

Tabelle 2 zeigt die Altersverteilung der Probanden.

Tab.2: Altersverteilung der untersuchten Hündinnen

Alter in Jahren	Anzahl der Hündinnen
< 1	0
1	0
2	2
3	1
4	2
5	4
6	5
7	3
8	6
9	7
10	13
11	6
12	4
13	3
14	3
15	1
Summe	60

3.3. Methoden

3.3.1. Makroskopische Untersuchung und Probenentnahme

Es wurden 56 ganze Milchdrüsen entnommen und in die linke und rechte Milchleiste unterteilt.

Von 4 Hündinnen wurden insgesamt 15 einzeln eingesandte Mammarkomplexe in die Untersuchung einbezogen.

Zusätzlich konnten 80 Ovarien von 40 Hündinnen entnommen werden.

Zwanzig Hündinnen waren ovariectomiert.

Nach der Entnahme fand die Fixierung der Milchleisten, der einzelnen Mammarkomplexe und Ovarien in fünfprozentigem Formalin statt.

Im fixierten Zustand wurden von jeder Milchleiste die einzelnen Mammarkomplexe mit Zitze in der Größe von 10 mm x 10 mm Kantenlänge bzw. die palpatorisch und adspektorisch veränderten Gebiete zwischen den Mammarkomplexen herauspräpariert und makroskopisch festgestellte Veränderungen protokolliert.

Diese Proben, in einzelne Mammarkomplexe mit Zitze und nach der jeweiligen Milchleistenseite unterschieden, blieben in Formalin, bevor sie histologisch bearbeitet wurden.

3.3.2. Histologische Bearbeitung

Von 471 Mammarkomplexen mit Zitze wurden bei horizontaler Schnittführung je 4 Gewebestücke aus den in Abb.2 dargestellten Drüsenebenen entnommen. Hierdurch wurden Zitzenspitze, Zitzenteil der Zisterne, Drüsenteil der Zisterne und Drüsenkörper für die histologische Untersuchung erfasst. Bei 176 Mammarkomplexen wurde zusätzlich eine Halbierung des Komplexes in Längsrichtung vorgenommen, der die Untersuchung in 4 vertikalen Ebenen und eine Übersicht über den gesamten Komplex erlaubte.

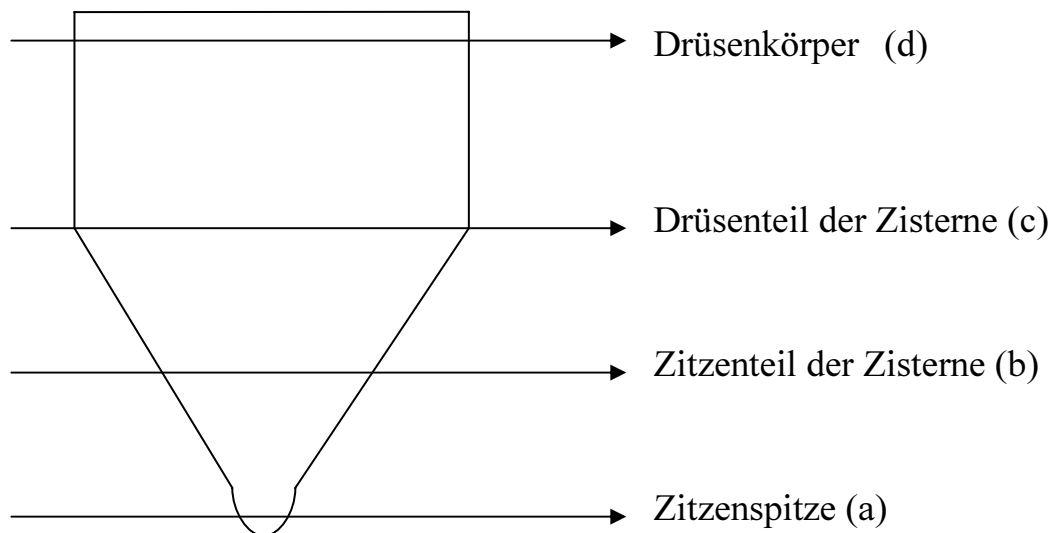


Abb.2: Histologische Schnittführung

Wurden zwischen den Mammarkomplexen makroskopisch veränderte Gebiete festgestellt, so wurde von ihnen ebenfalls ein Längsschnitt

angefertigt.

Die entnommen formalinfixierten Gewebestücke wurden in Paraffin eingebettet und bei 4 - 6 µm Schnittdicke geschnitten.

Alle angefertigten Schnitte wurden routinemäßig mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Von ausgewählten Proben wurden zusätzliche Präparate für weitere Färbungen hergestellt.

Für die Darstellung der kollagenen Fasern im Milchdrüsengewebe wurde die van Gieson-Färbung eingesetzt.

Für die Untersuchung des Myoepithels war eine immunhistologische Färbung notwendig.

Die Darstellung von Antigenen in Geweben und Zellen durch Immunfärbung lief in einem Zweistufenprozess, der zunächst die Bindung eines Antikörpers an das jeweilige nachzuweisende Antigen und die anschließende Sichtbarmachung des gebundenen Antikörpers beinhaltete.

Es kamen zwei Antikörper für die Milchdrüse nach WALTER (1995) in Betracht. Laut den Untersuchungen von WALTER (1995) an normaler und neoplastischer Mamma eigneten sich für die Darstellung von Myoepithel besonders das Cytokeratin 14 (CK 14) und das Muskel-Aktin. Beide Antikörper stammen von der Tierart Maus (Firma Dako). Für die Visualisierung der Antigen-Antikörper-Komplexe wurde die Biotin-Streptavidin-Methode nach SARTORI (1997) angewendet.