

#### 2.4.1.6. Kreuzreaktivität

Die Interaktion eines Antikörpers mit ähnlichen oder sogar unterschiedlichen Epitopen eines heterologen Antigens, das jedoch nicht ursächlich seine Bildung stimulierte, werden als Kreuzreaktivität bezeichnet (BOENISCH, 1989).

Dieses Phänomen ist üblicherweise eine Eigenschaft von Antikörpern mit geringer Affinität und verändert sich im Laufe der Affinitätsreifung (BOENISCH, 1989). Als Beispiel von Kreuzreaktivitäten zwischen spezifischen Antikörpern und ihren identischen Epitopen auf verschiedenen Proteinmolekülen sind Antikörper gegen leichte Ketten zu nennen, sie reagieren mit allen 5 Immunglobulin-Klassen (BOENISCH, 1989). Eine Kreuzreaktion kann schwächer ausfallen als diejenigen mit dem spezifischen Antigen. Derartige Vorgänge vermitteln Kenntnisse über den Aufbau der antigenen Determinanten, da notwendigerweise strukturelle Ähnlichkeiten zwischen spezifischen Antigenen bestehen müssen, durch die es dann zu Kreuzreaktionen kommt (BOENISCH, 1989). Ebenso werden solche Reaktionen zwischen unterschiedlichen Spezies beobachtet, die nur durch im Interspezies-vergleich hochkonservierte Regionen der für diese Proteine kodierenden DNA-Abschnitte erklärbar sind (JONES et al., 1993).

### **3. Eigene Untersuchungen**

#### **3.1. Material und Methoden**

##### 3.1.1. Material

Als Material werden chirurgisch entfernte Gesäugeveränderungen von 84 betroffenen Hündinnen verwendet, die von Februar 1995 bis März 1997 im nativen Zustand für diese Arbeit aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin überbracht werden.

Eine Hälfte des Materials wird nach der makroskopischen Beschreibung in flüssigem Stickstoff bei -196°C schockgefroren und anschließend bis zur immunhistochemischen Färbung bei -80°C im Stickstoffdampf gelagert. Die zweite Hälfte des Materials wird 24 Stunden in 4% neutral gepufferten Formalin fixiert, anschließend in Paraffin eingebettet und steht daraufhin sowohl für Routinediagnostik als auch für weitere immunhistochemische Färbungen zur Verfügung.

Zur Beurteilung werden Teilanschnitte von allen palpierbaren Veränderungen einschließlich Umgebungsgewebe, Querschnitte aller, auch makroskopisch unauffälliger Zitzen sowie je nach Größe bis zu drei Längsschnitte aller vorhandener inguinaler Lymphknoten herangezogen; axilläre Lymphknoten waren bei keinem Tier im Untersuchungsgut auffindbar, da sie operativ nicht entfernt wurden. Für die vorliegende Arbeit wird ein Beobachtungszeitraum von eineinhalb Jahren angesetzt. Innerhalb dieses Zeitraumes werden die Tiere jeweils in sechsmonatigen Abständen in der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin vorgestellt, eingehend untersucht und bei Rezidivierung bzw. klinisch erneuter primärer Neubildung operiert.

Für die Vorversuche stehen von mir gesammelte Proben von Sektionsfällen mit caninen Mammatumoren aus dem Institut für Veterinär-Pathologie der FU Berlin zur Verfügung.

In der Studie befinden sich 84 Hunde mit der klinischen Diagnose: Mammatumoren im weiteren Sinne. Von diesen 84 Tieren sind einschließlich der Folgeoperationen insgesamt 115 Proben von Gesäugeveränderungen in das Institut für Veterinär-Pathologie der FU Berlin eingeschickt worden. Daher wird in dieser Arbeit bei allen tumorbiologischen Fragestellungen von  $n=115$ , bei allen den Verlauf betreffenden von  $n=84$  ausgegangen.

### 3.1.2. Methoden

#### 3.1.2.1. Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung

Anhand der Daten auf den Vorberichtsbögen des Institutes für Veterinär-Pathologie der FU Berlin, die dem Operationsmaterial beigelegt sind, wird die Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung ermittelt.

Die Tiere werden tabellarisch nach Rassen aufgeteilt, die Geschlechtsverteilung, einschließlich eventuell durchgeführter Kastrationen bzw. Ovariohysterektomien wird registriert und das Durchschnittsalter am Tage der Erstoperation an der Mamma wird errechnet.

Zur Berechnung des genauen Alters wird nach folgendem Schlüssel (Tabelle 9, S. 34), welcher auch die einzelnen Monate berücksichtigt, vorgegangen:

Tabelle 9: Altersschlüssel

1 Monat	0,07 Jahre	8 Monate	0,66 Jahre
2 Monate	0,15 Jahre	9 Monate	0,75 Jahre
3 Monate	0,25 Jahre	10 Monate	0,83 Jahre
4 Monate	0,33 Jahre	11 Monate	0,92 Jahre
5 Monate	0,42 Jahre	12 Monate	1,00 Jahre
6 Monate	0,50 Jahre	13 Monate	1,07 Jahre
7 Monate	0,58 Jahre	usw.	

### 3.1.2.2. Größe des Tumors

Jede tastbare Veränderung der zugesandten Gesäugeleiste wird in ihrer Dreidimensionalität in Zentimetern gemessen und registriert. Nach der histopathologischen Untersuchung wird der Tumor mit der höchsten Malignitätsstufe aus dem Operationsexzidat anhand seines errechneten Volumens in eine von fünf Gruppen eingeteilt (Tabelle 10).

Tabelle 10: Einteilung der Tumoren in fünf Gruppen anhand ihrer Größe

	Größe des Tumors in Kubikzentimetern (ccm)	Eigene Einteilung / Definition
Gruppe 1	< 0,1	mikroskopisch klein
Gruppe 2	0,1-1,0	klein
Gruppe 3	1,1-10,0	mittelgroß
Gruppe 4	10,1-100,0	groß
Gruppe 5	>100,1	sehr groß

### 3.1.2.3. Klassifikation

Die Mammatumoren werden nach GUTBERLET et al. (1998) in Anlehnung an die WHO-Klassifizierung (HAMPE und MISDORP, 1974), die auf der Benennung der einzelnen Gewebekomponenten basiert (histogenetische Einteilung), befundet und in tabellarischer Einzelfallbeschreibung niedergeschrieben (Tabellen 66a-d, S. 155-159).

Bei dem häufig vorliegenden Phänomen der primären Multiplizität gelangt pro Operationsfall nur der am höchsten maligne Tumor, ermittelt anhand der Punktzahl nach GUTBERLET (1994), in die Auswertung, da dieser für die Prognose die stärkste Aussagekraft aufweist (HELLMEN et al., 1993). Diese durch die höchste Punktzahl charakterisierten Mammatumoren bilden die Grundlage für die Einteilung in die Hauptdiagnose-Gruppen (HD).

#### 3.1.2.4. Gewebeaufbereitung

##### 3.1.2.4.1. Herstellung der Gefrierschnitte

Gewebeblöcke mit einer Kantenlänge von 1 cm werden in Aluminiumfolie eingewickelt und in den flüssigen Stickstoff verbracht. Anschließend werden sie im Stickstoffdampf gelagert oder direkt zu Immunfärbung verwendet. Im Rahmen der Immunfärbung werden 4-5 µm dicke Schnitte im Kryostaten hergestellt, auf 3-Aminopropyltriethoxysilan beschichtete Objektträger aufgebracht und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet (FARMILIO und STEAD, 1989).

Danach erfolgt eine 10 minütige Fixierung bei Raumtemperatur in Aceton mit anschließender Lufttrocknung. Zum Schluß werden die Schnitte 5 Minuten in Trispuffer inkubiert und immunhistochemisch untersucht.

##### 3.1.2.4.2. Herstellung der Paraffinschnitte

Hierzu werden 10 x 10 x 3 mm große Gewebeblöcke maximal 24 Stunden in 4% neutral gepufferten Formalin fixiert und anschließend in flüssigem Paraffin eingebettet. Nach Aushärten des Paraffins werden 4-6 µm dicke Schnitte auf einem Mikrotom hergestellt, auf 3-Aminopropyltriethoxysilan beschichtete Objektträger aufgezogen und über Nacht im Brutschrank bei 37°C getrocknet. Anschließend werden die Schnitte entparaffiniert und rehydriert und können nun zur Färbung, bzw. Immunhistochemie verwendet werden.

### 3.1.2.5. Nachweismethoden

#### 3.1.2.5.1. Routinefärbung

Zur ersten Beurteilung der Mammatumoren hinsichtlich ihrer Dignität werden routinemäßig Hämatoxylin und Eosin gefärbte Schnitte hergestellt und hinsichtlich des histologischen Erscheinungsbildes ihrer Lymphozyten-Gesamtzellpopulation ausgewertet. Die Färbung wird entsprechend den Anweisungen von ROMEIS (1989) durchgeführt.

#### 3.1.2.5.2. Immunhistochemie

##### 3.1.2.5.2.1. Einleitung

Die Immunfärbungen werden zuerst nach der von CORDELL et al. (1984) erstmals publizierten und von WALTER (1999) modifizierten APAAP-Methode (Alkalische Phosphatase-anti-Alkalische Phosphatase) durchgeführt. Zusätzlich zu der APAAP-Methode erfolgt eine Antigendarstellung mit dem Biotin-Streptavidin Amplifikations (B-SA)-Nachweissystem.

##### 3.1.2.5.2.2. Seren, Antiseren, Reagenzien, Geräte und Materialien

Bei der Suche nach Immunzellmarkern, die Lymphozyten-Subpopulationen in Geweben des Hundes identifizieren, werden sieben (drei T-Zell spezifische, vier B-Zell spezifische) Antikörper getestet (Tabelle 11 und Tabelle 12, S. 37); fünf stammen aus dem Bereich der Humanmedizin, zwei sind laut Hersteller gegen canines Gewebe gerichtet.

Tabelle 11: T-Lymphozyten-Antikörper

T-Lymphozyten	Zellspezifität	Klon	Gewebespezifität	Hersteller (Bestellnummer)
CD3	Pan-T-Zell-Marker neoplastische T-Zellen	polyklonal	Mensch	DAKO (A 0452)
CD4	T-Helfer-Zellen	monoklonal YKIX 302.9	Hund	Serotec (MCA1038)
CD8	T-Suppressor-Zellen	monoklonal YCATE 55.9	Hund	Serotec (MCA1039)

Tabelle 12: B-Lymphozyten-Antikörper

B-Lymphozyten	Zellspezifität	Klon	Gewebespezifität	Hersteller (Bestellnummer)
IgG	reife B-Zellen	polyklonal	Mensch	DAKO (A 423)
IgM	reife B-Zellen	polyklonal	Mensch	DAKO (A 425)
BLA.36	Hodgkin-Zellen Reed-Sternberg-Zellen bestimmte B-Zellen	monoklonal A27-42	Mensch	BioGenex (AM231-5M)
CD79a	Pan-B-Zell-Marker neoplastische B-Zellen Plasmazellen	monoklonal HM57	Mensch	DAKO (M 7051)

Die in dieser Arbeit verwendeten Antisera und Substrate der APAAP- und der B-SA- Methode sind in Tabelle 13 aufgeführt.

Tabelle 13: Antisera und Substrate der APAAP- und der B-SA-Methode

Sekundärantikörper („mouse“), Brückenantikörper, APAAP-Komplex				
Antikörper gegen	hergestellt in Tierart	Ursprung des Antigens	Klon	Hersteller (Bestellnummer)
Mouse-anti-Rabbit-IgG	Maus	Kaninchen	-	Dianova (211-005.109)
APAAP-Dualsystem, bestehend aus:				Dianova (ADS 101)
Rabbit-anti-Mouse-IgG	Kaninchen	Maus	polyklonal	
APAAP-Komplex	Maus	Alkalische Phosphatase aus Kälberintestinaltrakt	-	
Super Sensitive Multi Link (Sekundärantikörper), Super Sensitive Label				
Antikörper gegen	hergestellt in Tierart	Ursprung des Antigens	Klon	Hersteller (Bestellnummer)
StrAviGen Super Sensitive Immundetektion System bestehend aus:				BioGenex (Q A900 -9L)
Biotinylated IgG for Mouse, Rabbit, Guinea Pig and Rat antibodies			polyklonal	
Alkaline Phosphatase conjugated Streptavidin			-	

Die für diese Arbeit verwendeten Reagenzien, Geräte und Materialien, deren Hersteller und ihre Bestellnummern sind in Tabelle 14 und Tabelle 15 aufgeführt.

Tabelle 14: Reagenzien, Hersteller und Bestellnummern

<b>Substanzen</b>	<b>Hersteller (Bestellnummer)</b>
Xylol	Merck (8685)
Azeton	Merck (13)
Trizma Base	Sigma (T 1503)
Trizma Hydrochlorid	Sigma (T 3253)
Natriumchlorid (NaCl) reinst	Merck (1.06400.5000)
Protease Typ XIV aus <i>Streptomyces griseus</i>	Sigma (P-5147)
Citronensäure-Monohydrat (10mM)	Merck (244)
Urea	Merck (1.08488.1000)
RPMI (Royal Park Memorial Institute) 1640	Seromed (F 1215)
inaktiviertes fetales Kälberserum	Seromed (SO 113)
Na-Azid	Merck (6688.0100)
Fast Red TR Salt	Sigma (F 2768)
Fast Blue BB Salt	Sigma (F 0250)
Naphtol-AS-MX-Phosphat	Sigma (N 4875)
Dimethylformamide	Merck (3053.1000)
Levamisole	Sigma (L 9756)
Silane (3-Aminopropyltriethoxysilane)	Sigma (A 3648)
Hämatoxylin	Merck (4305)
NaJO <sub>3</sub> (Natriumjodat)	Merck (6525)
Chloralhydrat	Merck (2425)
Kaiser's Glyceringelatine	Merck (1.09242.0100)

Tabelle 15: Geräte und Materialien, Gerätetyp bzw. Bestellnummern und Hersteller

<b>Geräte und Materialien</b>	<b>Gerätetyp (Bestellnummer)</b>	<b>Hersteller</b>
Mikrotom	Tetranderamikrotom 20710	R. Jung
Mikrowellengerät	HMT 830A	Bosch
Plastikgefäß nach Coplin (50 ml)	S 5641	Sigma
Sequenza	73300003	Shandon
Cover-Plates	72110013	Shandon
Photomikroskop	Leitz Wetzlar Orthoplan	Leitz
Farbfilm	Ektachrome 64 T, professional film EPY 135-36	Kodak

### 3.1.2.5.2.3. Rezepturen für die immunhistochemischen Färbungen

#### Silane

3-Aminopropyltriethoxysilane	12 ml
Azeton	588 ml
OT in frische Lösung einstellen	1 min.
In Azeton waschen	2x
Trocknen im Wärmeschrank bei 50 °	über Nacht

#### Tris-Puffer (TBS), pH 7,4-7,6

Trizma Base	4,5 g
Trizma Hydrochlorid	33,0 g
Natriumchlorid	43,9 g
Aqua demineralisata	5,0 l

#### Azeton-Puffer-Lösung

Azeton und Tris-Puffer pH 7,4-7,6 werden zu gleichen Teilen gemischt.

#### Pronase E 0,1%

Protease XXV	10 mg
TBS	10 ml

#### Harnstofflösung 6 M

Harnstoff	360,6 g
Aqua dest.	ad 1000 ml

#### Zitratpuffer 0,01 M, pH 6,0

Zitronensäure Monohydrat	2,1g
Aqua dest.	900 ml
2 N NaOH	13 ml
Aqua dest.	ad 1000 ml



RPMI-Verdünnungspuffer 1

RPMI 1640	50 ml
Inaktiviertes fetales Kälberserum	5,0 ml
Na-Azid	50 mg

Der pH wird mit Trizma Hydrochlorid und Trizma Base auf 7,4-7,6 eingestellt.

RPMI-Verdünnungspuffer 2

RPMI 1640	50 ml
Inaktiviertes fetales Kälberserum	10 ml
Na-Azid	50 mg

Der pH wird mit Trizma Hydrochlorid und Trizma Base auf 7,4-7,6 eingestellt.

Primäre Antikörper-Lösungen

Zur Verdünnung der verschiedenen Antikörper-Lösungen wird jeweils RPMI- Verdünnungspuffer 1 eingesetzt.

Die ausgetesteten Verdünnungsstufen sind in den Tabellen 16 und 17 (S. 45) dokumentiert.

„Mousification“-Antikörper (APAAP)

Der „mousification“-Antikörper für die APAAP-Methode wird mit Hilfe des RPMI-Verdünnungspuffers 2 als Gebrauchslösung mit einer Verdünnung von 1:200 hergestellt.

Brücken-Antikörper-Lösung (APAAP-Methode)

Der Brücken-Antikörper für die APAAP-Methode wird mit Hilfe des RPMI- Verdünnungspuffers 2 als Gebrauchslösung mit einer Verdünnung von 1:100 hergestellt.

APAAP-Komplex

Der APAAP-Komplex wird mit Hilfe des RPMI- Verdünnungspuffers 1 als Gebrauchslösung mit einer Verdünnung von 1:100 hergestellt.

Substrat/Chromogen-Gemisch

TBS 8,2	98 ml
Naphtol-AS-MX-Phosphat	20 mg
Dimethylformamid	2 ml
Levamisol 1 M in Aqua dest. Gelöst	2,408 mg in 100 µl
Fast-Red/Fast-Blue-TR-Salz	100 mg

Naphtol-AS-MX-Phosphat wird in Dimethylformamid gelöst und mit TBS pH 8,2 aufgefüllt.

Es ist zusammen im Kühlschrank mindestens 4 Wochen haltbar.

Unmittelbar vor Gebrauch wird Levamisol hinzugefügt, Fast Red/Fast Blue Salz gelöst und alles filtriert.

Lösungen für die Kernfärbung

Hämalaun nach Mayer, sauer (ROMEIS, 1989)

Eisenhämatoxylin nach Weigert (ROMEIS, 1989)

Methylgrün nach Pappenheim (ROMEIS, 1989)

## 3.1.2.5.2.4. Alkalische Phosphatase-anti-Alkalische Phosphatase (APAAP)-Methode

Die immunhistochemische Färbung wird in den Inkubationskammern des Immunfärbecenters Sequenza der Firma Shandon durchgeführt.

Hierzu werden die Schnittpräparate in die zum Sequenza dazugehörenden Coverplates eingelegt und in die Kammern senkrecht eingestellt.

Dabei entsteht ein kapillärer Spalt zwischen Objektträger und Coverplate mit einem Volumen von 80 µl. In diesem Spalt hält sich die aufpipettierte Reagenz und wird erst nach Zugabe von weiterer Flüssigkeit nach unten verdrängt.

Die APAAP-Methode wird wie folgt durchgeführt (WALTER, 1999):

1. Entparaffinieren	20 Minuten Xylol 15 Minuten Aceton 15 Minuten Aceton/Puffer-Gemisch 2 x 10 Minuten TBS
2. Vorbehandeln	
3. Waschen in TBS-Puffer	5 Minuten

Einlegen der Schnitte in die Coverplates und Montage in die Inkubationskammern des Immunfärbecenters Sequenza .

4. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
5. Primärantikörper	30 Minuten in RPMI 1 bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt (Ausnahme: Negativkontrolle)
6. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
7. „Mousifikation“	30 Minuten in RPMI 2 bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt
8. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
9. Brückenantikörper	30 Minuten in RPMI 2 bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt
10. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
11. APAAP-Kompex	30 Minuten in RPMI 1 bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt
12. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
13. 9-12 wiederholen	9. und 11. je 15 Minuten, 10. und 12. je 5 Minuten

Demontage der Coverplates aus den Inkubationskammern des Immunfärbecenters Sequenza .

Entfernung der Schnitte aus den Coverplates , letztere in TBS spülen.

14. Waschen in TBS-Puffer	5 Minuten
15. Inkubation der Schnitte	30 Minuten in Fast-Red-Lösung auf dem Schüttler
16. Waschen in TBS-Puffer	5 Minuten
17. Hämalau	45 Sekunden
18. Bläuen in Wasser, Eindeckeln in Glyceringelatine.	

### 3.1.2.5.2.5. Biotin-Streptavidin Amplifikations (B-SA)-Nachweissystem

Der Ablauf der Färbung ist der Gebrauchsanleitung für das Super Sensitive Nachweissystem (BioGenex) entnommen. Sie wird zur schnelleren Bearbeitung einer größeren Anzahl an Schnittpräparaten ebenfalls in den Inkubationskammern des Immunfärbecenter Sequenza durchgeführt. Die B-SA-Methode wird wie folgt durchgeführt (SCHULDEN et al., 1998b):

1. Entparaffinieren	siehe APAAP-Methode S. 42
2. Vorbehandeln	
3. Waschen in TBS-Puffer	5 Minuten

Einlegen der Schnitte in die Coverplates und Montage in die Inkubationskammern des Immunfärbecenters Sequenza .

4. Waschen in TBS-Puffer,	5 Minuten
5. Primärantikörper	30 Minuten in RPMI 1 bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt (Ausnahme: Negativkontrolle)
6. Waschen in TBS-Puffer,	3 x 5 Minuten
7. Multi-Link	20 Minuten bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt
8. Waschen in TBS-Puffer,	3 x 5 Minuten
9. Label	20 Minuten bei Raumtemperatur je 100 µl/Schnitt
10. Waschen in TBS-Puffer,	2 x 5 Minuten

Demontage der Coverplates aus den Inkubationskammern des Immunfärbecenters Sequenza .

Entfernung der Schnitte aus den Coverplates , letztere in TBS spülen.

11. Waschen in TBS-Puffer	5 Minuten
12. Inkubation der Schnitte	30 Minuten in Chromogen-Lösung auf dem Schüttler
13. Waschen in TBS-Puffer	2 x 5 Minuten
14. Hämalaun/Eisenhämalaun	45 Sekunden
15. Spülen in Aqua dest.	1 Minute
16. Differenzieren in Ammoniakwasser	10 Sekunden
17. Bläuen in Leitungswasser, Eindeckeln in Glyceringelatine.	

### 3.1.2.5.2.6. Antikörper

Die einzelnen Antikörper werden nach der APAAP-Methode (Tabelle 16, S. 45) basierend auf den Beschreibungen von CORDELL et al. (1984) und nach der modifizierten B-SA-Methode (Tabelle 17, S. 45) getestet und optimiert.

Hierbei wird für jeden Antikörper die optimale Verdünnung sowie die optimale Vorbehandlung ermittelt.

Zur Demaskierung der Oberflächenantigene wird in beiden Färbemethoden jeweils eine Vorverdauung in einer 0,1%igen Pronase-Lösung, eine Mikrowellenbehandlung bei 600 W in 0,01 Molarem Zitratpuffer (pH: 6,0) für 2 x 5 Min. sowie eine Vorbehandlung in einer 6 Molaren Harnstofflösung versucht.

Bei Anwendung des CD3-Antikörpers in der APAAP-Methode ist vor Aufbringen des Brückenantikörpers eine „Mausifikation“ notwendig. Dies gelingt durch Inkubation mit einem Maus-Antikörper gegen Kaninchen-Immunglobulin (mouse anti-rabbit). Dieser Arbeitsschritt entfällt in der B-SA-Methode (Multi Link).

Die monoklonalen Antikörper gegen CD4- und CD8-Antigene werden sowohl am Paraffin- als auch am Kryostatschnitt in beiden Methoden eingesetzt.

Die Schnitte werden jeweils nach Intensität der Färbung und Hintergrund bewertet. Anhand dieser Ergebnisse wird für jeden Antikörper der optimale Arbeitsablauf ermittelt.

Die Negativkontrollen dürfen keine spezifische Positivität aufweisen.

Lediglich Plasmazellen sind hier regelmäßig mit angefärbt, ebenso wie in den Positivkontrollen. Dieser Zelltyp ist allerdings aufgrund seiner Morphologie deutlich von den Lymphozyten zu unterscheiden.

Tabelle 16: Austestung der Lymphozytenmarker in der APAAP-Methode

CD3	CD4/CD8 P	CD8/CD4 K	IgG	IgM	CD79a
1:40 1:100	1:300 1:500 1:800 1:15 1:20 1:30 1:50	1:300 1:500 1:800	1:700 1:750	1:500 1:600	1:25 1:10
Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min. 2 x 10 min.  6 MU: 2 x 5 min.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  Au. 120°C 15 min.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  Au. 120°C 15 min.  o.V.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  6 MU: 2 x 5 min.
Fast-Red Neu-Fuchsin	Fast-Red Neu-Fuchsin	Fast-Red Neu-Fuchsin	Fast-Red	Fast-Red	Fast-Red
Hämalaun: 15 sec. 30 sec. 45 sec.					Hämalaun: 15 sec. 30 sec. 45 sec.

Tabelle 17: Austestung der Lymphozytenmarker in der B-SA-Methode

CD3	CD4/CD8 P	CD4/CD8 K	BLA.36	CD79a
1:500 1:700 1:1000	1:500 1:300 1:100	1:100 1:50	ready to use	1:100 1:50
Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  6 MU: 2 x 5 min.  o.V.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  6 MU: 2 x 5 min.  o.V.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  6 MU: 2 x 5 min.  o.V.	o.V.	Pro 10 min.  MWO 600 W: Citr.: 2 x 5 min.  6 MU: 2 x 5 min.  o.V.
Fast-Red	Fast-Red	Fast-Red	Fast-Red	Fast-Red
TBS RPMI	TBS RPMI	TBS RPMI		TBS RPMI

#### 3.1.2.5.2.7. Kontrollen

Als Positivkontrollen werden Lymphknoten des Hundes verwendet, da hier mit Sicherheit das gesuchte Antigen auffindbar ist. Diese Schnitte müssen spezifisch positive Reaktionen zeigen, um zu belegen, daß die Markierung gelungen ist. Als Negativkontrollen werden Konsekutivschnitte der Probe eingesetzt, wobei statt des Primärantikörpers ein in der gleichen Tierart hergestelltes Nicht-Immun-Serum verwendet wird, sodaß in diesen Schnitten keine Immunreaktionen auftreten sollten.

#### 3.1.2.5.2.8. Doppelmarkierung

Zum Nachweis zweier verschiedener Antigene durch zwei verschiedene Antikörper im selben Schnittpräparat, die hier im Verhältnis zueinander dargestellt werden sollen, kann eine Doppelmarkierung versucht werden. Hierzu wird das Grundschema der Färbung zweimal hintereinander durchgeführt. Zur Darstellung werden dann verschiedene Chromogene verwendet (GUTBERLET, 1994). Eine doppelte Durchführung der APAAP-Methode ist von CORDELL et al. (1984) beschrieben und wird für die eigenen Untersuchungen entsprechend der B-SA-Methode modifiziert und umgesetzt. Dazu wird das Grundschema der B-SA-Färbung zweimal hintereinander durchlaufen, wobei zum Schluß zur färberischen Differenzierung zwei verschiedene Chromogene (Fast-Red und Fast-Blue) eingesetzt werden (SCHULDEN et al., 1998b).

#### 3.1.2.6. Follow-Up-Schema

Die Weiterverfolgung (Follow-Up) hat bei Krebserkrankungen das Ziel, frühzeitig einerseits mögliche Rezidive zu entdecken und andererseits eventuelle weitere Tumoren zu diagnostizieren, um durch rasche Regulierung die Überlebensrate und die Lebensqualität des Patienten zu verbessern (KRENGLI et al, 1993).

Zur Orientierung über das Schicksal der Tiere wurde folgendes Follow-Up-Schema, modifiziert nach HELLMEN et al. (1993), verwendet (Tabelle 18, S. 47): Zur Kategorie 0 gehören die Tiere, deren Status bei Abschluß der Studie unbekannt ist. Alle Hunde, die am Ende des Beobachtungszeitraumes noch leben, ohne Berücksichtigung, ob in guter oder schlechter Verfassung, werden der Kategorie 1 zugeordnet.

Wenn durch die klinische Untersuchung, Thoraxröntgen oder eine Sektion als Todesursache Tumoren der Mamma nachgewiesen werden, gehören die Tiere zur Kategorie 2. Kann durch eine Sektion nachgewiesen werden, daß nicht die Tumorerkrankung der Mamma zum Tode führte, werden die Tiere der Kategorie 3 zugeordnet. Falls der Tod des Tieres nicht mit Mammatumoren in Zusammenhang steht (z.B. Beißerei) oder keine klinischen Informationen zur Todesursache vorliegen und auch keine Sektion durchgeführt wurde, werden die Tiere in Kategorie 4 aufgeführt.

Tabelle 18: Follow-Up-Schema modifiziert nach HELLMEN et al. (1993)

<b>Kategorie</b>	<b>Status</b>
<b>0</b>	Follow-Up-Status / bzw. Verbleib unbekannt
<b>1</b>	Hunde, die am Ende der Studie noch leben
<b>2</b>	Todesursache Tumoren der Mamma nachgewiesen durch: Sektion, klinische Untersuchung, Röntgen Lunge
<b>3</b>	Todesursache keine Tumoren der Mamma nachgewiesen durch: Sektion
<b>4</b>	Tod aus anderen Gründen, keine klinischen Informationen zur Todesursache und keine Sektion

### 3.1.2.7. Erarbeitung des Auswertungsschemas

Das Auswertungsschema zur erweiterten differenzierten Begutachtung von caninen Mammatumoren gestaltet sich als 2-stufiges System, welches auf Stufe 1 eine HE-Färbung, auf Stufe 2 eine differenzierte immunhistochemische Darstellung der in Stufe 1 vorgefundenen Verhältnisse umfaßt.

#### 3.1.2.7.1. Stufe 1: HE-Routine-Färbung

Angelehnt an die Arbeiten von GILBERTSON et al. (1983) sowie COCKERELL und SLAUSON (1979) wird folgendes Modell zur Auswertung von Immuzellinfiltraten in caninen Mammatumoren entwickelt.



Zur Bestimmung der Menge der lymphozytären Infiltrate werden zuerst, um einen Überblick zu erhalten, Kapsel/Tumorperipherie und Tumor getrennt betrachtet. Da bei der abschließenden immunhistochemischen Auswertung diese beiden Komponenten als Einheit gesehen werden, ist der höhere Grad für den ganzen Tumor ausschlaggebend. Die sich hinter den Gradziffern verbergende Menge ist aus dem Auswertungsschema ersichtlich. Da ein Teil der Mammatumoren keine deutliche Kapsel besitzt, wird in diesen Fällen der Begriff der Tumorperipherie als Synonym angesehen. Ebenso werden bei der Auswertung die Lymphozytenherde, die am Rand des Tumors gelegen sind, aber Kontakt zur Kapsel haben, zur Tumorperipherie gezählt. Nach Auswertung der HE-Schnitte werden die Mammatumoren anhand der relativen Menge, der Lokalisation und des Verteilungsmusters der Lymphozyten-Gesamtpopulation den Gruppen I bis IV zugeordnet.

#### 3.1.2.7.2. Stufe 2: Immunhistochemie

Bei der Auswertung der immunhistochemischen Färbungen werden Kapsel und Tumor als Einheit betrachtet. Durch das abwechselnde Durchmusterung der jeweils CD3 und CD79a gefärbten Serienschnitte wird semiquantitativ die überwiegende Immunzellpopulation ermittelt.

In dieser Bewertung bedeutet T bzw. B das Überwiegen der T- bzw. B-Zellpopulation innerhalb der Lymphozyten-Gesamtpopulation, wohingegen TB ein annähernd ausgeglichenes Verhältnis der entsprechenden Immunzellsubpopulationen innerhalb der Immunzellgesamtpopulation signalisiert. Die Ergebnismöglichkeiten sind in Tabelle 19 dargestellt:

Tabelle 19: Ergebnismöglichkeiten der semiquantitativen Auswertung der T- und B-Zellpopulation in Kapsel und Tumor und ihre Kurzbezeichnung

Lokalisation	T- B-Zell-Relation	Kurzbezeichnung
Kapsel/Tumor	überwiegend T-Zellen	T
Kapsel/Tumor	überwiegend B-Zellen	B
Kapsel/Tumor	ausgeglichenes Verhältnis	TB

## 3.2. Ergebnisse

### 3.2.1. Materialmenge

Bei der Befundung in der Routinehistologie stellt sich heraus, daß von den eingesendeten n=115 Gesäugeveränderungen, einschließlich der Folgeoperationen, 8 Proben keine Mammatumoren im engeren Sinne darstellen.

### 3.2.2. Rasse-, Alters- und Geschlechtsverteilung

#### 3.2.2.1. Rassenverteilung

Von den 84 Tieren sind 26 (31,0%) Mischlinge (Mix), von denen bei 2 Tieren beide Elternteile, bei 11 Tieren jeweils ein Elternteil bekannt ist. 15 (17,9%) Hunde sind Dackel der unterschiedlichen Zuchtrichtungen (Langhaar, Rauhaar).

Die dritthäufigste Rasse sind Terrier mit 13 (15,5%) Patienten, die sich in 8 Yorkshire-, 2 Bullterrier- und je einen Pitbull-, Tibet- und Jack-Russel-Terrier aufteilen.

An vierter Stelle stehen die Deutschen Schäferhunde mit 6 (7,1%), gefolgt von Pudel mit 4 (4,8%) und Cocker-Spaniel mit 3 (3,6%) Patienten.

Rang 7 teilen sich Rassen, von denen jeweils 2 Tiere vorhanden sind, auf dem letzten Rang sind ausschließlich Rassen, die nur durch ein Tier in der Studie vertreten sind (Tabelle 20, S. 50).

Tabelle 20: Rassenverteilung n=84

Rang	Rasse	n	davon	%
1	Mix	26	1 Yorkshire-T. / Chihuahua 1 DSH / Collie 3 Schnauzer 3 DSH 2 Pudel 1 Dackel 1 Beagle 1 Yorkshire-T.	31,0
2	Dackel	15		17,9
3	Terrier	13	8 Yorkshire-Terrier 2 Bullterrier 1 Pitbullterrier 1 Tibet-Terrier 1 Jack-Russel-Terrier	15,5
4	DSH	6		7,1
5	Pudel	4		4,8
6	Cocker-Spaniel	3		3,6
7	Boxer	2		2,4
7	Kl. Münsterländer	2		2,4
7	Shi-Tsu	2		2,4
7	Setter	2	1 Irish Setter 1 Gordon Setter	2,4
11	Labrador	1		1,2
11	Afghane	1		1,2
11	Saluki	1		1,2
11	Kauk. Owtscharka	1		1,2
11	Husky (Sibirian)	1		1,2
11	Pinscher	1		1,2
11	Rottweiler	1		1,2
11	Chihuahua	1		1,2
11	Beagle	1		1,2
$\Sigma_n = 84$				<b>100,00</b>

### 3.2.2.2. Altersverteilung

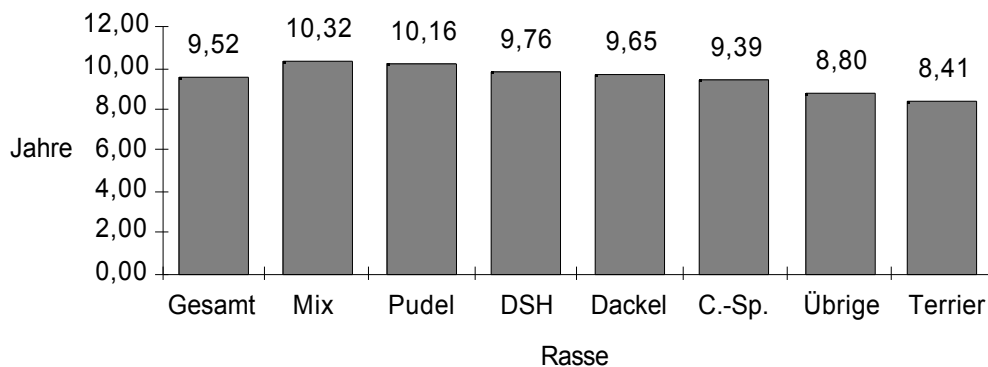
Das arithmetische Mittel des Alters bei der Erstoperation beträgt 9,52 Jahre (laut Tabelle 9, S. 34: 9 Jahre und 6 Monate) mit einer Standardabweichung von  $s=2,47$ .

Der jüngste Hund in dieser Studie ist ein Mischling von 5,00 Jahren ( $s=2,26$ ), der älteste ein Mischling von 18,42 Jahren ( $s=4,45$ ). Rassen, von denen nur ein oder zwei Tier(e) dem Patientengut angehören, werden unter „Übrige“ zusammengefaßt (Graphik 1, S. 51), deren Durchschnittsalter 8,80 Jahre ( $s=0,36$ ) beträgt.

Die ältesten Tiere sind im Durchschnitt die Mischlinge mit 10,32 Jahren ( $s=0,40$ ).

Es folgen die Pudeln mit 10,16 Jahren ( $s=0,32$ ), der Deutsche Schäferhund mit 9,76 Jahren ( $s=0,12$ ), Dackel mit 9,65 Jahren ( $s=0,06$ ) und Cocker-Spaniel mit 9,39 Jahren ( $s=0,07$ ). Auffallend niedrig ist das Durchschnittsalter bei den Terrier-Rassen mit 8,41 Jahren ( $s=0,56$ ).

Graphik 1: Altersverteilung bei n= 84 Hündinnen



DSH: Deutscher Schäferhund, C.-Sp.: Cocker-Spaniel

### 3.2.2.3. Geschlechtsverteilung

Es handelt sich ausschließlich um weibliche Tiere. Von den 84 Patienten sind 20 (23,8%) Hündinnen kastriert. Eine ist während und eine 4 Monate nach der Tumoroperation an der Mamma ovariohysterektomiert worden. Von zwei Hündinnen liegen keine Angaben vor.

### 3.2.3. Betroffene Gesäugeleiste

In 29 (34,5%) Fällen ist die rechte, in 28 (33,3%) ist die linke Seite und in 25 (29,8%) Fällen sind beide Seiten mit einbezogen. Bei zwei Tieren ist die betroffene Seite unbekannt.

Von den 25 Tieren, bei denen beidseits Gesäugeveränderungen anamnestisch erhoben wurden, sind 5 (6,0%) zum ersten Operationstermin beidseits teilweise mammektomiert worden.

Bei 8 (9,5%) Hündinnen wurde die zweite Seite innerhalb von 6-12 Wochen und bei 2 (2,4%) zu einem späteren Zeitpunkt operiert. Bei zehn (11,9%) Tieren wurde kein weiteres Mal chirurgisch interveniert.

Insgesamt liegen nach der Erstoperation von 5 (6,0%) Tieren Operationsexzidate beider Seiten, von 40 (47,6%) Tieren Mammatumoren der rechten und von 37 (44,1%) der linken Seite vor.

### 3.2.4. Gruppeneinteilung der Tumoren nach ihrer Größe

Die Verteilung der Tumoren in die fünf Gruppen aufgrund ihrer Größe ist in Tabelle 21 ersichtlich. Tiere, bei denen kein Tumor im engeren Sinne vorliegt, werden unter „keine Neoplasie“ aufgeführt.

Tabelle 21: Verteilung der n=115 Tumoren aufgrund ihrer Größe in fünf Gruppen

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	keine Neoplasie
1. OP n=84	11	30	18	17	7	1
2. OP n=26	8	10	2	4	1	1
3. OP n=4	1	1	1	-	-	1
4. OP n=1	-	1	-	-	-	-
Gesamt: n=115	20	42	21	21	8	3

### 3.2.5. HE-Diagnostik

#### 3.2.5.1. Malignes Wachstum

Da sich bei der Recherche der Anamnese herausstellte, daß 16 (19,05%) Hündinnen schon vor Eintritt in die Studie einer Mammatumorentfernung, teilweise ohne anschließende histopathologische Untersuchung, unterzogen wurden, decken sich die Operationsdaten und die Verteilung der Dignitäten des Verlaufs (Tabelle 40, S. 75 und Tabelle 41, S. 78) nicht mit den in Tabelle 22 (S. 54) angegebenen Zahlen der Aufteilung der Dignitäten.

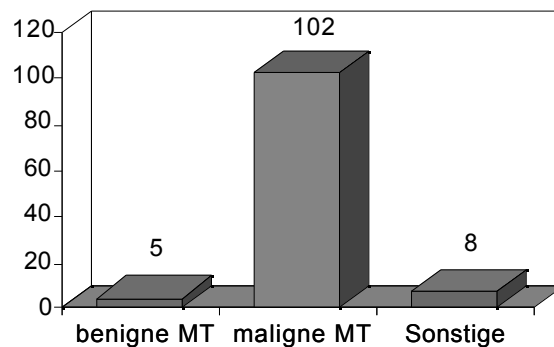
Die Operationsexzidate wurden eingesandt mit der klinischen Diagnose: Tumoren der Mamma.

Die insgesamt 115 Operationsexzidate werden daher in Graphik 2 unterschieden in benigne oder maligne Mammatumoren und Tumoren der Mamma (sogenannte Sonstige), die sowohl benigne, semimaligne als auch maligne Dignität aufweisen. Ebenfalls sind unter Sonstige Tumoren der Mamma im weiteren Sinne zusammengefaßt, die keine Neoplasien darstellen.

Bei der histologischen Untersuchung der Tumorexzidate der Erstoperation im Rahmen der vorliegenden Studie kann bei 77 (91,6%) Tieren malignes Wachstum diagnostiziert werden, 4 (4,8%) werden als benigne, einer als semimaligne eingestuft.

Die Probe eines Tieres stellt sich histologisch als Mastitis mit Zystenbildung, die eines anderen Tieres als Phlegmone dar. Bei 26 (31,0%) Tieren werden bei einer zweiten Operation wieder Tumoren der Mamma entfernt. Hier ergibt die histologische Begutachtung bei 24 (92,3%) Tieren malignes, sowie bei einem Tier benignes, bei einem anderen Tier hyperplastisches Wachstum. Bei 4 (4,8%) Tieren ist eine dritte Operation nötig. Während bei 3 (75,0%) Tieren wieder malignes Wachstum vorliegt, ist bei einem Tier nur eine Mastitis diagnostizierbar. Ein Tier muß auch ein viertes Mal operiert werden, wieder mit einem bösartigen Befund des Exzidates (Tabelle 22, S. 54).

Graphik 2: Aufteilung der insgesamt n=115 Gesäugeveränderungen in benigne Mammatumoren, maligne Mammatumoren und „Sonstige“



MT: Mammatumoren

Tabelle 22: Aufteilung der Dignitäten von der ersten bis zur vierten Operation bei  
n=115 Gesäugeveränderungen

	Mammatumoren (MT)		Sonstige		
	benigne	maligne	keine Neoplasie	benigne/semimal.	maligne
1. OP n=84	4	74	2	1	3
2. OP n=26	1	24	1	-	-
3. OP n=4	-	3	1	-	-
4. OP n=1	-	1	-	-	-
Gesamt n=115	5	102	4	1	3

### 3.2.5.2. Lymphknotenbeteiligung

Die mit dem Tumormaterial der Mamma zugesandten tributären Lymphknoten sind ausschließlich der inguinalen Region entnommen, axilläre Lymphknoten waren, operationstechnisch bedingt, in keinem Fall vorhanden. Tabelle 23 gibt über die Häufigkeit des Vorkommens von Lymphknoten-Metastasen bei n=115 Tieren Auskunft.

Bei der Erstoperation ist in 74 (88,1%) Exzidaten mindestens ein Lymphknoten auffindbar. Bei 10 (11,9%) Proben sind keine Lymphknoten im Untersuchungsgut vorhanden. In der HE-Diagnostik ist in 10 (11,9%) Fällen mindestens ein Lymphknoten mit Metastasen durchsetzt, bei 8 (9,5%) Fällen wird ein Verdacht auf Mikrometastasen geäußert. In 56 (66,7%) Proben sind die Lymphknoten frei. Bei den 26 Proben der Zweitoperation weisen 4 (15,4%) keine Lymphknoten auf. Jeweils 3 (11,5%) Proben sind verdächtig oder mit Metastasen durchsetzt. 16 (61,5%) Proben sind frei. In den 4 Proben der dritten Operation und der einzelnen Probe der vierten Operation sind alle Lymphknoten frei von Metastasen.

Tabelle 23: Häufigkeit des Vorkommens von Lymphknoten (Ln.)- Metastasen bei n=115 Tieren

	Ln.: nicht vorhanden	Ln.: frei	Ln.: verdächtig	Ln.: positiv
1. OP n=84	10	56	8	10
2. OP n=26	4	16	3	3
3. OP n=4	-	4	-	-
4. OP n=1	-	1	-	-
Gesamt n=115	14	77	11	13

### 3.2.5.3. Gefäßleinbrüche

In den Exzidaten der Erstoperation kann im HE-Schnitt bei 66 (78,6%) Proben kein Einbruch von Geschwulstzellen in Gefäße nachgewiesen werden. Bei 7 (8,3%) Proben wird ein Einbruch beobachtet, bei 11 (13,1%) Fällen wird der Verdacht eines Einbruches geäußert.

Bei der Zweitoperation ist in 20 (76,9%) Proben kein Einbruch zu beobachten, in jeweils 3 (11,5%) der Proben wird der Verdacht eines Einbruches geäußert oder ein Einbruch nachgewiesen.

Von den 4 Proben der dritten Operation sind 3 (75,0%) Proben unverdächtig, in einer kann ein Einbruch nachgewiesen werden.

Die einzelne Probe der vierten Operation zeigt keinen Gefäßleinbruch.

### 3.2.5.4. Primäre Multiplizität

In den chirurgisch entfernten Mammaleisten, bzw. Mammateilleisten der Erstoperation liegt in 67 (79,76%) Fällen eine primäre Multiplizität vor.

Bei der Zweitoperation sind dies 23 (88,46%), bei der dritten Operation 3 (75,00%) Fälle.

Die einzelne Probe der vierten Operation ist ebenfalls primär multipel.

### 3.2.5.5. Grad- und Gruppeneinteilung der lymphozytären Infiltrate

#### 3.2.5.5.1. Gradeinteilung

In den Proben der Erstoperation können im HE-Schnitt lymphozytäre Infiltrate in 4 (4,8%) Fällen als gering, in 37 (44,1%) Fällen als mäßig und in 42 (50,0%) Fällen als auffallend/ausgeprägt eingestuft werden. Die Mastitis wurde nicht ausgewertet.

Bei der Zweitoperation werden von 26 Proben 5 (19,2%) als gering, 9 (34,6%) als mäßig und 11 (42,3%) als auffallend/ausgeprägt eingeteilt. Die Hyperplasie wurde nicht ausgewertet.

Die lymphozytären Infiltrate in den 4 Proben der dritten Operation werden jeweils einmal als gering, mäßig und auffallend/ausgeprägt eingestuft. Die Mastitis wurde nicht berücksichtigt.



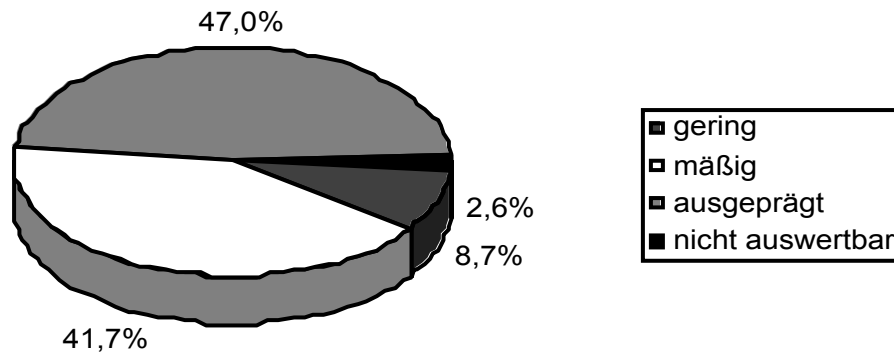
Die einzige Probe der vierten Operation weist mäßige lymphozytäre Infiltrate auf. Insgesamt liegt bei den n=115 Gesäugeveränderungen folgende Gradeinteilung (Tabelle 24) und prozentuale Verteilung der Grade (Graphik 3) vor:

Tabelle 24: Gradeinteilung der lymphozytären Infiltrate in n=115 Gesäugeveränderungen

	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	nicht auswertbar
1. OP n=84	-	4	37	42	1
2. OP n=26	-	5	9	11	1
3. OP n=4	-	1	1	1	1
4. OP n=1	-	-	1	-	-
Gesamt n=115	-	10	48	54	3

0: fehlend, 1: gering, 2: mäßig, 3: auffallend/ausgeprägt

Graphik 3: Prozentuale Verteilung der Grade der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Tieren



### 3.2.5.5.2. Gruppeneinteilung

Bei der Erstoperation werden 19 (22,62%) Neoplasien der Gruppe I, 34 (40,48%) der Gruppe II, 25 (29,76%) der Gruppe III und 5 (5,95%) der Gruppe IV zugeteilt. Bei der Zweitoperation werden 8 (30,77%) Tumoren in die Gruppe I, 12 (46,15%) in die Gruppe II und 5 (19,23%) in die Gruppe III eingestuft.

Die lymphozytären Infiltrate in den 4 Proben der dritten Operation werden jeweils einmal der Gruppe I, II und III zugeordnet. Drei Proben der ersten drei Operationszyklen werden nicht ausgewertet, da eine Gruppeneinteilung nicht möglich ist (Mastitiden, Zysten und Hyperplasien). Die Probe der vierten Operation ist in Gruppe II. Insgesamt liegt bei den n=115 Gesäugeveränderungen folgende Gruppeneinteilung (Tabelle 25) und prozentuale Verteilung der Gruppen (Graphik 4) vor:

Tabelle 25: Gruppeneinteilung der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Gesäugeveränderungen

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
1. OP n=84	19	34	25	5	1
2. OP n=26	8	12	5	-	1
3. OP n=4	1	1	1	-	1
4. OP n=1	-	1	-	-	-
Gesamt n=115	28	48	31	5	3

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

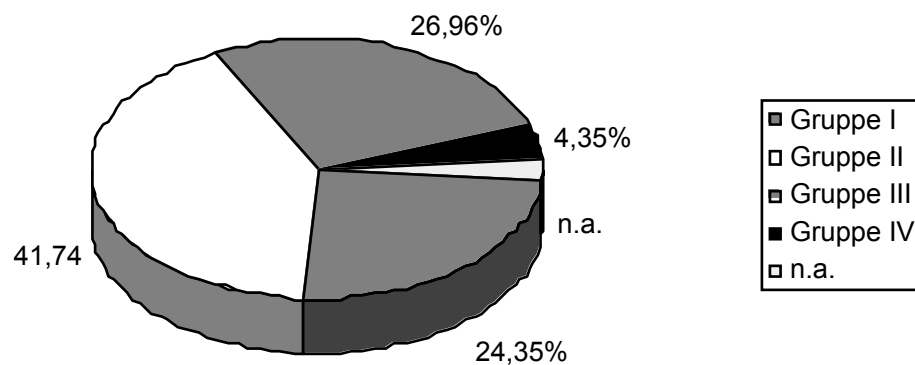
Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

Graphik 4: Prozentuale Verteilung der Gruppen der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Tieren



n.a.: nicht auswertbar

### 3.2.5.5.3. Auswertungsschema der kombinierten Grad- und Gruppeneinteilung nach der HE-Routinefärbung

In der Gruppe I befinden sich Mammatumoren, welche keinerlei oder lediglich diffuse lymphozytäre Infiltrate in der Kapsel und dem Tumor aufweisen (Abb.1, S. 59). Gruppe II beschreibt Mammatumoren, welche herdförmige Immunzellverbände in der Tumorkapsel bei gleichzeitiger diffuser Lymphozytenverteilungskomponente im Tumor aufweisen (Abb. 2, S. 59).

Zur Gruppe III gehören Mammatumoren mit herdförmigen Entzündungszellinfiltraten in der Tumorkapsel und im Tumor. Diese Gruppe wird exemplarisch in Abb. 3 (S. 60) dargestellt. Es imponiert ein Auftreten von Immunzell-Clustern innerhalb des Tumors, wie es in diesem Tumorausschnitt zu sehen ist. Zusätzlich finden sich, wie in Gruppe II, lymphozytäre Infiltrate in der in diesem Bildausschnitt nicht dargestellten Kapsel.

In der Gruppe IV werden Tumoren der Mamma mit auffallend vielen Lymphozyten, die sich nekrosebezogen anordnen oder Sonderfälle, wie ein Lymphosarkom, zusammengefaßt (Abb. 4, S. 60).

Hierbei stellt sich heraus, daß bei den Mammatumoren innerhalb der Gruppen alle Grade möglich sind (Tabelle 26).

So werden zum Beispiel Tiere mit einer auffallenden/ausgeprägten Lymphozytenmenge der Gruppe I zugeordnet, wenn die Immunzellen sowohl in der Kapsel als auch im Tumor diffus lokalisiert sind. Ebenso besteht die Möglichkeit, daß ein Tier mit nur mäßigen Immunzellinfiltraten zur Gruppe III gehört, wenn sich die Zellen sowohl in der Kapsel als auch im Tumor herdförmig anordnen.

Tabelle 26: Auswertungsschema der Grad- und Gruppeneinteilung nach der HE-Routinefärbung

Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV
diffus in <b>K</b> / <b>TP</b> und im <b>T</b>	herdförmig in <b>K</b> / <b>TP</b> und diffus im <b>T</b>	herdförmig in <b>K</b> / <b>TP</b> und im <b>T</b>	nekrosebezogene Anordnung
<b>Grade:</b> fehlend ( <b>0</b> ) bis gering ( <b>1</b> ), mäßig ( <b>2</b> ), auffallend/ausgeprägt ( <b>3</b> )			

**K:** Kapsel, **TP:** Tumorperipherie, **T:** Tumor

#### 3.2.5.5.4. Bildteil

*Bildteil zur Grad- und Gruppeneinteilung nach der HE- Routinefärbung*

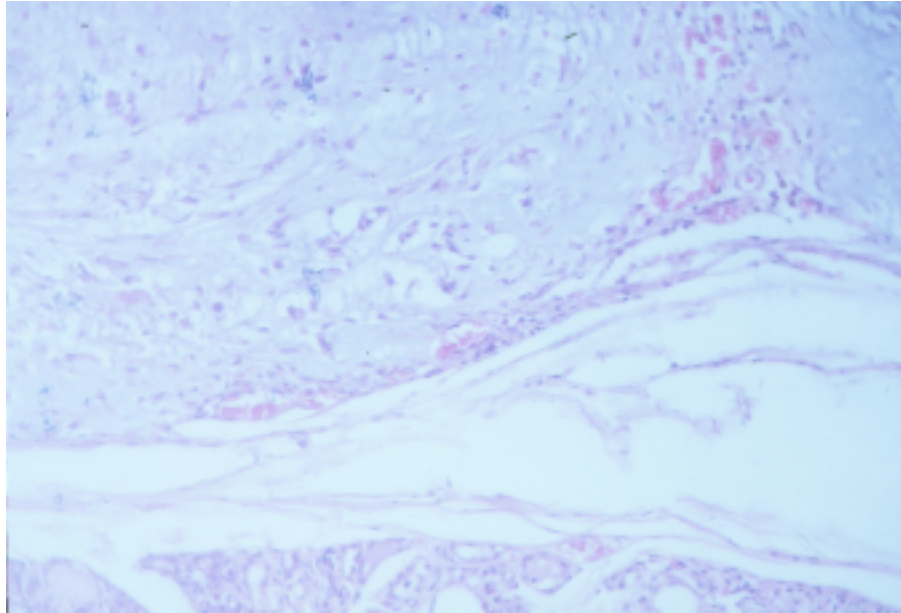


Abb. 1: Beispiel zur Gruppe I mit Grad 1, paraffineingebettetes Mammagewebe, HE, 100x

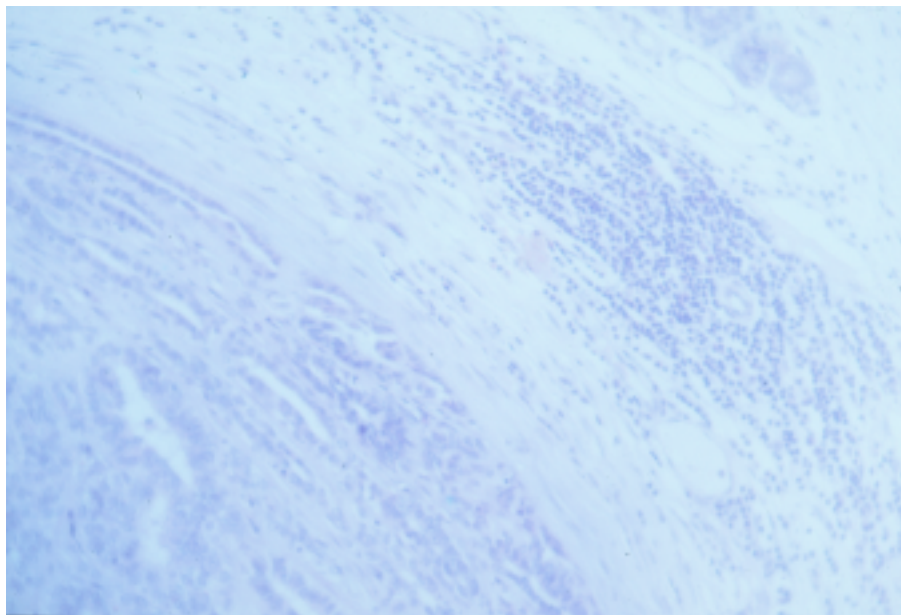


Abb. 2: Beispiel zur Gruppe II mit Grad 3, paraffineingebettetes Mammagewebe, HE, 100x

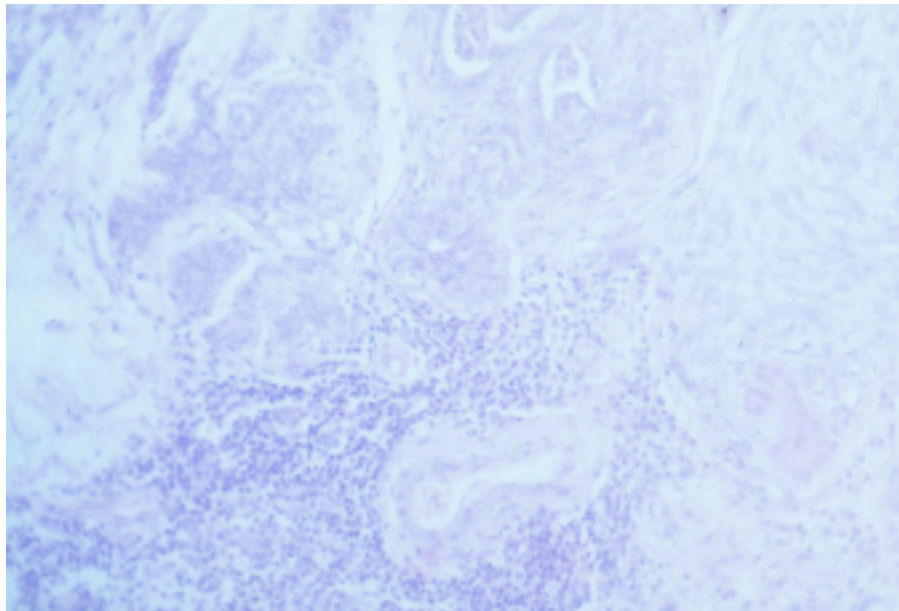


Abb. 3: Beispiel zur Gruppe III mit Grad 3, paraffineingebettetes Mammagewebe, HE, 100x

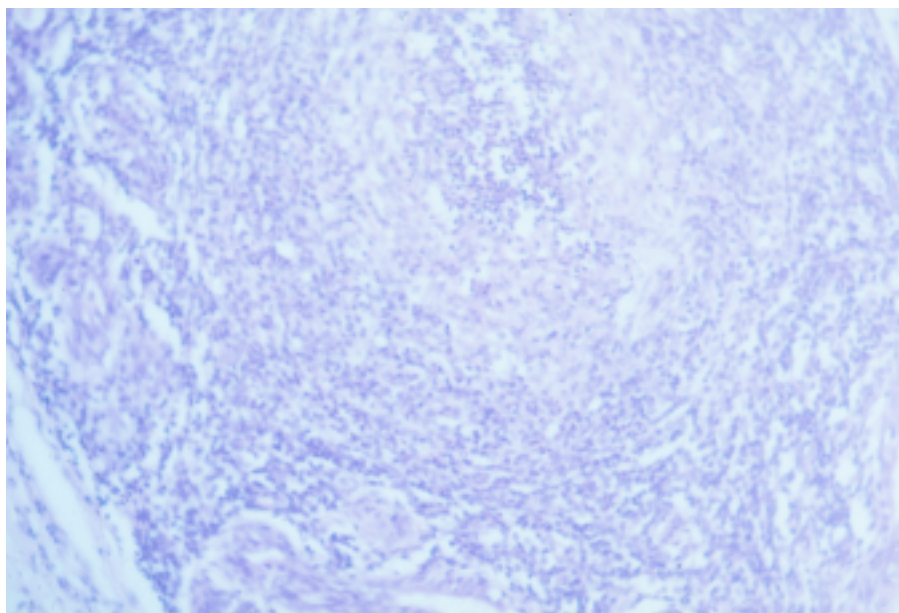


Abb. 4: Beispiel zur Gruppe IV mit Grad 3, paraffineingebettetes Mammagewebe, HE, 100x

### 3.2.5.5.5. Aufteilung der Grade innerhalb der Gruppen

Tabelle 27 gibt Auskunft, wie sich die Grade 1 bis 3 innerhalb der Gruppen I bis IV bei den vier Operationsterminen aufteilen. Während in Gruppe I geringe bis mäßige lymphozytäre Infiltrate auftreten, sind in Gruppe II mäßige bis ausgeprägte, in Gruppe III überwiegend ausgeprägte und in Gruppe IV ausschließlich ausgeprägte Immunzellmengen vorhanden.

Tabelle 27: Verteilung der Grade innerhalb der Gruppen bei n=115 Gesäugeveränderungen

Gruppe	I			II			III			IV			n.a.
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1. OP n = 84	4	15	-	-	17	17	-	5	20	-	-	5	1
2. OP n = 26	5	3	-	-	6	6	-	-	5	-	-	-	1
3. OP n = 4	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1
4. OP n = 1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Gesamt n=115	10	18	-	-	25	23	-	5	26	-	-	5	3

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

n.a.: nicht auswertbar

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

1: gering, 2: mäßig, 3: auffallend/ausgeprägt

### 3.2.5.5.6. Einordnung des Einzeltieres in die Gruppen unter Berücksichtigung der Grade

Die Tabelle 28 (S. 62) gibt einerseits Auskunft, welche Grad- und Gruppeneinteilung das Einzeltier erhalten hat, andererseits läßt sie erkennen, inwieweit sich diese Einteilung in den Folgeoperationen verändert hat. Die verschiedenen Grade sind durch ihre unterschiedliche Schreibweise hervorgehoben.

Tabelle 28: Menge und Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate beim Einzeltier

	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
1. OP n=84	<u>1</u> , <u>2</u> , <u>9</u> , <u>11</u> , <u>13</u> , <u>16</u> , <u>19</u> , <u>20</u> , <u>21</u> , <u>27</u> , <u>32</u> , <u>37</u> , <u>41</u> , <u>48</u> , <u>49</u> , <u>51</u> , <u>54</u> , <u>64</u> , <u>66</u> ,	<u>3</u> , <u>4</u> , <u>7</u> , <u>10</u> , <u>15</u> , <u>18</u> , <u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u> , <u>26</u> , <u>28</u> , <u>31</u> , <u>33</u> , <u>34</u> , <u>36</u> , <u>39</u> , <u>43</u> , <u>44</u> , <u>45</u> , <u>47</u> , <u>55</u> , <u>61</u> , <u>63</u> , <u>68</u> , <u>71</u> , <u>73</u> , <u>75</u> , <u>76</u> , <u>77</u> , <u>78</u> , <u>79</u> , <u>80</u> , <u>81</u> , <u>83</u> ,	<u>5</u> , <u>12</u> , <u>17</u> , <u>25</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>38</u> , <u>40</u> , <u>42</u> , <u>50</u> , <u>52</u> , <u>53</u> , <u>56</u> , <u>57</u> , <u>58</u> , <u>59</u> , <u>60</u> , <u>62</u> , <u>65</u> , <u>67</u> , <u>69</u> , <u>72</u> , <u>74</u> , <u>82</u> , <u>84</u> ,	<u>6</u> , <u>8</u> , <u>14</u> , <u>35</u> , <u>70</u> ,	46,
2. OP n=26	<u>2</u> , <u>4</u> , <u>6</u> , <u>8</u> , <u>28</u> , <u>50</u> , <u>63</u> , <u>72</u> ,	<u>7</u> , <u>15</u> , <u>18</u> , <u>26</u> , <u>33</u> , <u>42</u> , <u>45</u> , <u>55</u> , <u>59</u> , <u>61</u> , <u>74</u> , <u>81</u> ,	<u>1</u> , <u>3</u> , <u>5</u> , <u>21</u> , <u>77</u> ,	-	51,
3. OP n=4	<u>1</u> ,	<u>4</u> ,	<u>45</u> ,	-	15,
4. OP n=1	-	<u>1</u> ,	-	-	-

Die Zahlen entsprechen den Nummern der Tiere (siehe Anhang, S. 152)

*kursive Zahlen*: Grad 1 (gering)

unterstrichene Zahlen: Grad 2 (mäßig)

**fette Zahlen**: Grad 3 (auffallend/ausgeprägt)

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

### 3.2.5.6. Einteilung in die Hauptdiagnosegruppen

Aufgrund der Vielfältigkeit der Diagnosen werden diese in sieben Hauptdiagnose-Gruppen (Tabelle 29, S. 63) eingeteilt. Die nicht neoplastischen Veränderungen in der Gesäugeleiste sowie Tumoren der Mamma, die nicht in das Punkteauswertungsschema passen, werden in Gruppe 7 unter „Sonstige“ aufgeführt.

Tabelle 29: Einteilung der Diagnosen in 7 Hauptdiagnosegruppen (HD), sowie ein Überblick über die jeweilige Dignität

Hauptdiagnose-Gruppen (HD)	Diagnosen	Dignität
1	Myoepitheliom	benigne
2	Adenom, komplexes Adenom	benigne
3	Alle Karzinome, wie frühe Karzinome, komplexe Karzinome, solide Karzinome, komplexe solide Karzinome, anaplastische Karzinome	maligne
4	Myoepithel-Karzinom	maligne
5	Adenokarzinome, Adenokarzinome mit Myoepithelbegleitung, Kombination von beiden in multinnodulären Neoplasien	maligne
6	Maligner Mischtumor	maligne
7	Sonstige: Mastitis, Zysten, Phlegmone, Hyperplasien, Basalzelltumor Lymphosarkom, Plattenepithelkarzinom, malignes Hämangioperizytom	benigne semimaligne maligne

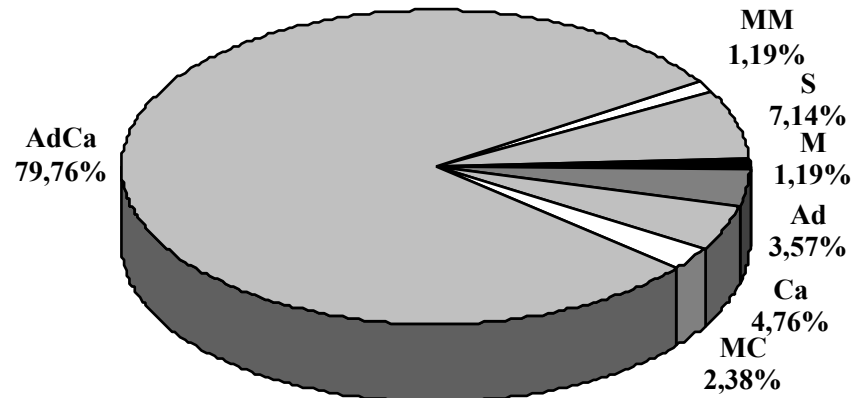
### 3.2.5.7. Verteilung der Hauptdiagnosen

Die 84 Gesäugeveränderungen der Erstoperation teilen sich qualitativ auf in 67 Adenokarzinome, 4 Karzinome, 3 Adenome, sowie 2 Myoepithel-Karzinome und jeweils ein maligner Mischtumor und ein Myoepitheliom.

Sechs Veränderungen stellen keine Mammatumoren dar und werden deswegen unter Sonstige zusammengefaßt. Dahinter verbergen sich ein Lymphosarkom, ein Plattenepithel-Karzinom, ein Basalzelltumor, ein malignes Hämangioperizytom, eine Mastitis mit Zystenbildung und eine Phlegmone (Graphik 5, S. 64).



Graphik 5: Diagnosenverteilung der Erstoperation bei n=84 Hündinnen



**M:** Myoepitheliom (HD 1), **Ad:** Adenome (HD 2), **Ca:** Karzinome (HD 3),

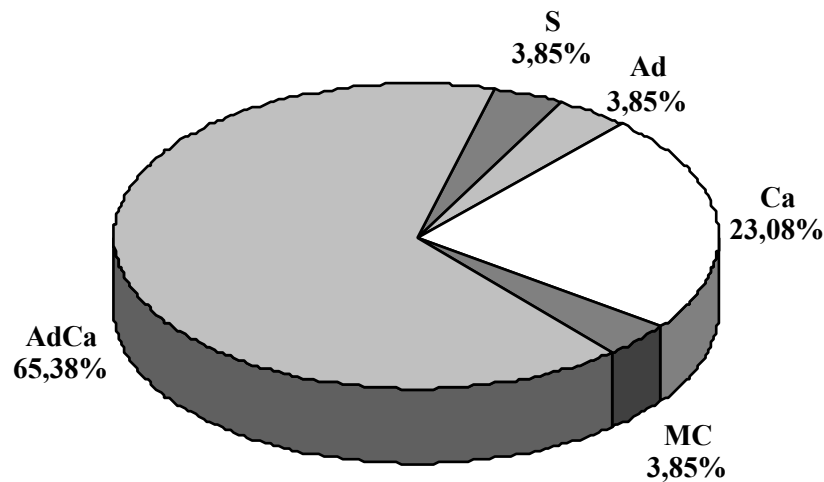
**MC:** Myoepithelkarzinome (HD 4), **AdCa:** Adenokarzinome (HD 5),

**MM:** maligner Mischtumor (HD 6), **S:** Sonstige (HD 7)

HD: Hauptdiagnosegruppe

Bei der histopathologischen Untersuchung der 26 Exzidate der Zweitoperation werden 17 Adenokarzinome, 6 Karzinome, sowie jeweils ein Adenom und ein Myoepithel-Karzinom diagnostiziert. Die hier unter Sonstige geführte Probe besteht aus Hyperplasien (Graphik 6, S. 65).

Graphik 6: Diagnosenverteilung der Zweitoperation bei n=26 Hündinnen



**Ad:** Adenome (HD 2), **Ca:** Karzinome (HD3), **MC:** Myoepithelkarzinome (HD 4), **AdCa:** Adenokarzinome (HD 5), **S:** Sonstige (HD 7)

HD: Hauptdiagnosegruppe

Die Tumoren der Mamma der dritten Operation sind 2 Adenokarzinome sowie ein Karzinom. Eine Probe stellt nur eine Mastitis dar (Sonstige). Die Gesäugeveränderung der vierten Operation ist ein Adenokarzinom.

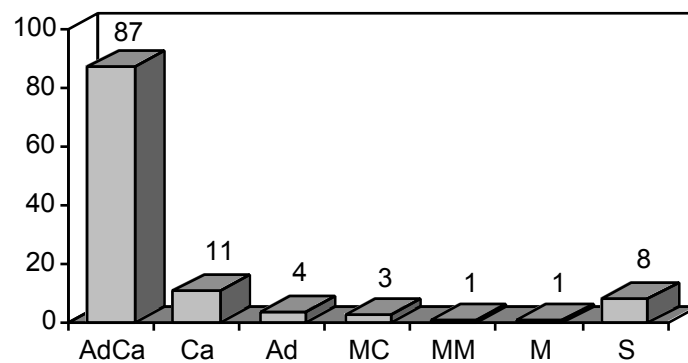
Insgesamt liegen bei den n=115 Gesäugeveränderungen 87 (75,65%) Adenokarzinome, 11 (9,57%) übrige Karzinome, 4 (3,48%) Adenome, 3 (2,61%) Myoepithelkarzinome und jeweils ein maligner Misch tumor und ein Myoepitheliom vor (Graphik 7, S. 66).

So wird der Hauptteil der malignen Tumoren der Mamma in der vorliegenden Arbeit durch die Adenokarzinome teilweise mit, teilweise ohne Myoepithelbegleitung oder als Kombination von beiden in multinodulären Neoplasien, repräsentiert. Weitere Karzinome sind deutlich weniger im Untersuchungsgut vorhanden. Adenome und Myoepithelkarzinome sind nur in einer geringen Anzahl, maligne Misch tumoren und Myoepitheliome jeweils einmal vertreten.

Unter Sonstige sind einerseits neoplastische, jedoch nicht das Drüsen- bzw. Myoepithel betreffende Veränderungen (Basalzelltumor, Lymphosarkom, Plattenepithelkarzinom und malignes Hämangioperizytom) und andererseits nicht-neoplastische Veränderungen (Mastitis, Zysten, Phlegmone und Hyperplasien) zusammengefaßt.

Diese Hauptdiagnose-Gruppe umfaßt insgesamt 8 (6,96%) der Proben. Sie werden nicht aus der Studie entfernt, da alle Einsendungen mit der klinischen Diagnose „Mammatumor“ ohne Selektion in die Auswertung mit eingehen sollen.

Graphik 7: Diagnoseverteilung bei n=115 Gesäugeveränderungen



AdCa: Adenokarzinom, Ca: Karzinom, Ad: Adenom,  
 MC: Myoepithelkarzinom, MM: maligner Mischtumor,  
 M: Myoepitheliom, S: Sonstige

### 3.2.5.8. Verteilung der Punkte

Tabelle 30 (S. 67) ist zu entnehmen, daß bei den 84 Gesäugeveränderungen der Erstoperation annähernd die Hälfte (48,81%) zwischen 20 und 29 Punkten nach GUTBERLET (1994) haben (Tabelle 67a, S. 160). Ebenso ist bei der Zweitoperation der überwiegende Teil der Tumoren (76,92%) mit über 20 Punkten bewertet worden (Tabelle 67b, S. 162). Insgesamt weisen, von allen eingesandten 115 Operationsexzidaten, 102 (88,70%) Proben mehr als fünf Punkte auf.

Tabelle 30: Punkteverteilung bei n=115 Gesäugeveränderungen

	Punkte						
	0	1-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49
1. OP n=84	6	4	1	17	41	13	2
2. OP n=26	1	1	-	4	12	8	-
3. OP n=4	1	-	-	2	-	-	1
4. OP n=1	-	-	-	-	1	-	-
Gesamt n=115	8	5	1	23	54	21	3

### 3.2.6. Zusammenhang zwischen Hauptdiagnose und weiteren Parametern

#### 3.2.6.1. Diagnose und Rasse

Die Vielfältigkeit der sich hinter den Hauptdiagnosegruppen verbergenden Diagnosen ist aus Tabelle 29 (S. 63) ersichtlich. Die Verteilung der Veränderungen der Erstoperation innerhalb der 84 Hündinnen ist in Tabelle 31 wiedergegeben. Beim Deutschen Schäferhund sind fünf von sechs Veränderungen (83,33%) bösartig. Der Dackel zeigt bei dreizehn von fünfzehn (86,66%) Tumoren Malignität. Beim Cocker-Spaniel sind alle drei Veränderungen Adenokarzinome. Bei den Terriern sind alle Tumoren maligne, eine der sonstigen Veränderungen ist eine Mastitis mit Zystenbildung. Die Mischlinge weisen einen hohen Anteil (96,15%) an malignen Tumoren auf. Nur ein Tumor von 26 ist benigne, einer ist semimaligne. Bei den Übrigen sind alle Veränderungen maligne.

Tabelle 31: Hauptdiagnosen (HD)- Gruppe und Rasse bei n=84 Tieren

HD-Gruppe	Pudel	DSH	Dackel	C.-Sp.	Terrier	Mix	Übrige
1 - Myoepitheliom	-	-	1	-	-	-	-
2 - alle Adenome	1	1	-	-	-	1	-
3 - alle Karzinome	1	-	1	-	1	1	-
4 - Myoepithelkarzinom	-	-	-	-	-	2	-
5 - alle Adenokarzinome	2	5	12	3	10	19	16
6 - maligner Misch tumor	-	-	-	-	-	1	-
7 - Sonstige	-	-	1	-	2	2	1
Gesamt n=84	4	6	15	3	13	26	17

DSH: Deutscher Schäferhund, C.-Sp.: Cocker-Spaniel

HD-Gruppe: Hauptdiagnosegruppe

### 3.2.6.2. Diagnose und Alter

Tabelle 32 gibt Auskunft über das Durchschnittsalter der Hündinnen innerhalb der Hauptdiagnosegruppen sowie die jeweilige Standardabweichung (s).

Das mittlere Alter der Tiere scheint bei den benignen Mammatumoren und den Sonstigen unter dem Durchschnittsalter von 9,52 Jahren zu liegen, allerdings ist hier die geringere Fallzahl zu berücksichtigen.

Das relativ hohe mittlere Alter bei den Karzinomen ist durch das Vorhandensein eines über 18 Jahre alten Mischlings, bei nur 4 Fällen insgesamt, erklärbar.

Auffällig ist die Verschiebung der maligneren Diagnose zum höheren Alter.

Tabelle 32: Durchschnittsalter und Standardabweichung (s) innerhalb der Hauptdiagnose (HD)-gruppen bei n=84 Tieren

HD-Gruppe	Mittelwert Alter	(s)	n=84
1 - Myoepitheliom	7,08	1,22	1
2 - alle Adenome	8,58	0,47	3
3 - alle Karzinome	12,54	1,51	4
4 - Myoepithelkarzinom	9,50	0,01	2
5 - alle Adenokarzinome	9,54	0,01	67
6 - maligner Misch tumor	9,25	0,14	1
7 - Sonstige	8,15	0,68	6

### 3.2.6.3. Diagnose und Geschlecht

Alle Tiere dieser Studie sind weiblichen Geschlechts, zwanzig von ihnen sind kastriert, bzw. ovariohysterektomiert. Von zwei Hündinnen ist der Status unbekannt. Die Tiere, die ihrer hormonellen Stimulation durch eine Kastration bzw. Ovariohysterektomie entzogen wurden, weisen ausschließlich maligne Mammatumoren auf (Tabelle 33, S. 69).

Tabelle 33: Zusammenhang zwischen Hauptdiagnose (HD)-gruppe und Geschlechtsstatus von n=84 Hündinnen

HD-Gruppe	kastriert / ovariohysterektomiert	unkastriert / intakt	Geschlechtsstatus unbekannt
1 - Myoepitheliom	-	1	-
2 - alle Adenome	-	3	-
3 - alle Karzinome	1	3	-
4 - Myoepithelkarzinom	1	1	-
5 - alle Adenokarzinome	17	48	2
6 - maligner Misch tumor	-	1	-
7 - Sonstige	1	5	-
Gesamt n=84	20	62	2

#### 3.2.6.4. Diagnose und betroffene Gesäugeleiste

Die 84 Veränderungen mit der jeweils höchsten Malignitätsstufe der Erstoperation sind annähernd gleich auf beide Gesäugeleisten verteilt (Tabelle 34). Ein Trend ist hier nicht abzulesen. Bei den 5 Tieren, die beidseits mammektomiert wurden, befindet sich die bösartigste Neoplasie jeweils zweimal in der rechten und zweimal in der linken Seite, von einem dieser Tiere ist die genaue Lokalisation unbekannt.

Tabelle 34: Hauptdiagnose und Lokalisation des Tumors mit der höchsten Malignitätsstufe bei der Erstoperation bei n=84 Tieren

HD-Gruppe	rechts	links	unbekannt
1 - Myoepitheliom	1	-	-
2 - alle Adenome	1	2	-
3 - alle Karzinome	2	2	-
4 - Myoepithelkarzinom	-	1	1
5 - alle Adenokarzinome	36	30	1
6 - maligner Misch tumor	-	1	-
7 - Sonstige	2	3	1
Gesamt n=84	42	39	3

HD-Gruppe: Hauptdiagnosegruppe

### 3.2.6.5. Diagnose und Probengröße

Tabelle 35 gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen Diagnose und Größe des bösartigsten Tumors des jeweiligen Operationsexzidates. Die sich hinter den Gruppen 1 bis 5 verbergenden Zahlen in Zentimetern und die Definitionen der Größe sind aus Tabelle 10 (S. 34) ersichtlich. In der Gruppe der mikroskopisch kleinen Tumoren liegt zu 85,0%, in der Gruppe der kleinen Tumoren zu 97,62% Malignität vor. In den Gruppen der großen und sehr großen Tumoren liegt ausschließlich Malignität vor. Die Sonstige-Probe in Gruppe 5 ist die abszedierende Phlegmone, deren Größe aufgrund ihrer deutlichen Wandbildung aus chronischem Granulationsgewebe meßbar ist. Die drei nicht meßbaren Veränderungen sind Mastitiden und Hyperplasien, die sich über die gesamte zugesandte Probe erstrecken.

Tabelle 35: Verteilung der n=115 Gesäugeveränderungen in die Hauptdiagnose (HD)-gruppen anhand ihrer Größe

HD-Gruppe	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	nicht meßbar
1 - Myoepitheliom	-	1	-	-	-	-
2 - alle Adenome	3	-	1	-	-	-
3 - alle Karzinome	1	1	6	3	-	-
4 - Myoepithelkarzinom	1	1	-	1	-	-
5 - alle Adenokarzinome	15	39	13	14	6	-
6 - maligner Misch tumor	-	-	-	-	1	-
7 - Sonstige	-	-	1	3	1	3
Gesamt n=115	20	42	21	21	8	3

### 3.2.6.6. Diagnose und lymphozytäre Infiltrate (HE)

#### 3.2.6.6.1. Hauptdiagnosegruppe und Gradeinteilung

Bei der Betrachtung der Menge (Tabelle 36, S. 71) der Lymphozyten ist auffällig, daß der überwiegende Teil der Karzinome (72,73%) eine ausgeprägte Infiltration aufweist, nur 18,18% zeigen geringe und 9,09% mäßige Infiltrationen. Innerhalb der Adenokarzinome sind 6,90% der Neoplasien gering infiltriert, während 48,28% mäßige und 44,83% ausgeprägte Lymphozytenmengen zeigen.

Bei den Adenomen zeigen 75,00% eine mäßige und 25,00% eine ausgeprägte, bei den Myoepithelkarzinomen 33,33% eine mäßige und 66,67% eine ausgeprägte Reaktion.

Tabelle 36: Zusammenhang zwischen Hauptdiagnose (HD)-gruppe und Gradeinteilung bei n=115 Gesäugeveränderungen

HD-Gruppe	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	n.a.
1 - Myoepitheliom	-	1	-	-	-
2 - alle Adenome	-	-	3	1	-
3 - alle Karzinome	-	2	1	8	-
4 - Myoepithelkarzinom	-	-	1	2	-
5 - alle Adenokarzinome	-	6	42	39	-
6 - maligner Mischtumor	-	-	1	-	-
7 - Sonstige	-	1	-	4	3
Gesamt n=115	-	10	48	54	3

0: fehlend, 1: gering, 2: mäßig, 3: auffallend/ausgeprägt

### 3.2.6.6.2. Hauptdiagnosegruppe und Gruppeneinteilung

Bei der Betrachtung der Lokalisation und des Verteilungsmusters (Tabelle 37, S. 72) der Lymphozyten ist auffällig, daß alle Tumoren, die der Gruppe II zugeordnet wurden, Malignität aufweisen.

In Gruppe I sind insgesamt 89,29%, in Gruppe III 96,77% und in Gruppe IV 80,00% maligne Neoplasien. Allerdings ist in Gruppe IV die geringe Fallzahl zu berücksichtigen.

Bei den Karzinomen sind 45,46% der Gruppe III zugeordnet, bei den Adenokarzinomen befinden sich 28,74% in Gruppe III und 48,28% in Gruppe II.

Das Myoepitheliom und der maligne Mischtumor zeigen jeweils nur diffuse lymphozytäre Infiltrate in beiden Komponenten (Gruppe I).



Tabelle 37: Zusammenhang zwischen Hauptdiagnosegruppe und Gruppeneinteilung bei  
n=115 Gesäugeveränderungen

HD-Gruppe	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
1 - Myoepitheliom	1	-	-	-	-
2 - alle Adenome	2	-	1	1	-
3 - alle Karzinome	3	2	5	1	-
4 - Myoepithelkarzinom	1	2	-	-	-
5 - alle Adenokarzinome	19	42	25	1	-
6 - maligner Misch tumor	1	-	-	-	-
7 - Sonstige	1	2	-	2	3
Gesamt n=115	28	48	31	5	3

HD-Gruppe: Hauptdiagnosegruppe

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

### 3.2.6.6.3. Auswertung der Stufe 1

Aus Tabelle 38 (S. 73) ist ersichtlich, wie die Hauptdiagnosegruppen mit ihren jeweiligen Graden den Gruppen zugeordnet sind. Die Zahlen stellen wieder die laufenden Nummern der Tiere dar (Anhang, S. 152). Die verschiedenen Grade sind durch die unterschiedliche Schreibweise kenntlich gemacht. Auffällig ist, daß eines der Adenome eine ausgeprägte Immunzellmenge aufweist und in Gruppe IV eingestuft ist. Die Karzinome zeigen zu 72,73% ausgeprägte lymphozytäre Infiltrate, wobei die meisten der Gruppe III zugeordnet sind. Der maligne Misch tumor zeigt einen mäßigen Grad und befindet sich in Gruppe I. 42 (48,28%) der Adenokarzinome sind in Gruppe II, wobei 17 (40,48%) Proben eine ausgeprägte Lymphozytenmenge aufweisen. Weitere 25 (28,74%) Adenokarzinome befinden sich in Gruppe III, jedoch zeigen hier 21 (84,00%) Proben Grad 3-Immunzellen.

Um Informationen darüber zu erhalten, inwieweit sich die Grad- und Gruppeneinteilung bei den Folgeoperationen verändert, wird die Einordnung des Einzeltieres in dieses Schema betrachtet.

Am Beispiel des Tieres mit der laufenden Nummer 1 (Anhang, S. 152) soll verdeutlicht werden, wie unterschiedlich das Vorkommen der Lymphozyten bei mehreren erfolgten Operationen sein kann, obwohl viermal dieselbe Diagnose (Adenokarzinom) gestellt wurde:

1. Operation: Grad 2 (mäßig) in Gruppe I (diffus in K/TP und diffus im T)
2. Operation: Grad 3 (auffallend/ausgeprägt) in Gruppe III (herdförmig in K/TP und herdförmig im T)
3. Operation: Grad 1 (gering) in Gruppe I (diffus in K/TP und diffus im T)
4. Operation: Grad 2 (mäßig) in Gruppe II (herdförmig in K/TP und diffus im T)

Tabelle 38: Zusammenhang zwischen Hauptdiagnose (HD)-gruppe und Menge sowie Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Gesäugeveränderungen unter Berücksichtigung der laufenden Nummer (Anhang, S. 152)

HD-Gruppe	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
1 - Myoepitheliom	16,	-	-	-	-
2 - alle Adenome	48, 50,	-	50,	35,	-
3 - alle Karzinome	2, 6, 63	45, 68,	3, 21, 42, 45, 77,	8,	-
4 - Myoepithelkarzinom	8,	22, 76,	-	-	-
5 - alle Adenokarzinome	1, 1, 2, 4, 11, 13, 19, 20, 21, 27, 28, 32, 37, 41, 49, 51, 54, 64, 72,	1, 3, 4, 4, 7, 7, 10, 15, 15, 18, 18, 23, 24, 26, 26, 28, 31, 33, 33, 34, 36, 39, 42, 43, 44, 47, 55, 55, 59, 61, 61, 71, 73, 74, 75, 77, 78, 79, 80, 81, 81, 83,	1, 5, 5, 12, 17, 25, 29, 30, 38, 40, 52, 53, 56, 57, 58, 59, 60, 62, 65, 67, 69, 72, 74, 82, 84,	6,	-
6 - maligner Misch tumor	9,	-	-	-	-
7 - Sonstige	66,	45, 63,	-	14, 70,	15, 46, 51,
Gesamt n=115	28	48	31	5	3

Legende siehe Seite 74

Die Zahlen entsprechen den Nummern der Tiere (siehe Anhang, S. 152)

*kursive Zahlen*: Grad 1 (gering)

unterstrichene Zahlen: Grad 2 (mäßig)

**fette Zahlen**: Grad 3 (auffallend/ausgeprägt)

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

### 3.2.6.7. Diagnose und Punkte

Tabelle 39 gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen Hauptdiagnosegruppe und Wertungspunktzahl nach GUTBERLET (1994) bei den 115 Operationsexzidaten. Die Tumoren der Mamma im weiteren Sinne, unabhängig ob sie neoplastischer oder nicht-neoplastischer Ursache sind, werden ohne Punkte bewertet. Die Punktzahl der benignen Mammatumoren liegt zwischen eins und vier. Alle malignen Mammatumoren weisen mehr als fünf Punkte auf.

Tabelle 39: Hauptdiagnose (HD)-gruppe und Punkteverteilung bei  
n=115 Gesäugeveränderungen

HD-Gruppe	Punkte						
	0	1-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49
<b>1</b> - Myoepitheliom	-	1	-	-	-	-	-
<b>2</b> - alle Adenome	-	4	-	-	-	-	-
<b>3</b> - alle Karzinome	-	-	-	1	3	6	1
<b>4</b> - Myoepithelkarzinom	-	-	-	2	1	-	-
<b>5</b> - alle Adenokarzinome	-	-	1	20	49	15	2
<b>6</b> - maligner Misch tumor	-	-	-	-	1	-	-
<b>7</b> - Sonstige	8	-	-	-	-	-	-
Gesamt n=115	8	5	1	23	54	21	3

### 3.2.7. Verlauf

Tabelle 40 gibt Auskunft über den Verlauf der Mammatumorerkrankung beim Einzeltier. 52 (61,91%) Tiere sind einmal, 27 (32,14%) Tiere sind zweimal, 3 (3,57%), Tiere sind dreimal und zwei (2,38%) Tiere sind insgesamt viermal operiert worden.

Bei 47 (55,95%) Tieren waren bei der ersten Kontrolle Mammatumoren vorhanden, von denen 26 (30,95%) operiert wurden. Am Gesäuge von 23 (27,38%) Tieren wurden bei der ersten Kontrolle keine tastbaren Veränderungen festgestellt. 14 (16,67%) sind zu dieser Untersuchung nicht erschienen. Im Rahmen der zweiten Kontrolle wurde bei 28 (33,33%) Tieren neoplastisches Wachstum in der Milchleiste ertastet, von denen 9 (10,71%) operiert wurden. Bei 31 (36,91%) Tieren war das Gesäuge ohne besonderen Befund. Diesmal waren 25 (29,76%) Tiere nicht erschienen. Bei der dritten Kontrolle wurden in der Mammaregion von 13 (15,48%) Tieren Tumoren festgestellt, die in 4 (4,76%) Fällen chirurgisch entfernt wurden. 17 (20,24%) Hündinnen waren frei von tastbaren Veränderungen, 54 (64,29%) der Tierbesitzer nahmen den Kontrolltermin nicht wahr. 55 (65,48%) Tiere lebten bei Beendigung des Untersuchungszeitraumes noch, 26 (30,95%) Tiere haben den Abschluß der Studie nicht erreicht. 21 (25,0%) Tiere sind euthanasiert worden, von denen 4 (4,8%) Tiere zur Sektion in das Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin eingesandt worden sind. 5 (6,0%) Tiere wurden auf andere Weise getötet (z.B. Beißerei, Vergiftung) oder sind verstorben, von weiteren 3 (3,57%) Tieren ist der Verbleib unbekannt.

Tabelle 40: Verlauf der Mammatumorerkrankung bei n=84 Hündinnen

Lfd.-Nr.	1. OP/Tages-Nr.	1. Kontrolle	2. Kontrolle	3. Kontrolle	Abschluß/Sektion
1	E 145/93	E 1020/93	E 2723/95	E 78/96	17.07.1997 Hm
2	E 261/93	E 1813/95			17.01.96 gestorb.
3	E 1822/93	E 816/95	27.09.1995 TM		S 1365/95
4	E 1992/93	E 1241/95	E 2058/95	14.06.1996 obB	15.06.1997 Hm
5	E 2728/93	E 2192/95	15.03.1996 obB	15.09.1996 obB	3/97 unbek. verz.
6	E 3011/93	E 2476/95			11/95 gestorben
7	E 69/94	E 2410/95	12.03.1996 obB	15.11.1996 obB	28.07.1997 Hm
8	E 1866/94	E 2825/95	02.08.1996 TM	31.03.1997 TM	31.07.1997 HI
9	E 564/95	14.11.1995 obB	01.07.1996 obB		01.07.1997 Hm
10	E 565/95	11.03.1996 TM	30.10.1996 TM		15.06.1997 Hm
11	E 598/95	04.09.1995 obB	05.03.1996 obB	30.10.1996 obB	31.07.1997 Hm
12	E 599/95	04.09.1995 TM	05.03.1996 TM	30.10.1996 TM	30.08.1997 Hm

Fortsetzung der Tabelle siehe Seite 76, Legende siehe Seite 77

Fortsetzung von Seite 75

13	E 617/95	12.09.1995 TM	15.03.1996 TM	30.10.1996 TM	23.05.1997 Hm
14	E 624/95				23.03.95 Eutha
15	E 682/95	11.09.1995 TM	E 701/96	E 548/97	3/97 Hm
16	E 780/95	02.10.1995 obB	09.04.1996 obB	30.10.1996 obB	31.07.1997 Hm
17	E 781/95	27.09.1995 TM	26.03.1996 TM	05.11.1996 TM	18.09.1997 Hm
18	E 782/95	E 2286/95	27.03.1996		18.08.1997 Hm
19	E 783/95				unbek. verzogen
20	E 784/95	23.09.1995 obB	23.03.1996 obB	05.12.1996 obB	31.07.1997 Hm
21	E 785/95	E 2855/95	25.03.1996 obB	15.09.1996 obB	31.07.1997 Hm
22	E 851/95	03.11.1995 obB	27.03.1996 obB	30.10.1996 obB	31.07.1997 Hm
23	E 883/95	06.01.1996 TM	22.07.1996 obB	07.12.1996 obB	31.07.1997 Hm
24	E 941/95	11.10.1995 obB	11.04.1996 obB	11.11.1996 obB	v. DSH getötet
25	E 1041/95				09.10.95 Eutha
26	E 1101/95	E 1424/95	12.12.1995 obB	08.05.1996 obB	31.07.1997 Hm
27	E 1277/95	16.12.1995 obB			21.08.1997 Hm
28	E 1288/95	13.12.1995 TM	E 953/96		15.06.1997 Hm
29	E 1289/95	12.03.1996 obB	04.11.1996 obB		31.08.1997 Hm
30	E 1309/95	11.03.1996 obB	27.02.1997 obB	15.04.1997 obB	31.07.1997 Hs
31	E 1324/95	24.11.1995 obB			30.01.96 Eutha
32	E 1359/95	14.11.1995 TM	20.05.1996 TM		01.07.1997 Hl
33	E 1485/95	08.12.1995 TM	15.06.1996 TM	E 413/97	31.07.1997 Hm
34	E 1545/95	17.01.1996 TM	15.08.1996 TM		31.07.1997 Hm
35	E 1573/95				8/96 Eutha
36	E 1594/95	12.03.1996 TM	16.01.1997 TM		15.06.1997 Hm
37	E 1646/95				S 1135/95
38	E 1698/95	29.02.1996 obB	24.07.1996 obB		31.08.1997 Hm
39	E 1708/95				S 1020/95
40	E 1767/95	11.01.1996 obB	24.07.1996 obB		25.09.96 gestorb.
41	E 1778/95	14.08.1996 obB	13.09.1996 TM		9/96 Eutha
42	10/92 kP	3/94 kP	E 1865/95	E 2268/95	02.02.1996 Hs
43	A 1993 kP	E 1885/95			9/95 Eutha
44	E 1954/95	15.03.1996 TM	21.09.1996 TM		31.07.1997 Hm
45	E 1955/95	E 394/96	E 579/96	15.05.1996 TM	7/96 Eutha
46	E 1961/95				8/97 Hm
47	1987 kP	E 2016/95			22.03.1996 Eutha
48	E 2114/95	21.08.1996 TM			31.07.1997 Hm
49	11/94 kP	E 2122/95	14.05.1996 obB		07.08.1996 Eutha
50	E 2133/95	E 2660/95	15.03.1996 obB	17.09.1996 obB	31.07.1997 Hm
51	E 2269/95	26.03.1996 obB	E 2305/96		31.07.1997 Hm
52	E 2339/95	29.03.1996 TM	07.10.1996 obB		28.07.1997 Hm
53	E 2340/95	01.04.1996 obB			31.07.1997 Hm
54	E 2341/95	18.01.1996 TM	01.04.1996 TM	24.09.1996 TM	30.06.1997 Hm
55	E 2510/95	17.04.1996 TM	E 2185/96		31.07.1997 Hm
56	E 2535/95				8/97 unbek. verz.
57	E 2589/95	07.05.1996 obB	01.11.1996 obB		31.08.1997 Hm
58	E 2617/95			23.01.1997 TM	13.06.1997 Eutha
59	E 2640/95	E 263/96	14.05.1996 obB	25.03.1997 obB	15.06.1997 Hm
60	10/95 kP	E 2641/95			8/96 Eutha
61	E 2675/95	E 3056/95	12.06.1996 obB	07.12.1996 obB	31.07.1997 Hm

Fortsetzung der Tabelle siehe Seite 77, Legende siehe Seite 77

Fortsetzung von Seite 76

62	E 2744/95	05.07.1996 TM	18.02.1997 TM		31.07.1997 Hm
63	E 2793/95	21.05.1996 obB	E 2075/96		19.11.1996 Eutha
64	8/95 kP	E 2824/95	28.06.1996 obB		18.09.1997 Hm
65	E 2869/95	16.05.1996 obB	31.10.1996 obB		22.05.1997 Eutha
66	E 2870/95	18.07.1996 obB	23.01.1997 obB		31.07.1997 Hm
67	E 2889/95	24.06.1996 TM	23.01.1997 TM		31.07.1997 Hm
68	E 49/96				06.09.1996 Eutha
69	E 50/96				2/96 gestorben
70	E 53/96				23.02.1996 Eutha
71	E 144/96	29.08.1996 obB	17.02.1997 obB		03.09.1997 Hm
72	E 311/96	E 704/96	01.08.1996 obB	17.02.1997 obB	31.07.1997 Hm
73	E 312/96	07.08.1996 TM	21.02.1997 TM		31.07.1997 Hm
74	E 360/96	E 677/96	27.08.1996 obB	20.02.1997 obB	31.07.1997 Hm
75	1993 kP	E 361/96	19.09.1996 TM	21.02.1997 TM	31.08.1997 Hm
76	E 375/96	28.08.1996 obB	14.03.1997 obB		31.08.1997 Hm
77	E 393/96	E 1283/96	05.09.1996 obB	15.03.1997 TM	19.05.1997 Eutha
78	E 407/96				4/97 Eutha
79	E 495/96	12.03.1996 TM			S 497/96
80	E 496/96	07.09.1996 obB			31.07.1997 Hm
81	E 510/96	E 961/96	30.08.1996 obB		31.07.1997 Hm
82	E 546/96	15.08.1996 obB	10.01.1997 obB		31.07.1997 Hm
83	E 547/96	11.10.1996 TM	28.02.1997 TM		31.07.1997 Hm
84	E 576/96				8/97 Hm

E: Einsendung, S: Sektion, E (Nr): Einsendenummer, S (Nr): Sektionsnummer,

Hm: Hund munter (laut Aussage des Besitzers),

HI: Hund lebt (laut Besitzer, aber keine Aussage über das Befinden des Tieres),

Hs: Hund schlecht (laut Aussage des Besitzers), gestorb.:gestorben, unbek. verz.: unbekannt verzogen,

Eutha: euthanasiert,

obB: ohne besonderen Befund,

TM: Tumoren der Mamma, keine Operation,

kP: keine Untersuchung in der Pathologie,

: Kontrolltermin nicht wahrgenommen,

### 3.2.7.1. Dignitätsschwankungen

Tabelle 41 (S. 78) gibt Auskunft über die Schwankungen der Dignitäten bis zur jeweils letzten erfolgten Operation der n=26 Hündinnen, die bis zu viermal operiert worden sind. Die Dignitäten werden anhand der Punkteverteilung verifiziert.

Zur besseren Orientierung sind die Hauptdiagnosegruppen mit vermerkt. Bei der zweiten Operation ist bei 18 (69,23%) Tieren die Dignität erhöht, bei 8 (30,77%) Tieren ist sie erniedrigt. Bei den 4 Hündinnen, die ein drittes Mal operiert worden sind, ist bei einem Tier die Dignität noch weiter gestiegen, bei 3 Tieren ist sie gesunken, allerdings bei einem dieser Tiere zur vierten Operation wieder erhöht. Insgesamt ist bei 16 (61,54%) Hündinnen eine Steigerung, bei 10 (38,46%) eine Absenkung der Dignität bis zur letzten erfolgten Operation zu beobachten.

Tabelle 41: Verlauf der Dignitäten bis zur jeweils letzten erfolgten Operation

Lfd.-Nr.	1. OP		2. OP		3. OP		4. OP	
	HD / Punkte	HD / Punkte	Dignität	HD / Punkte	Dignität	HD / Punkte	Dignität	
1	5 / 8	5 / 21		5 / 19		5 / 20		
2	3 / 20	5 / 26		-	-	-	-	
3	5 / 23	3 / 27		-	-	-	-	
4	5 / 21	5 / 25		5 / 15		-	-	
5	5 / 20	5 / 30		-	-	-	-	
6	5 / 21	3 / 32		-	-	-	-	
7	5 / 22	5 / 19		-	-	-	-	
8	3 / 15	4 / 19		-	-	-	-	
15	5 / 18	5 / 26		7 / 0		-	-	
18	5 / 20	5 / 21		-	-	-	-	
21	5 / 18	3 / 32		-	-	-	-	
26	5 / 20	5 / 31		-	-	-	-	
28	5 / 23	5 / 24		-	-	-	-	
33	5 / 18	5 / 32		-	-	-	-	
42	3 / 34	5 / 31		-	-	-	-	
45	7 / 0	3 / 31		3 / 41		-	-	
50	2 / 4	2 / 2		-	-	-	-	
51	5 / 18	7 / 0		-	-	-	-	
55	5 / 29	5 / 22		-	-	-	-	
59	5 / 26	5 / 19		-	-	-	-	
61	5 / 25	5 / 26		-	-	-	-	
63	7 / 0	3 / 20		-	-	-	-	
72	5 / 26	5 / 16		-	-	-	-	
74	5 / 21	5 / 20		-	-	-	-	
77	5 / 22	3 / 30		-	-	-	-	
81	5 / 20	5 / 23		-	-	-	-	

HD / Punkte: Hauptdiagnosegruppe / Punkte

: Dignität gesteigert, : Dignität des Exzidates der letzten erfolgten Operation gesteigert

: Dignität erniedrigt, : Dignität des Exzidates der letzten erfolgten Operation erniedrigt

### 3.2.7.2. Überlebensrate in Monaten

Die Überlebensraten in Monaten bei Abschluß der Studie werden von allen Hündinnen, sowohl der lebenden als auch der toten, ab der ersten erfolgten Operation der vorliegenden Studie berechnet (Graphik 8).

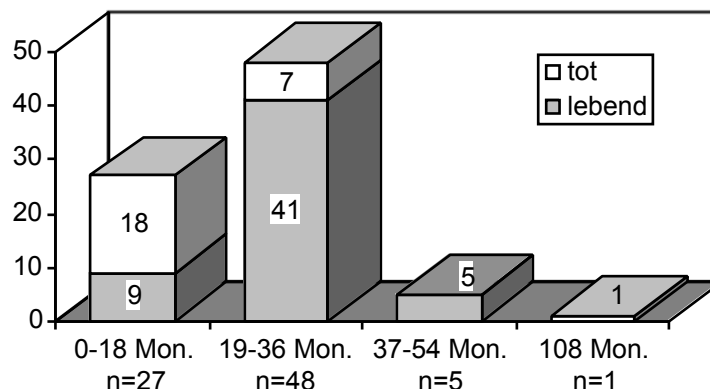
Daher erstreckt sich der Beobachtungszeitraum bei den meisten Tieren über mehrere Jahre.

Die Überlebenszeit der 26 verstorbenen Hündinnen liegt bei bis zu 108 Monaten (9 Jahre !). Es ist auffällig, daß 25 (96,15%) Tiere in den ersten drei Jahren verstorben sind, bzw. getötet wurden.

Von drei Tieren ist der Status präsens (lebend oder tot) unbekannt, da die Besitzer unbekannt verzogen sind. Sieben von neun Hündinnen, deren Todesursache nachgewiesenermaßen Mammatumoren, bzw. in 4 Fällen deren Metastasen und in 3 Fällen deren Rezidive sind, wurden innerhalb der ersten eineinhalb Jahre getötet oder sind in diesem Zeitraum gestorben (Graphik 9, S. 80). Ein Tier wurde nach 26 Monaten und eines sogar erst nach 108 Monaten aufgrund von Metastasen eingeschläfert.

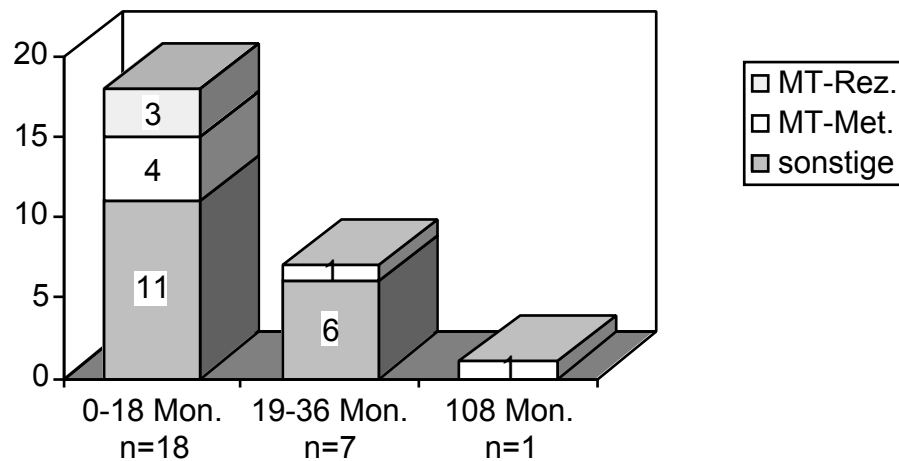
Außerdem sind in den ersten drei Jahren weitere 17 Hündinnen, die in Graphik 9 (Seite 80) als sonstige bezeichnet werden, gestorben oder getötet worden.

Graphik 8: Status präsens und Überlebensrate in Monaten bei n=81 Hündinnen





Graphik 9: Todesursache bei n=26 Hündinnen in Beziehung zur Überlebensrate in Monaten



MT: Mammatumor, Rez.: Rezidive, Met.: Metastasen

### 3.2.7.3. Follow-Up-Status

Bei Beendigung des Untersuchungszeitraumes wird der Verbleib, bzw. das Schicksal der Tiere festgestellt und in das Follow-Up-Schema eingetragen. Aus diesem Schema ergibt sich folgende prozentuale Aufteilung der Kategorien 0 bis 4 (Tabelle 42).

Tabelle 42: Follow-Up-Status der n=84 Tiere bei Abschluß der Studie und prozentuale Aufteilung der Kategorien 0 bis 4

Kategorie	Status	n	%
0	Follow-Up-Status / bzw. Verbleib unbekannt	3	3,57
1	Hunde, die am Ende der Studie noch leben	55	65,48
2	Todesursache Tumoren der Mamma nachgewiesen durch: Sektion, klinische Untersuchung, Röntgen Lunge	9	10,71
3	Todesursache keine Tumoren der Mamma nachgewiesen durch: Sektion	3	3,57
4	Tod aus anderen Gründen, keine klinischen Informationen zur Todesursache und keine Sektion	14	16,67
		84	100

### 3.2.7.3.1. Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und weiteren Parametern

#### 3.2.7.3.1.1. Follow-Up-Status und Rasse

Tabelle 43 gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Rasse bei den in der Studie befindlichen 84 Hündinnen.

Alle Pudeln haben den vorgegebenen Untersuchungszeitraum überlebt. Bei den Deutschen Schäferhunden ist die Hälfte der Hündinnen tot. Von den Dackeln haben 10 (66,67%) das Ende der Studie erreicht, während 5 (33,33%) Tiere dieser Rasse dieses nicht geschafft haben.

Bei den Mischlingen wurden 17 (65,39%) Hündinnen zum Abschluß des Beobachtungszeitraumes als lebend, 8 (30,77%) der Tiere als tot und einer mit Verbleib unbekannt registriert.

Bei den acht toten Tieren wurden bei fünf Mammatumoren als Todesursache durch eine Sektion nachgewiesen.

Bei den Übrigen liegen ähnliche prozentuale Verhältnisse vor. Elf (64,71%) dieser Tiere haben den Untersuchungszeitraum überlebt, 5 (29,41%) sind tot und bei einem Tier ist der Status unbekannt.

Bei den Terriern ist die Relation etwas verschoben. Hier haben 7 (53,85%) Tiere den Abschluß der Studie überlebt, 6 (46,15%) sind tot ohne anschließende Sektion.

Tabelle 43: Follow-Up-Status und Rassenverteilung bei n=84 Hündinnen

Follow-Up-Status	Pudel	DSH	Dackel	C.-Sp.	Terrier	Mix	Übrige
Kategorie 0	-	-	-	1	-	1	1
Kategorie 1	4	3	10	2	7	17	11
Kategorie 2	-	1	1	-	-	5	1
Kategorie 3	-	-	2	-	-	1	-
Kategorie 4	-	2	2	-	6	2	4
Gesamt n=84	4	6	15	3	13	26	17

DSH: Deutscher Schäferhund, C.-Sp.: Cocker-Spaniel

### 3.2.7.3.1.2. Follow-Up-Status und Alter

In Tabelle 44 ist das Durchschnittsalter der Tiere sowie die jeweilige Standardabweichung (s) vom mittleren Alter aller Hündinnen der Studie innerhalb der Follow-Up-Status-Kategorien angegeben.

Hier ist auffällig, daß das mittlere Alter bei den bei Abschluß des Beobachtungszeitraumes noch lebenden bis zu zweieinhalb Jahren niedriger ist, als bei den als tot registrierten.

Das Durchschnittsalter bei den Hündinnen, bei denen Mammatumoren als Todesursache nachgewiesen wurden, ist in etwa gleich dem der Tiere, bei denen keine Mammatumoren als Todesursache nachgewiesen werden konnten.

Tabelle 44: Follow-Up-Status und Altersverteilung bei n=84 Hündinnen

Follow-Up-Status	Mittelwert Alter	(s)	n=84
Kategorie 0	10,55	0,52	3
Kategorie 1	8,94	0,29	55
Kategorie 2	11,36	0,92	9
Kategorie 3	11,39	0,94	3
Kategorie 4	9,99	0,24	14

### 3.2.7.3.1.3. Follow-Up-Status und Geschlecht

Aus Tabelle 45 (S. 83) ist ersichtlich, daß 11 (55,00%) der kastrierten Hündinnen den Beobachtungszeitraum überlebt haben, während 8 (40,00%) Tiere tot sind. Von einem Tier ist der Verbleib unbekannt. Bei fünf der acht toten Tiere können Mammatumoren als Todesursache nicht nachgewiesen werden, da keine Sektion durchgeführt wurde.

Bei den unkastrierten Hündinnen haben 43 (69,36%) das Ende der Studie erreicht, 17 (27,42%) Tiere wurden als tot registriert und bei zwei Tieren ist der Follow-Up-Status unbekannt.

Bei den toten Hündinnen konnten in 6 (35,29%) Fällen Mammatumoren als Todesursache nachgewiesen werden, bei 3 (17,65%) Fällen nicht. 8 (47,06%) der toten Tiere wurden nicht sezirt.

Tabelle 45: Follow-Up-Status und Geschlechtsverteilung bei n=84 Tieren

Follow-Up-Status	kastriert / ovariohysterektomiert	unkastriert / intakt	Geschlechtsstatus unbekannt
Kategorie 0	1	2	-
Kategorie 1	11	43	1
Kategorie 2	3	6	-
Kategorie 3	-	3	-
Kategorie 4	5	8	1
n=84	20	62	2

#### 3.2.7.3.1.4. Follow-Up-Status und betroffene Gesäugeleiste

Tabelle 46 gibt Auskunft darüber, daß 20 (68,97%) der an der rechten Gesäugeleiste erkrankten Hündinnen den Abschluß der Studie erreicht haben. Bei den an der linken Seite erkrankten sind dies 15 (53,57%) Tiere. Hündinnen, bei denen anamnestisch beidseits Gesäugeveränderungen registriert wurden, haben zu 76,00% das Ende des Beobachtungszeitraumes erreicht.

Tabelle 46: Follow-Up-Status und Lokalisation des Tumors / der Tumoren bei der anamnestischen Befunderhebung

Follow-Up-Status	rechts	links	beidseits	unbekannt
Kategorie 0	1	1	1	-
Kategorie 1	20	15	19	1
Kategorie 2	2	5	2	-
Kategorie 3	-	2	1	-
Kategorie 4	6	5	2	1
n=84	29	28	25	2

#### 3.2.7.3.1.5. Follow-Up-Status und makroskopische Probengröße

Aus Tabelle 47 (S. 84) ist ersichtlich, daß mit Zunahme der Probengröße die Überlebensrate abnimmt. Von 11 Tieren mit mikroskopisch kleinen Tumoren leben am Ende des Beobachtungszeitraumes noch 9 (81,82%). Bei den Hündinnen mit kleinen Neoplasien haben 20 (66,63%), den Abschluß der Studie erreicht.

Bei den mittelgroßen und großen Mammatumoren haben insgesamt 23 (65,71%) den Untersuchungszeitraum überlebt. Von den Tieren mit sehr großen Mammatumoren sind dies nur 2 (28,57%).

Tabelle 47: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und makroskopischer Probengröße bei n=84 Neoplasien

Follow-Up-Status	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	nicht meßbar
Kategorie 0	-	2	-	-	1	-
Kategorie 1	9	20	14	9	2	1
Kategorie 2	-	2	2	4	1	-
Kategorie 3	-	1	1	1	-	-
Kategorie 4	2	5	1	3	3	-
n=84	11	30	18	17	7	1

### 3.2.7.3.1.6. Follow-Up-Status und lymphozytäre Infiltrate (HE)

#### 3.2.7.3.1.6.1. Follow-Up-Status und Gradeinteilung

Zwischen Follow-Up-Status und der Einteilung in Grade besteht ein Zusammenhang (Tabelle 48, S. 85):

Alle Tiere mit einer Grad 1 Immunzellmenge haben den Beobachtungszeitraum überlebt. Von einem Tier ist der Status unbekannt.

Hündinnen, die lymphozytäre Infiltrate des Grades 2 aufweisen, haben zu 75, 68% den Abschluß der Studie erreicht. Bei 3 von 9 Tieren sind Tumoren der Mamma als Todesursache nachgewiesen.

Tiere mit einer Grad 3-Einteilung haben zu 54,76% den Untersuchungszeitraum überlebt. Hier haben bei 6 von 17 Tieren Tumoren der Mamma zum Tode geführt, allerdings sind 10 Hündinnen nicht seziert worden.

Tabelle 48: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Menge der lymphozytären Infiltrate bei n= 84 Gesäugeveränderungen

Follow-Up-Status	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	nicht auswertbar
Kategorie 0	-	1	-	2	-
Kategorie 1	-	3	28	23	1
Kategorie 2	-	-	3	6	-
Kategorie 3	-	-	2	1	-
Kategorie 4	-	-	4	10	-
n=84	-	4	37	42	1

0: fehlend, 1: gering, 2: mäßig, 3: auffallend/ausgeprägt

### 3.2.7.3.1.6.2. Follow-Up-Status und Gruppeneinteilung

Bei der Einteilung in Verteilungsmuster-Gruppen ist ebenfalls ein Zusammenhang mit der Überlebensrate angedeutet (Tabelle 49). Hündinnen mit einem Gruppe I-Verteilungsmuster haben zu 73,68% den Abschluß der Studie erreicht. Bei einem von vier Tieren konnten Tumoren der Mamma als Todesursache nachgewiesen werden. Bei den Tieren in Gruppe II haben 64,71% und bei denen der Gruppe III 68,00% das Ende des Untersuchungszeitraumes erreicht. In Gruppe II hat bei 7 von 12 Hündinnen die Tumorerkrankung der Mamma zum Tode geführt, in Gruppe III ist dies bei einer von sechs. Allerdings sind 4 Tiere nicht seziiert worden. Von den Hündinnen in Gruppe IV haben nur 20,00% den Beobachtungszeitraum überlebt.

Tabelle 49: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate bei n=84 Gesäugeveränderungen

Follow-Up-Status	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
Kategorie 0	1	-	2	-	-
Kategorie 1	14	22	17	1	1
Kategorie 2	1	7	1	-	-
Kategorie 3	1	1	1	-	-
Kategorie 4	2	4	4	4	-
n=84	19	34	25	5	1

Legende siehe Seite 86

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie

T: Tumor

### 3.2.7.3.1.6.3. Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und kombinierter Grad- und

#### Gruppeneinteilung

Aus Tabelle 50 (S. 87) ist ersichtlich, wie die Tiere mit ihren jeweiligen Graden innerhalb der Gruppen in das Follow-Up-Status-Schema eingeordnet sind. Die Zahlen stellen wieder die laufenden Nummern dar (Anhang, S. 152). Die verschiedenen Grade sind durch die unterschiedliche Schreibweise kenntlich gemacht.

In der Kategorie der Tiere, die den Abschluß der Studie erreicht haben, haben in Gruppe I 3 Hündinnen eine geringe und 11 eine mäßige Lymphozytenmenge, während in dieser Gruppe bei den toten Tieren keine geringen sondern ausschließlich mäßige Infiltrate auffallen.

In der Gruppe II verschiebt sich das Verhältnis weiter; so sind hier bei den Überlebenden 13 Tiere mit mäßigen und 9 mit ausgeprägten, bei den Toten 4 mit mäßigen und 8 mit ausgeprägten Immunzellmengen registriert.

Diese Tendenz setzt sich in Gruppe III fort. So sind hier in Kategorie 1 insgesamt 4 Hündinnen mit mäßigen und 13 mit ausgeprägten, in den Kategorien 2-4 nur ein Tier mit mäßigen, aber 5 mit ausgeprägten lymphozytären Infiltraten eingeordnet.

In Gruppe IV findet diese Tendenz ihren Abschluß. Hier hat nur ein Tier mit ausgeprägter Entzündung das Ende der Studie erreicht, während 4 mit ausgeprägten Immunzellmengen als tot registriert sind.

Tabelle 50: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Menge sowie Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate unter Berücksichtigung der laufenden Nummer bei n=84 Tieren

Follow-Up-Status	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
Kategorie 0	<i>19,</i>	-	<b>5, 56,</b>	-	-
Kategorie 1	<i>1, 9, 11, 13, 16, 20, 21, 27, 32, 48, 51, 54, 64, 66,</i>	<b>4, 7, 10, 15, 18, 22, 23, 26, 28, 33, 34, 36, 44, 55, 61, 71, 73, 75, 76, 80, 81, 83,</b>	<b>12, 17, 29, 30, 38, 42, 50, 52, 53, 57, 59, 62, 67, 72, 74, 82, 84,</b>	<b>8,</b>	46
Kategorie 2	<i>41,</i>	<b>3, 45, 47, 63, 68, 78, 79,</b>	<b>69,</b>	-	-
Kategorie 3	<i>37,</i>	<i>39,</i>	<b>58,</b>	-	-
Kategorie 4	<i>2, 49,</i>	<b>24, 31, 43, 77,</b>	<b>25, 40, 60, 65,</b>	<b>6, 14, 35, 70,</b>	-
n=84	19	34	25	5	1

Die Zahlen entsprechen den Nummern der Tiere (siehe Anhang, S. 152)

*kursive Zahlen:* Grad 1 (gering)

unterstrichene Zahlen: Grad 2 (mäßig)

**fette Zahlen:** Grad 3 (auffallend/ausgeprägt)

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie

T: Tumor



### 3.2.7.3.1.7. Follow-Up-Status und Punkte

Aus Tabelle 51 ist zu erkennen, daß mit steigender Punktzahl die Überlebensrate deutlich abnimmt. Aus der Gruppe mit den Punktebereichen 1-4 und 5-9 ist ein Tier getötet worden. Allerdings ist hier zu vermerken, daß der Besitzer verstorben ist, wobei häufig niemand weiterhin für das Tier verantwortlich sein möchte. Aus dem Punktebereich 10-19 haben 16 (94,12%), aus dem Bereich 20-29 haben 28 (68,29%) und aus dem Bereich 30-39 haben 5 (38,46%) Hündinnen den Beobachtungszeitraum überlebt. Beide Tiere aus dem Punktebereich 40-49 sind aufgrund ihrer Mammatumoren tot. Bei den mit 0 Punkten bewerteten Hündinnen hat ein Tier mit Mastitis und eines mit einem malignen Hämangioperizytom überlebt. Die anderen 4 Tiere dieses Punktebereiches mit den Diagnosen Lymphosarkom, Plattenepithelkarzinom, Basalzelltumor und Phlegmone haben das Ende der Studie nicht erreicht.

Tabelle 51: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Punkteverteilung

bei n=84 Hündinnen

Follow-Up-Status	Punkte						
	0	1-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49
Kategorie 0	-	-	-	-	2	1	-
Kategorie 1	2	3	1	16	28	5	-
Kategorie 2	2	-	-	-	3	2	2
Kategorie 3	-	-	-	1	1	1	-
Kategorie 4	2	1	-	-	7	4	-
n=84	6	4	1	17	41	13	2

### 3.2.7.3.1.8. Follow-Up-Status und Hauptdiagnose

Tabelle 52 (S. 89) gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Hauptdiagnosegruppe. Von 4 Hündinnen mit benignen Tumoren ist ein Tier vor Studienende eingeschlafert worden, weil der Besitzer verstorben ist. Bei den Karzinomen hat die Hälfte der Tiere den Beobachtungszeitraum überlebt. Die beiden Tiere mit den Myoepithelkarzinomen sowie das Tier mit dem malignen Misch tumor leben bei Abschluß der Studie noch. Die Adenokarzinome teilen sich auf in 45 (67,16%) lebende und 19 (28,36%) tote Hündinnen. Bei den Sonstigen sind 2 als lebend und 4 als tot registriert.

Tabelle 52: Zusammenhang zwischen Follow-Up-Status und Hauptdiagnose (HD)-gruppe bei n=84 Hündinnen

Follow-Up-Status	HD-Gruppe 1	HD-Gruppe 2	HD-Gruppe 3	HD-Gruppe 4	HD-Gruppe 5	HD-Gruppe 6	HD-Gruppe 7
Kategorie 0	-	-	-	-	3	-	-
Kategorie 1	1	2	2	2	45	1	2
Kategorie 2	-	-	1	-	6	-	2
Kategorie 3	-	-	-	-	3	-	-
Kategorie 4	-	1	1	-	10	-	2
n=84	1	3	4	2	67	1	6

### 3.2.8. Ergebnisse der Immunhistochemie-Vorversuche

#### 3.2.8.1. T-Lymphozyten-Subpopulation

Mit Mikrowellenbehandlung bei 600 W in 0,01 molarem Zitratpuffer (pH: 6,0) für 2 x 5 Min. zeigt sich eine spezifische, deutlich positive Markierung. Der Antikörper gegen das CD3-Antigen erreicht bei Einsatz in der APAAP-Methode sein Optimum bei einer Verdünnung von 1:100, bei Einsatz in der B-SA-Methode genügt eine Verdünnung von 1:700. Daher wird in dieser Arbeit zur Darstellung des CD3-Antigens die B-SA-Methode bevorzugt (Abb. 5, S. 92).

#### 3.2.8.2. B-Lymphozyten-Subpopulation

Die ersten Versuche werden mit den Immunglobulinen IgG und IgM unternommen. Diese beiden Antikörper führen jedoch nicht zu reproduzierbaren Ergebnissen, da bei den Färbedurchgängen abwechselnd positive, negative und unspezifische Reaktionen auftreten. Als nächstes wird der „ready to use“-Antikörper BLA.36, der gegen das auf B-Zellen lokalisierte CD20-Antigen gerichtet ist, eingesetzt. Da dieser Marker von der gleichen Firma wie der B-SA-Testkit hergestellt wird und an dieses System adaptiert ist, wird er auch nur in dieser Methode getestet. Er führt zwar auch ohne Vorbehandlung der Schnittpräparate zur Demaskierung der Antigene zu positiven Ergebnissen, allerdings mit stark störender Überfärbung des Hintergrundes in einem Großteil der Schnitte, einschließlich der Negativkontrollen. Auf diese starke unspezifische Färbung hat auch die Änderung der Inkubationszeiten, sowohl des Primärantikörpers als auch des Detektionssystems, keinen

Einfluß. Da aber in der vorliegenden Arbeit Lymphozyten semiquantitativ ausgewertet werden sollen, ist noch ein weiterer B-Zell-Marker versucht worden.

Der Antikörper gegen CD79a zeigt bei Einsatz in der APAAP-Methode trotz der niedrigen Verdünnung von 1:10 und unterschiedlicher Vorbehandlungsmethoden keine Markierung der B-Zell-Oberflächen-Antigene. Wegen der vom Hersteller des B-SA-Testkits propagierten hohen Sensitivität, wird mit dieser Methode ebenfalls ein Versuch gestartet. Hier zeigt sich schon bei den ersten Färbedurchgängen eine schwach spezifische Reaktion, die durch Austesten verschiedener Verdünnungsstufen und Vorbehandlungsmethoden entscheidend verbessert werden kann. Bei einer Mikrowellenbehandlung bei 600 W in 0,01 molarem Zitratpuffer (pH: 6,0) für 2 x 5 Min. und einer Verdünnung von 1:50 werden deutliche Signale auf den Lymphozyten erzeugt (SCHULDEN et al., 1998b). Daher wird sich in dieser Arbeit für den CD79a-Antikörper in der B-SA-Methode entschieden (Abb. 6, S. 92).

Da für das Etablieren des B-Zell-Markers zur leichteren Auffindbarkeit des gesuchten Antigens Lymphknoten verwendet werden, kommen nun in einem zweiten Schritt die Schnittpräparate der Mammatumoren zum Einsatz. Hier sind jedoch durch die hohe Sensitivität der B-SA-Methode unspezifische Färbungen zu beobachten. So reagiert die Flüssigkeit im sezernierenden und zystisch veränderten Mammagewebe schwach mit dem Substrat, ist aber durch die flächige Darstellung deutlich als unspezifisch abgrenzbar.

Ebenso sind in fast allen Präparaten, einschließlich der Negativkontrollen, Plasmazellen mit dargestellt, die sich aber durch ihre typische Form leicht von den Lymphozyten abgrenzen lassen.

### 3.2.8.3. Helfer-/Suppressorzellen (CD4/CD8)

Mit den in dieser Untersuchung verwendeten, gegen canine CD4- und CD8-Oberflächen-Antigene gerichteten monoklonalen Primärantikörpern der Firma Serotec können trotz Austestens verschiedener Verdünnungsstufen, Vorbehandlungsmethoden und dem alternativen Einsatz des Chromogens Neu-Fuchsin, sowohl in der APAAP- als auch in der B-SA-Methode, am Paraffinschnitt keine auswertbaren Ergebnisse erzielt werden.

Im gefrorenen Gewebe zeigt sich aufgrund der weitaus besser erhaltenen Antigenität eine deutliche Markierung, wobei jedoch auf den teilweisen Verlust morphologischer Strukturen hingewiesen werden muß, der eine exakte Auswertung dieser Schnittpräparate verhindert.

#### 3.2.8.4. Doppelmarkierung

Die erfolgreiche Doppelmarkierung der Lymphozyten-Subpopulationen in Lymphknotengewebeschnitten (Abb. 7, S. 92) mittels der beiden Chromogene Fast Red und Fast Blue (SCHULDEN et al., 1998b) läßt sich im neoplastisch veränderten Mammagewebe nicht nachvollziehen. Aufgrund der unterschiedlichen Gewebekomponenten entsteht ein derart „buntes Bild“, das eine Auswertung dieser Schnittpräparate verhinderte, sodaß stattdessen Serienschnitte zum Einsatz kommen.

### 3.2.8.5. Bildteil

#### *Bildteil zu den Ergebnissen der Vorversuche*

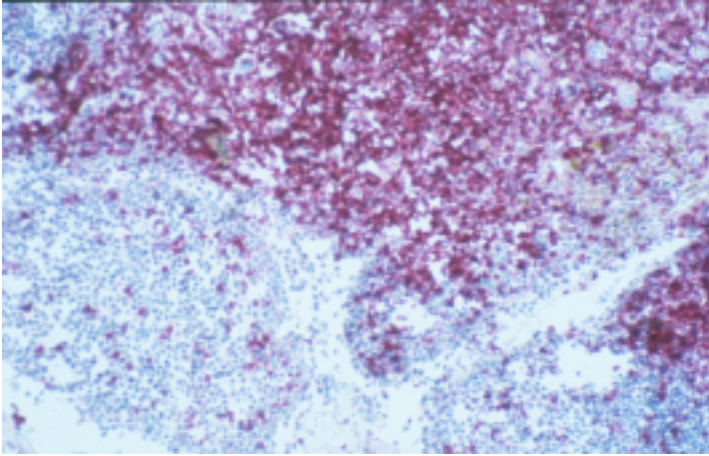


Abb. 5: Paraffineingebetteter Lymphknoten, immunhistochemische Identifizierung des CD3-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x

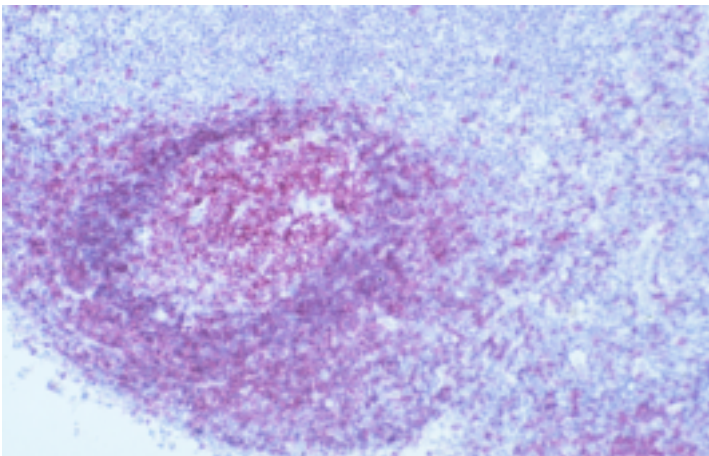


Abb. 6: Paraffineingebetteter Lymphknoten, immunhistochemische Identifizierung des CD79a-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x

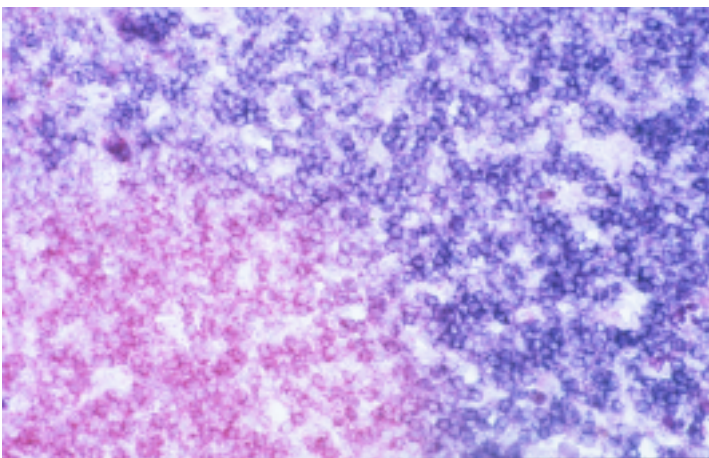


Abb. 7: Paraffineingebetteter Lymphknoten, immunhistochemische Identifizierung des CD79a-Antigens (Fast Red) und des CD3-Antigens (Fast Blue) in der Doppelmarkierung, B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Methylgrün, 400x

### 3.2.9. Ergebnisse der Immunhistochemie-Hauptversuche

#### 3.2.9.1. Auswertung der Stufe 2

Die 115 Gesäugeveränderungen mit dem histopathologisch ermittelten höchsten Malignitätsgrad werden zur T/B-Zell-Identifikation nach dem in den Vorversuchen erarbeiteten und für jeden Antikörper optimierten Schema gefärbt.

Die Signale bei der T- und B-Lymphozyten-Markierung stellen sich bei verschiedenen Einsendungsnummern mit unterschiedlicher Intensität dar, sind jedoch in jedem Fall eindeutig semiquantitativ auswertbar.

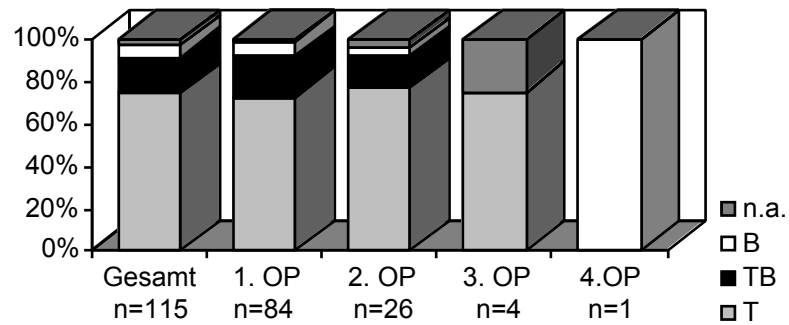
Durch das abwechselnde Durchmustern der jeweils CD3 und CD79a gefärbten Schnitte werden die Gesäugeveränderungen je nach Überwiegen des roten Signals nach Tabelle 19 (S. 48) den Ergebnismöglichkeiten zugeordnet und mit der Kurzbezeichnung registriert (Abb. 8-10, S. 95-97).

Insgesamt haben 85 (73,91%) Gesäugeveränderungen ein Überwiegen der T-Lymphozyten und 7 (6,07%) ein Überwiegen der B-Zell-Komponente. Bei 20 (17,39%) Veränderungen des Gesäuges liegt ein ausgeglichenes T/B-Zell-Verhältnis vor. Drei (2,61%) der Proben (Mastitiden, Zysten, Hyperplasien) sind nicht ausgewertet worden. Graphik 10 (S. 94) zeigt die Gesamtverteilung und die Verteilung der T/B-Relation auf die Erst- und Nachfolgeoperationen.

Bei der Erstoperation zeigen 61 (72,62%) Gesäugeveränderungen ein Überwiegen der T-Lymphozyten, 6 (7,14%) ein Überwiegen der B-Lymphozyten und 16 (19,05%) ein ausgeglichenes Verhältnis. In 20 (76,92%) Veränderungen der Zweitoperation sind überwiegend T-Immunzellen, in 4 (15,39%) überwiegend B-Immunzellen und in einer Probe ist das Verhältnis ausgeglichen.

Bei der dritten Operation zeigen 3 (75,00%) Gesäugeveränderungen ein Überwiegen der T-Zell-Komponente, bei der vierten Operation zeigt die einzelne Probe überwiegend B-Zellen. Jeweils eine Veränderung der ersten bis dritten Operation wurde nicht ausgewertet.

Graphik 10: Prozentuale Verteilung der T/B-Relation der Erst- und Nachfolgeoperationen  
bei n=115 Gesäugeveränderungen



n.a.: nicht auswertbar

B: überwiegend B-Zellen

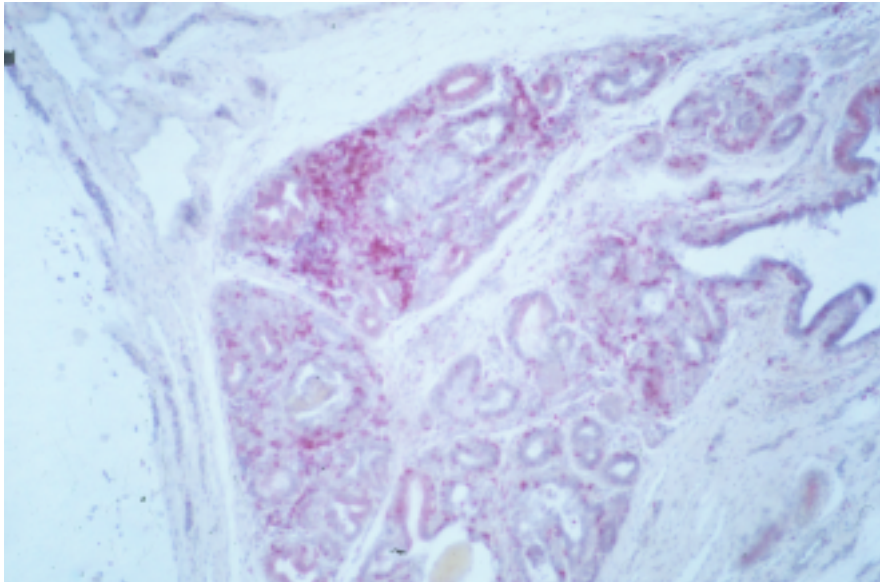
TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

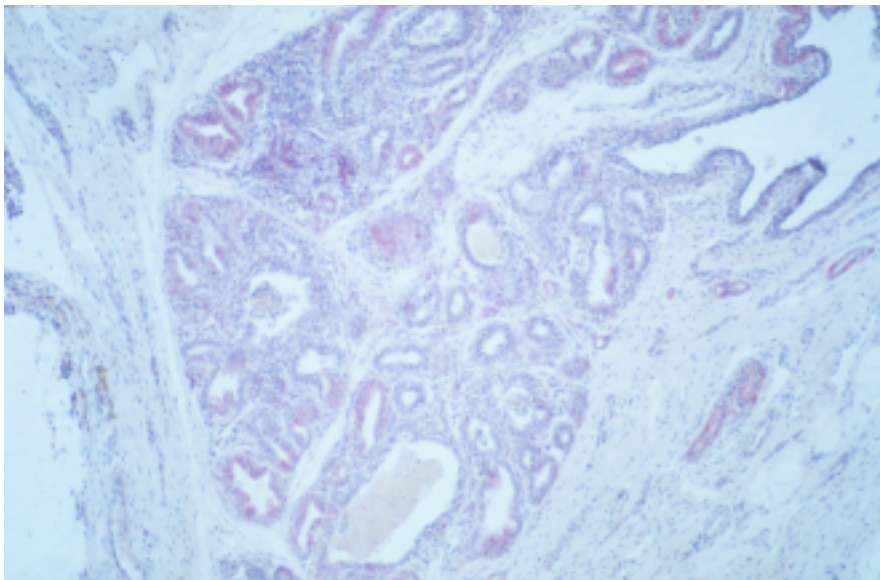
### 3.2.9.2. Bildteil

#### *Bildteil zu den Ergebnissen der Hauptversuche*

Abb. 8a-b: Kurzbezeichnung **T** (überwiegend T-Zellen)



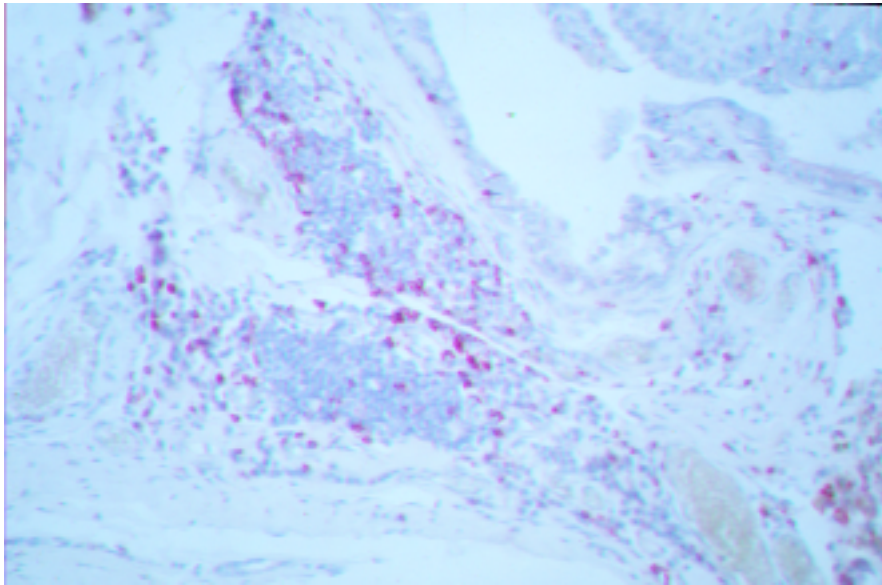
a: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD3-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 100x



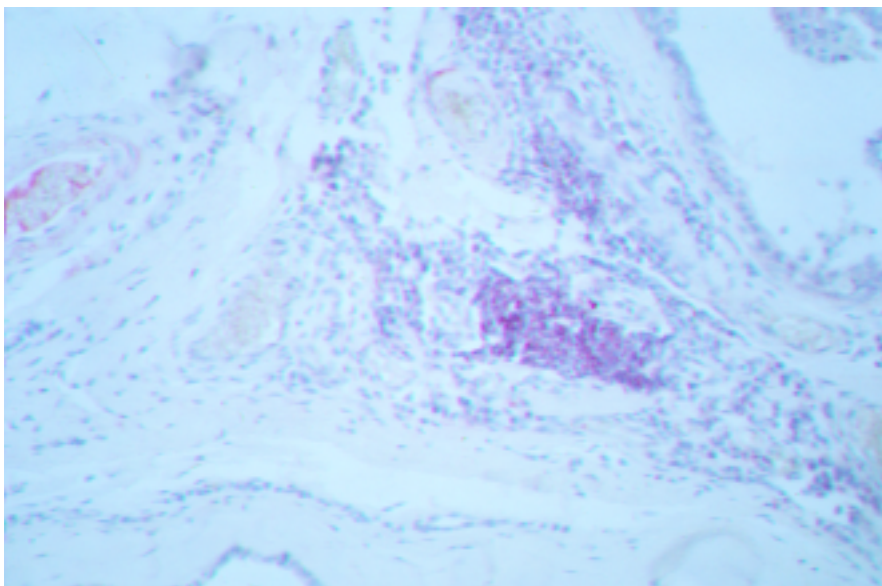
b: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD79a-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 100x



Abb. 9a-b: Kurzbezeichnung **TB** (ausgeglichenes Verhältnis)

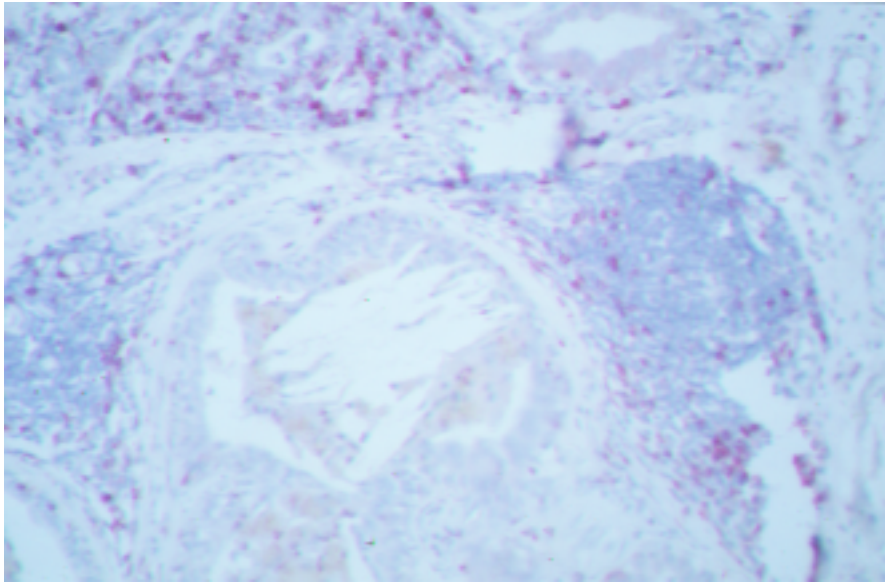


a: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD3-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x

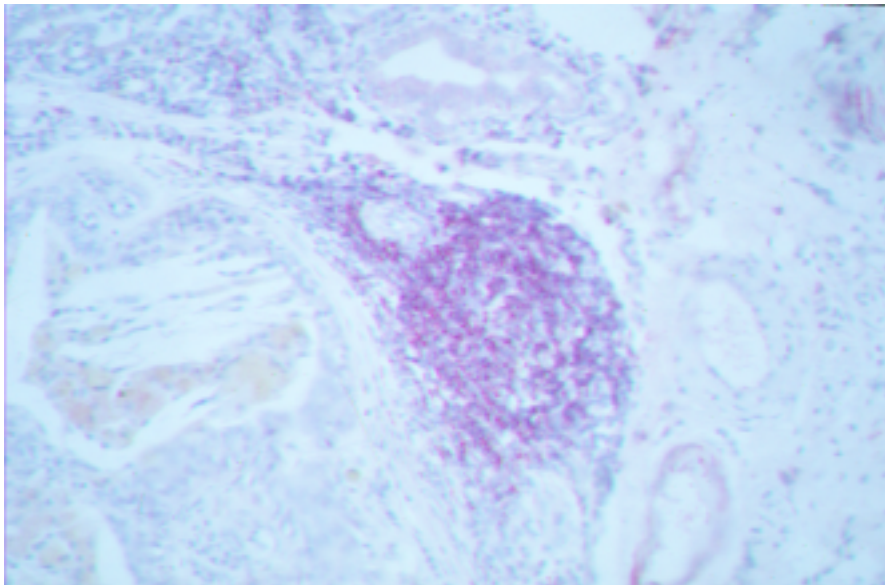


b: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD79a-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x

Abb. 10a-b: Kurzbezeichnung **B** (überwiegend B-Zellen)



a: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD3-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x



b: Paraffineingebettetes Mammagewebe, immunhistochemische Identifizierung des CD79a-Antigens (Fast Red), B-SA-Methode, Kerngegenfärbung Hämalaun, 200x

### 3.2.9.3. Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Identifikation und weiteren Parametern

#### 3.2.9.3.1. T/B-Zell-Identifikation und Rasse

Bei den Deutschen Schäferhunden haben 2 von 6, bei den Dackeln 3 von 15, bei den Terriern 3 von 13, bei den Mischlingen 8 von 26 und bei den übrigen 5 von 17 Tieren einen relativ hohen Anteil an B-Lymphozyten im Tumor und dessen Peripherie (Tabelle 53). Die 3 Cocker-Spaniel weisen alle überwiegend T-Lymphozyten auf.

Tabelle 53: T/B-Zell-Identifikation und Rasse bei n=84 Tieren

T/B-Relation	Pudel	DSH	Dackel	C.-Sp.	Terrier	Mix	Übrige
T	3	4	12	3	9	18	12
TB	1	1	2	-	3	6	3
B	-	1	1	-	-	2	2
n.a.	-	-	-	-	1	-	-
n=84	4	6	15	3	13	26	17

DSH: Deutscher Schäferhund, C.-Sp.: Cocker Spaniel

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

#### 3.2.9.3.2. T/B-Zell-Identifikation und Alter

Die Tiere, die überwiegend B-Lymphozyten im Tumor und dessen Peripherie aufweisen, sind im Durchschnitt eineinhalb Jahre älter als die Tiere, die überwiegend T-Lymphozyten, bzw. ein ausgeglichenes T/B-Zell-Verhältnis zeigen (Tabelle 54, S. 99).

Tabelle 54: Durchschnittsalter innerhalb der Immunzell-Subpopulationen bei n=84 Tieren

T/B-Relation	Mittelwert Alter	(s)	n=84
T	9,40	0,06	61
TB	9,63	0,06	16
B	11,01	0,75	6
n.a.	6	1,76	1

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

### 3.2.9.3.3. T/B-Zell-Identifikation und Geschlecht

Bei den Hündinnen, die ihrer hormonellen Stimulation durch eine Kastration bzw. Ovariohysterektomie entzogen sind, weisen 8 (40,00%) einen relativ hohen Anteil an B-Lymphozyten auf, während dies bei den unkastrierten, bzw. intakten Tieren 12 (19,36%) sind (Tabelle 55).

Tabelle 55: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Geschlechtsstatus

bei n=84 Hündinnen

T/B-Relation	kastriert / ovariohysterektomiert	unkastriert / intakt	Geschlechtsstatus unbekannt
T	12	49	-
TB	6	8	2
B	2	4	-
n.a.	-	1	-
n=84	20	62	2

Legende siehe Seite 100

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

#### 3.2.9.3.4. T/B-Zell-Identifikation und betroffene Gesäugeleiste

Die Tiere, bei denen der Tumor mit der höchsten Malignitätsstufe der Erstoperation in der rechten Gesäugeleiste lokalisiert ist, weisen zu 21,43% einen relativ hohen Anteil an B-Lymphozyten auf, während dies bei denen der linken Seite 30,77% sind (Tabelle 56).

Tabelle 56: T/B-Zell-Relation und Lokalisation des Tumors mit der höchsten Malignitätsstufe bei der Erstoperation bei n=84 Tieren

T/B-Relation	rechts	links	unbekannt
T	33	26	2
TB	6	9	1
B	3	3	-
n.a.	-	1	-
n=84	42	39	3

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

### 3.2.9.3.5. T/B-Zell-Identifikation und makroskopische Probengröße

Tabelle 57 gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Größe des bösartigsten Tumors des jeweiligen Operationsexzidates.

In der Gruppe der mikroskopisch kleinen Tumoren liegt bei 10,00%, in der Gruppe der kleinen Tumoren bei 19,05% eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten vor. In den Gruppen der mittelgroßen und großen Tumoren liegt jeweils bei 28,57% dieses Phänomen vor, wobei in Gruppe 3 nur eine Veränderung eine überwiegende Anzahl an B-Lymphozyten aufweist, während sich dies in Gruppe 4 auf insgesamt 3 steigert. In der Gruppe der sehr großen Tumoren sind dann immerhin schon 62,50% der Gesäugeveränderungen durch relativ große B-Lymphozytenmengen auffällig.

Tabelle 57: Zusammenhang zwischen T/B-Relation und Größe der Probe bei n=115

#### Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5	nicht meßbar
T	18	34	15	15	3	-
TB	1	7	5	3	4	-
B	1	1	1	3	1	-
n.a.	-	-	-	-	-	3
n=115	20	42	21	21	8	3

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

### 3.2.9.3.6. T/B-Zell-Identifikation und Punkte

Aus Tabelle 58 (S. 102) ist ersichtlich, daß bei den gutartigen Tumoren 20,00% überwiegend B-Lymphozyten zeigen, wobei hier jedoch die geringe Fallzahl zu berücksichtigen ist. Der maligne Tumor mit der auffällig geringen Punktzahl weist ausschließlich T-Lymphozyten auf.

Bei den Tumoren mit 10-19 Punkten haben 4,35%, bei denen mit 20-29 Punkten 22,22% und bei denen mit 30-39 Punkten 52,38% lymphozytäre Infiltrate mit auffallend vielen B-Immunezellen. Die Tumoren, die zwischen 40 und 49 Punkte aufweisen, zeigen wieder ausschließlich T-Zellen.

Tabelle 58: T/B-Zell-Relation und Punkteverteilung bei n=115 Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	Punkte						
	0	1-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49
T	3	4	1	22	42	10	3
TB	1	-	-	1	9	9	-
B	1	1	-	-	3	2	-
nicht auswertbar	3	-	-	-	-	-	-
n=115	8	5	1	23	54	21	3

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

### 3.2.9.3.7. T/B-Zell-Identifikation und Hauptdiagnose

Bei den ansonsten T-Zell-dominierten gutartigen Tumoren ist ein Adenom auffällig, welches überwiegend B-Zellen zeigt (Tabelle 59, S. 103). Bei den Karzinomen weisen 45,46% eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten auf. In allen Myoepithelkarzinomen zeigen sich Immunezell-Infiltrate mit überwiegender T-Zell-Komponente. Bei den Adenokarzinomen haben 20,69% eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten. Der maligne Misch tumor hat ein ausgeglichenes T/B-Zell-Verhältnis. Die drei sonstigen Veränderungen mit einem Überwiegen der T-Zellen sind das maligne Hämangioperizytom, das Lymphosarkom und die Phlegmone. Der Basalzelltumor hat ein ausgeglichenes T/B-Zell-Verhältnis, während in dem Plattenepithelkarzinom die B-Zell-Komponente dominiert. Die drei nicht auswertbaren Veränderungen sind zwei Mastitiden, eine mit sowie eine ohne Zystenbildung, und eine Hyperplasie.

Tabelle 59: T/B-Zell-Relation und Hauptdiagnose bei n=115 Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	HD-Gruppe 1	HD-Gruppe 2	HD-Gruppe 3	HD-Gruppe 4	HD-Gruppe 5	HD-Gruppe 6	HD-Gruppe 7
T	1	3	6	3	69	-	3
TB	-	-	3	-	15	1	1
B	-	1	2	-	3	-	1
n.a.	-	-	-	-	-	-	3
n=115	1	4	11	3	87	-1	8

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar, HD-Gruppe: Hauptdiagnosegruppe

### 3.2.9.3.8. T/B-Zell-Identifikation und Gradeinteilung

Tabelle 60 gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen der T/B-Zell-Relation und der Menge der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Gesäugeveränderungen. In allen 10 Veränderungen mit einem geringen Grad an Immunzellen sind überwiegend T-Lymphozyten markiert, während sich in den Veränderungen mit einem mäßigen Grad bei 8,33% ein ausgeglichenes T/B-Zell-Verhältnis zeigt. Diese Tendenz setzt sich auch bei den Grad 3-Veränderungen fort. Hier weisen 42,59% eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten auf, wobei 12,96% von diesen ein Überwiegen der B-Zell-Komponente zeigen.

Tabelle 60: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Gradeinteilung bei n=115

#### Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3	nicht auswertbar
T	-	10	44	31	-
TB	-	-	4	16	-
B	-	-	-	7	-
n.a.	-	-	-	-	3
n=115	-	10	48	54	3

Legende siehe Seite 104



T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

0: fehlend, 1: gering, 2: mäßig, 3: auffallend/ausgeprägt

### 3.2.9.3.9. T/B-Zell-Identifikation und Gruppeneinteilung

Aus Tabelle 61 ist ersichtlich, daß zwischen der T/B-Zell-Relation und dem Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Gesäugeveränderungen ein Zusammenhang besteht.

In Gruppe I ist nur ein Tumor (3,57%) mit einem ausgeglichenen T/B-Zell-Verhältnis, während sich in Gruppe II diese Relation weiter in Richtung B-Zellen verschiebt. Hier zeigen 22,92% eine relativ hohe Anzahl an diesen Zellen. In Gruppe III setzt sich diese Tendenz weiter fort, hier weisen 41,94% hohe B-Immunezell-Mengen auf.

Tabelle 61: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Gruppeneinteilung bei n=115  
Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
T	27	37	18	3	-
TB	1	9	9	1	-
B	-	2	4	1	-
n.a.	-	-	-	-	3
n=115	28	48	31	5	3

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

### 3.2.9.3.10. Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Identifikation und kombinierter Grad- und

#### Gruppeneinteilung

Tabelle 62 informiert über den Zusammenhang zwischen der T/B-Zell-Relation und der relativen Menge der lymphozytären Infiltrate sowie dem Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate. Die Zahlen stellen wieder die laufenden Nummern der Tiere dar (Anhang, S. 152). Die verschiedenen Grade sind durch die unterschiedliche Schreibweise kenntlich gemacht. Im Gesamtüberblick ist zu erkennen, daß sich von Gruppe I bis Gruppe III mit Zunahme der herdförmigen Anordnung und Steigerung der Immunzellmenge, das Verhältnis in Richtung B-Lymphozyten verschiebt. In der Gruppe IV, in der sich die Lymphozyten nekrosebezogen anordnen, bzw. ein Lymphosarkom vorhanden ist, dominieren die T-Lymphozyten.

Tabelle 62: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Menge sowie Verteilungsmuster der lymphozytären Infiltrate bei n=115 Gesäugeveränderungen unter Berücksichtigung ihrer laufenden Nr. (Anhang, S. 152)

T/B-Relation	Gruppe I	Gruppe II	Gruppe III	Gruppe IV	nicht auswertbar
T	<u>1</u> , <u>1</u> <u>2</u> , <u>2</u> , <u>4</u> , <u>6</u> , <u>8</u> , <u>11</u> , <u>13</u> , <u>16</u> , <u>19</u> , <u>20</u> , <u>21</u> , <u>27</u> , <u>28</u> , <u>32</u> , <u>37</u> , <u>41</u> , <u>48</u> , <u>49</u> , <u>50</u> , <u>51</u> , <u>54</u> , <u>63</u> , <u>64</u> , <u>66</u> , <u>72</u> ,	<u>1</u> , <u>3</u> , <u>4</u> , <u>7</u> , <u>7</u> , <u>15</u> , <u>15</u> , <u>18</u> , <u>22</u> , <u>23</u> , <u>24</u> , <u>26</u> , <u>26</u> , <u>28</u> , <u>33</u> , <u>34</u> , <u>39</u> , <u>43</u> , <u>44</u> , <u>45</u> , <u>47</u> , <u>55</u> , <u>55</u> , <u>59</u> , <u>61</u> , <u>61</u> , <u>71</u> , <u>73</u> , <u>74</u> , <u>75</u> , <u>76</u> , <u>77</u> , <u>78</u> , <u>79</u> , <u>80</u> , <u>81</u> , <u>81</u> ,	<u>1</u> , <u>5</u> , <u>5</u> , <u>17</u> , <u>38</u> , <u>45</u> , <u>50</u> , <u>52</u> , <u>58</u> , <u>59</u> , <u>62</u> , <u>65</u> , <u>67</u> , <u>69</u> , <u>74</u> , <u>77</u> , <u>82</u> , <u>84</u> ,	<u>6</u> , <u>14</u> , <u>70</u> ,	-
TB	<u>9</u> ,	<u>4</u> , <u>10</u> , <u>18</u> , <u>31</u> , <u>33</u> , <u>36</u> , <u>42</u> , <u>63</u> , <u>83</u> ,	<u>12</u> , <u>21</u> , <u>29</u> , <u>30</u> , <u>40</u> , <u>42</u> , <u>53</u> , <u>57</u> , <u>60</u> ,	<u>8</u> ,	-
B	-	<u>45</u> , <u>68</u> ,	<u>3</u> , <u>25</u> , <u>56</u> , <u>72</u> ,	<u>35</u> ,	-
n.a.	-	-	-	-	<u>15</u> , <u>46</u> , <u>51</u> ,
n=115	28	48	31	5	3

Die Zahlen entsprechen den Nummern der Tiere (siehe Anhang, S. 152)

*kursive Zahlen*: Grad 1 (gering)

unterstrichene Zahlen: Grad 2 (mäßig)

**fette Zahlen**: Grad 3 (auffallend/ausgeprägt)

Gruppe I: diffus in K/TP und im T

Gruppe II: herdförmig in K/TP und diffus im T

Gruppe III: herdförmig in K/TP und im T

Gruppe IV: nekrosebezogene Anordnung

K/TP: Kapsel/Tumorperipherie, T: Tumor

### 3.2.9.3.11. T/B-Zell-Identifikation und Überlebensrate in Monaten

Tabelle 63 gibt eine Übersicht über die Überlebensrate in Monaten und die Zuordnung zur T/B-Zell-Relation. Nach Beurteilung der Tabellen 63 und 64 (S. 108) sowie der Graphik 11 (S. 108) scheinen Tiere mit einer relativen hohen Anzahl an B-Lymphozyten eine schlechtere Prognose und eine kürzere postoperative Überlebenszeit zu besitzen. So sind nach eineinhalb Jahren (0-18 Monaten) 8 von insgesamt 21 Hündinnen (38,10%) mit einer relativ hohen Anzahl an B-Immunezellen tot, von den 5 Tieren, die überwiegend B-Zellen zeigen, sind dies sogar 4 (80,00%). Nach 3 Jahren (19-36 Monaten) sind weitere 7 Hündinnen gestorben, die jedoch alle ein Überwiegen der T-Lymphozyten zeigen. Das einzelne Tier, daß nach 9 Jahren (108 Monaten) als tot registriert wurde, zeigt ebenfalls überwiegend die T-Zell-Komponente.

Tabelle 63: Übersicht über die Überlebensrate in Monaten und die Zuordnung zur T/B-Zell-Relation bei n=84 Gesäugeveränderungen

T/B-Relation	Überlebensrate in Monaten						
	0-18	19-36	37-54	55-72	73-90	91-108	n.b.
T	7 / 10	31 / 7	3 / -	-	-	- / 1	2
TB	1 / 4	9 / -	2 / -	-	-	-	-
B	1 / 4	-	-	-	-	-	-
n.a.	-	1 / -	-	-	-	-	1
n=84	9 / 18	41 / 7	5 / -	-	-	- / 1	3

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen, B: überwiegend B-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

n.b.: nicht bekannt

lebend / tot

### 3.2.9.3.12. T/B-Zell-Identifikation und Follow-Up-Status

Tabelle 64 (S. 108) gibt Auskunft über den Zusammenhang zwischen den Immunzell-Subpopulationen und dem Follow-Up-Status bei n=84 Tieren.

Bei den Hündinnen, die den Abschluß der Studie erreicht haben, liegt bei 13 von 55 Tieren (23,64%) eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten vor. Ein Tier (1,82%) zeigt hier ausschließlich eine Dominanz der B-Zell-Komponente. Bei den Hündinnen, die den Beobachtungszeitraum nicht überlebt haben, weisen 8 von 26 Tieren (30,77%) eine relativ hohe Anzahl an B-Lymphozyten auf, davon zeigen 4 (15,39%) Tiere ein Überwiegen der B-Zellen (Graphik 11, S. 108).

Diese Zahlen kehren sich bei den T-Lymphozyten um. Hier haben von den 55 Tieren, die den Beobachtungszeitraum überlebt haben, 74,55% ein Überwiegen der T-Zell-Komponente, während von den 26 Tieren, die den Abschluß der Studie nicht erreicht haben, 69,23% überwiegend T-Lymphozyten aufweisen.

Tabelle 64: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und Follow-Up-Status bei n=84

Hündinnen

T/B-Relation	Kat. 0	Kat. 1	Kat. 2	Kat. 3	Kat. 4
T	2	41	6	3	9
TB	-	12	1	-	3
B	1	1	2	-	2
n.a.	-	1	-	-	-
n=84	3	55	9	3	14

T/B-Relation: Relation der T-Zellen und B-Zellen

T: überwiegend T-Zellen

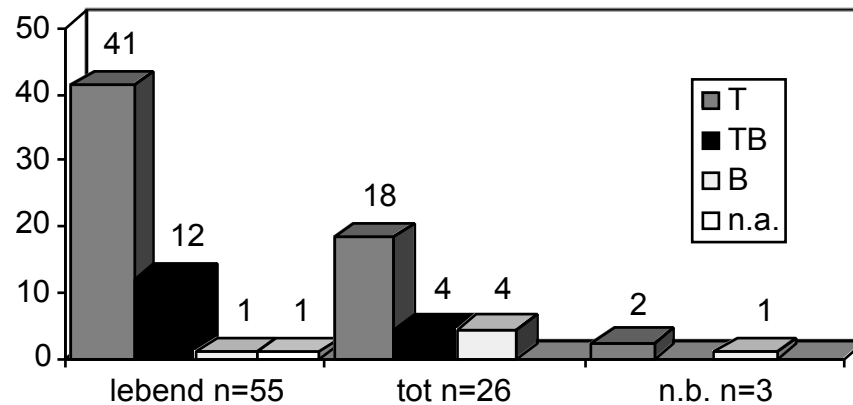
TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar

Graphik 11: Zusammenhang zwischen T/B-Zell-Relation und lebend/tot-Registrierung bei

n=84 Hündinnen



T: überwiegend T-Zellen

TB: ausgeglichenes Verhältnis der T- und B-Zellen

B: überwiegend B-Zellen

n.a.: nicht auswertbar, n.b.: nicht bekannt