nach einem eigens erarbeiteten Untersuchungsschema. Die Daten wurden mittels deskriptiver und schließender Statistik ausgewertet.

Für die metrischen Merkmale der drei Gruppen wurde der Kruskal-Wallis Test als verteilungsfreies varianzanalytisches Verfahren gewählt. Dabei lag das Signifikanzniveau bei  $\alpha = 5\%$  ( $p < 0,05$ ). Wurden signifikante Unterschiede beim Kruskal-Wallis Test festgestellt, diente der Mann-Whitney Test dem gezielten Vergleich

zweier Gruppen. Bei ordinalen Merkmalen wurden die Häufigkeitsverteilungen ermittelt und die Gruppen mit Hilfe des Chi-Quadrat Tests verglichen.

Zytologisch spezifische Diagnosemerkmale für ein Fibrosarkom sind rundzellige Fibroblasten, eine erhöhte Mitoserate, eine deutliche Chromatinkondensation, das Vorkommen von Kernmembranverdickungen und ein erhöhter Anteil an Kollagenmatrix. Auf Malignität hinweisende, aber nicht spezifische Kriterien sind die hohe Zellularität der Fibroblasten, ein geringerer Entzündungszellanteil und die Zell- bzw. Kerngröße. Merkmale, die in der Literatur häufig als Diagnosekriterien beschrieben werden, aber in dieser Untersuchung nicht als spezifische Diagnosekriterien gefunden wurden, sind das erhöhte Kern - Plasma - Verhältnis und die Veränderungen der Nukleoli. Bei einem signifikant höheren Anteil der Fibrosarkompräparate konnten mehr als 3 Malignitätskriterien gefunden werden.

Es ist zu beachten, dass es kein einzelnes Zellkriterium gibt, das beweisend die Malignität eines Tumors kennzeichnet. Erst die Kombination mehrerer Zellveränderungen ergeben die Diagnose Malignität. Dabei sollten immer mehr als 3 Kernmalignitätskriterien vorhanden sein.

Problematisch ist die Diagnose gut differenzierter Sarkome, da sie kaum Malignitätskriterien aufweisen. Zur Diagnosesicherung sollte eine histologische Untersuchung erfolgen.

Die Unterscheidung gut differenzierter und undifferenzierter Sarkome und das Erarbeiten spezifischer Diagnosekriterien sowie die methodische Differenzierung in reaktive und Geschwulstriesenzellen wurden nicht vorgenommen und bleibt weiteren Studien vorbehalten.

## **G. Summary**

### **Cytological Differentiation of Canine Cutaneous Fibrosarcomas**

The cytological criteria of fibrosarcomas and benign mesenchymal neoplasms were evaluated and examined according to their statistical significance. Seventy-five specimens (25 fibrosarcomas, 25 in a state of chronic inflammation, and 25 with granulation tissue) were evaluated. Histological examinations were performed in each case, to confirm the cytological diagnosis. Specimens of 27 breeds and several half-breeds of all ages were evaluated. The slides were coded with a 4-digit number, so that it would not be known to which group which specimen belonged.

The cytological analysis was performed using the usual criteria for cellular composition and the properties of fibroblasts. The size of the nucleus and the cell, the relation of fibroblasts to fibrocytes, and the amount of round cell fibroblasts were evaluated. The ratio of nucleus to cytoplasm and the amount of necrosis were also determined. Nuclear criteria, such as the number of nuclei, the chromatine pattern, nuclear basophilia, membrane thickness, and the presence of mitotic figures were also determined. The presence of an extracellular matrix was also recorded.

Along with quantitative measurements of the cell population and an analysis of cell components, a qualitative analysis of the criteria was performed. The qualitative criteria were broken down into 3 - 4 groups.

The examination followed a systematically developed procedure:

The collected data was evaluated statistically. For the evaluation of metrical criteria of the three groups, the Kruskal-Wallis Test was chosen as a distribution-free analysis-of-variance method. The level of significance was  $\alpha = 5\%$  ( $p < 0.05$ ). If a significant difference was found with the Kruskal-Wallis Test, the Mann-Whitney Test served to selectively compare the two groups. The frequency distribution was determined for the ordinal criteria, and the groups were compared using Chi-Quadrat Tests.

According to this study, the typical characteristics of cutaneous fibrosarcomas are the incidence of roundcell-fibroblasts, a high rate of mitosis, clumping of chromatin, the incidence of thickening of the nuclear membrane, and an increased amount of matrix. Indications of malignancy, but with no specific criteria, are a high cellularity of fibroblasts, fewer inflammatory cells, and the size of the cell and nucleus. Characteristics, described in the literature as diagnostic criteria, which could not be acknowledged in this study, though, are a high nucleus : cytoplasm ratio and nuclear morphological changes.

A significant number of preparations of fibrosarcomas showed more than 3 criteria for malignancy. No single criterium can prove malignancy. Only the identification of a combination of several criteria can lead to an accurate diagnosis of malignancy. More than 3 criteria for malignancy should be present to ascertain a diagnosis of malignancy.

The diagnosis of highly differentiated sarcomas is difficult, as they hardly show any criteria for malignancy. A histological examination should be performed to prove the diagnosis.

In this study, no distinction was made between highly differentiated sarcomas and undifferentiated sarcomas. The groups were not examined as far as differences in specific criteria for malignancy is concerned. This remains to be evaluated.