

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Haut- und Schleimhautproben von 13 an Mycosis fungoides erkrankten Hunden histomorphologisch und immunhistochemisch untersucht. In drei Fällen wurde zusätzlich gewonnenes Lymphknotengewebe und in zwei Fällen Organmaterial in die Untersuchungen mit einbezogen. Als Vergleichsmaterial dienten Proben von acht hautgesunden Hunden, die zwei Altersgruppen zugeordnet wurden.

Für den Hund sind erst seit kurzer Zeit Antikörper gegen T-Zell-Antigene und Oberflächenstrukturen anderer Zelltypen erhältlich. Für viele dieser Antikörper sind Gefrierschnitte erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wurden an Paraffinschnitten bereits etablierte immunhistochemische Untersuchungen zum Nachweis des T-Zell-spezifischen CD3-Antigens, der Immunglobuline IgG, IgA, IgM und des Proliferationsantigens Ki-67 durchgeführt. Der an Kryostatmaterial vorläufig als Antikörper gegen das CD43-Antigen des Hundes charakterisierte DOG 19 wurde für Paraffinmaterial normaler Lymphknoten etabliert und anschließend ebenfalls bei den Mycosis-fungoides-Hautproben eingesetzt. Kryostatschnitte wurden zum Nachweis der T-Zell-Antigene CD4 und CD8 verwendet, da die Antikörper gegen diese Antigene am Paraffinmaterial nicht reagierten.

Die Stadieneinteilung der Mycosis-fungoides-Fälle in der vorliegenden Arbeit wurde anhand der histologischen Befunde vorgenommen. Im Vergleich mit den klinischen Vorberichten bzw. mit den bei der Sektion erhobenen makroskopischen Befunden ergab sich in einigen Fällen eine deutliche Diskrepanz. Histologisch als plaqueartig oder tumorös zu charakterisierende Läsionen wiesen makroskopisch zum Teil keine auf diese Veränderungen hinweisende Plaques oder Umfangsvermehrungen auf. Des weiteren wurde deutlich, daß beim Hund bereits in prämykoiden Veränderungen die für die Mycosis fungoides typischen histologischen Befunde wie ein ausgeprägter Epidermotropismus der Infiltratzellen, die Ausbildung Pautrierscher Mikroabszesse und das Auftreten zahlreicher Lutzner-Zellen vorliegen. Beim Menschen werden diese Veränderungen erst im Plaquestadium in dieser Form angetroffen. Analog zu den Beschreibungen für den Menschen zeigten die in der vorliegenden Arbeit untersuchten tumorösen Veränderungen einen nur geringgradigen Epidermotropismus. Die Tumorzellen wiesen in all diesen Fällen ein für den Hund beschriebenes histiozytäres Aussehen auf. In drei Tumorfällen traten zudem die auch für den Menschen beschriebenen Riesenzellen bzw. Zellriesen auf, die in einem Fall eine Größe von bis zu 55 µm aufwiesen.

Die Infiltratzellen der untersuchten kaninen Mycosis-fungoides-Fälle ließen sich mit dem CD3-Antikörper als T-Lymphozyten identifizieren. In den beiden Fällen, in denen Kryostatmaterial zur Verfügung stand, reagierten die intraepidermalen Infiltratzellen zudem hauptsächlich CD8-positiv, während die Mehrzahl der dermalen Zellen CD4-positiv war. Der Antikörper gegen

das CD43-Antigen führte in vier Fällen zu einem mit dem CD3-Antikörper vergleichbaren Ergebnis. In sieben Fällen wurden weniger Zellen markiert und in zwei Fällen reagierten die Infiltratzellen negativ. Dieses auch für andere Marker beschriebene Phänomen könnte auf eine Entdifferenzierung der proliferierenden Zellen hinweisen. Die Untersuchung im Hinblick auf das Proliferationsverhalten mit dem Antikörper MIB-1 (Ki-67) zeigte, daß im Gegensatz zu den Befunden beim Menschen sowohl dermale als auch epidermale Infiltratzellen in allen drei Stadien zu einem großen Teil positiv reagierten, also proliferationsaktiv waren. Immunglobulinablagerungen wurden in keinem der untersuchten Fälle nachgewiesen, so daß eine Fehldiagnose in Richtung auf autoimmune Hauterkrankungen auszuschließen ist.

Die in zwei Fällen nachgewiesenen Lymphknotenveränderungen waren durch eine Verbreiterung der parakortikalen Zone, durch das Auftreten atypischer lymphoider Zellen, durch eine deutliche bis massive Vermehrung der interdigitierenden Retikulumzellen und durch eine Histiozytose im Randsinus gekennzeichnet. Ähnliche Befunde sind für den Menschen beschrieben. Insgesamt zeigt sich, daß die kanine Mycosis fungoides neben vielen Parallelen auch deutliche Unterschiede zur humanen Variante der Erkrankung aufweist. Weiterführende immunhistochemische und molekularbiologische Untersuchungen sind nötig, um eine genauere Charakterisierung der proliferierenden Zellen und der pathogenetischen Vorgänge der kaninen Mycosis fungoides zu erzielen.

6. Summary

Ulrike Katharina Marquart:

Immunohistochemical study of canine mycosis fungoides (epidermotropic lymphosarcoma)

In this study biopsy and autopsy samples of skin and mucous membranes from 13 dogs with mycosis fungoides were examined applying both histological and immunohistological methods. Additional examinations of lymph node tissue (three cases) and different organs (two cases) were carried out. Biopsies from eight dogs of two age groups without evidence of skin disease were studied for comparison.

It is just a short time, that antibodies against canine T-cell antigens are available and most of these react with frozen tissues only. In this study the antibodies used against CD3, IgA, IgG, IgM and Ki-67 had already been established for paraffin embedded tissues. The new monoclonal antibody Dog 19, which was preliminarily classified to react with the canine CD43 in frozen tissues, was established with paraffin embedded lymph node tissue and was then applied to skin samples from dogs with mycosis fungoides. For the detection of the T-cell antigens CD4 and CD8 frozen tissue was used.

Some of the results of the histopathologic staging in this study revealed obvious discrepancy to the clinical findings. Some cases with histologically plaque-like or tumor-like lesions macroscopically showed no plaques or tumors, which would be typical for these stages in the human disease. Furthermore, it became evident, that the premycotic lesions in the dog are already characterized by a distinct epidermotropism of the infiltrating cells, Pautrier microabscesses and numerous Lutzner cells. In the human disease these typical changes just appear in plaque lesions. As in humans the canine tumor-like lesions revealed only slight epidermotropism. The morphology of the tumor cells was histiocytic. In three of these cases giant cells and megalocytes appeared, which are also described in human tumor cases.

The infiltrating cells of the studied canine Mycosis fungoides cases were identified as T-lymphocytes by a positive reaction with the antibody against CD3. Cases with frozen tissue available showed CD8-positivity of most of the intraepidermal cells, whereas most of the dermal cells reacted with the antibody against CD4. In four cases the results with the antibody against canine CD43 were comparable to the CD3 reaction. Less cells were detected in seven cases and in two cases the infiltrating cells were CD43 negative. This phenomenon has been described for other markers as well and may be due to the loss of differentiation antigens of these cells. The examination of the proliferation rate by the use of the antibody MIB-1 (Ki-67)

revealed, that numerous dermal and epidermal cells showed a positive reaction and thus were obviously proliferating. This is contrary to the results in human cases of mycosis fungoides. Intraepidermal deposits of immunoglobulins were not detected in any of the examined cases, thus ruling out a misdiagnosis of autoimmune skin diseases.

The structural changes of the lymph nodes in two cases were characterized by a broadened paracortex, the presence of atypical lymphoid cells, an obvious to massive increase of the interdigitating cells and histiocytosis in the marginal sinuses. Comparable findings were described in human cases of mycosis fungoides.

It is concluded that canine mycosis fungoides shows parallels, but also obvious differences to the human counterpart of the disease. Additional immunohistochemical and molecular biological examinations are necessary to arrive at a more specific characterization of the proliferating cells and of the pathogenetic processes in canine mycosis fungoides.