

## 5 Zusammenfassung

Für die malignen Lymphome des Menschen existieren seit langem anerkannte Klassifikationschemata. Die Aussagekraft der Einteilung von kaninen Lymphomen nach humanmedizinischen Kriterien ist aufgrund unzureichender Daten und eingeschränkter immunhistologischer Nachweise noch unzureichend geklärt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Möglichkeiten einer immunhistologischen Zelltypisierung am formalinfixierten Routinematerial zu überprüfen und weitere Informationen über das Wachstumsverhalten neoplastischer Lymphozyten des Hundes zu erarbeiten. Zusätzlich sollte eine Methode zum Nachweis der Apoptosefraktion etabliert und eine mögliche Eignung als diagnostischer Parameter geprüft werden.

1. Insgesamt 76 formalinfixierte und paraffineingebettete maligne Lymphome des Hundes wurden den Entitäten der aktualisierten Kiel-Klassifikation zugeordnet. Als Kontrollen dienten sowohl Lymphknoten und Milzen von klinisch gesunden Hunden als auch hyperplastische Lymphknoten.

2. Mit den sechs verwendbaren Antikörpern war eine immunhistologische Differenzierung in T- und B-Zell-Abstammung bei über 95% der Tumoren sicher möglich. Eine weitere Subklassifizierung mit spezifischen Markern für einzelne Entitäten oder Lymphozytensubpopulationen ist am Paraffinmaterial des Hundes zur Zeit nicht möglich. Die überwiegende Mehrzahl (72,4%) der kaninen malignen Lymphome stammten nach den eigenen Untersuchungen von den B-Zellen ab. Die meisten Lymphome beider Zell-Reihen (81,5% der B-Zell-Lymphome und 95,2% der T-Zell-Lymphome) müssen aufgrund des morphologischen Zellbildes den hochmalignen Entitäten zugeordnet werden.

3. Die immunhistologische Darstellung des proliferationsassoziierten Antigens Ki-67 korreliert auch bei den Lymphomen des Hundes sehr eng mit den morphologisch definierten Malignitätsgraden der aktualisierten Kiel-Klassifikation. Die Grenze zwischen niedrig- und hochmalignen kaninen Lymphomen liegt bei etwa 32,5% proliferierender Tumorzellen.

4. Eine Erfassung der Apoptosefraktion in paraffineingebetteten Lymphomen ist beim Hund mit der TUNEL-Methode möglich. Hochsignifikante Unterschiede der Indizes fanden sich dabei zwischen niedrig- und hochmalignen Lymphomen. Hyper-

plastisches Gewebe zeigt gegenüber unveränderten Lymphknoten signifikant niedrigere Werte.

5. Zwischen der Proliferations- und Apoptosefraktion konnte eine Trend zur linearen Korrelation für die B-Zell-Lymphome des Hundes nachgewiesen werden. Die Errechnung eines Quotienten aus Proliferation und Apoptose (P/A-Index) zeigt deutliche höhere Wachstumspotenzen bei den Lymphomen gegenüber von Hyperplasien und unveränderten Kontrollgeweben.

6. Eine „follow-up“-Auswertung der Fälle zur Korrelation der einzelnen Entitäten mit dem biologischem Verhalten der Tumoren war aufgrund der begrenzten Fallzahlen und hoher Euthanasieraten nach der Diagnosestellung nur sehr eingeschränkt möglich.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, daß neben der Proliferation auch die Apoptose für die Wachstumspotenz von hyperplastischen und neoplastischen lymphatischen Geweben des Hundes von erheblicher Bedeutung ist. Die Proliferations- und die Apoptosefraktion können als Parameter am formalinfixierten und paraffin- eingebetteten Material bestimmt werden und stehen so für Verlaufskontrollen insbesondere bei chemotherapeutischen Studien zur Verfügung.

## Summary

Stefan Müller (1998)

### **Immunohistological examinations in canine malignant lymphomas - Classification of cells and assessment of proliferation and apoptotic fractions**

Well accepted classification schemes exist for lymphomas in humans. Due to lack of data and limited immunohistological tests it has not been thoroughly investigated whether this classification scheme is also valid for lymphomas in dogs. Therefore, the aim of the present study is to examine further possibilities of cell standardization using formalin-fixed tissue material and obtain further information about the growth behaviour of neoplastic lymphocytes. Examinations of the apoptotic fraction were carried out in an attempt to establish whether it could be used as a useful diagnostic parameter.

1. The updated Kiel classification was applied to 76 formalin-fixed and paraffin-wax embedded malignant lymphomas of dogs. Tissue from lymph nodes and spleens of healthy dogs as well as preparations from hyperplastic lymph nodes served as controls.

2. Using six antibodies it was possible in more than 95% of cases to differentiate between the origins of T- and B-cells. At the moment a more detailed sub-classification is not possible with paraffin-wax embedded material from dogs. In the present study 72,4% of canine malignant lymphomas are derived from B-cells. The vast majority of B- (81,5%) and T-cell-lymphomas (95,2%) are able to be identified as highly malignant from their morphology alone.

3. The immunohistological results, using the proliferation associated Ki-67 antigen, in lymphomas of dogs correlated very well with the degrees of malignancy as judged by morphology, of the updated Kiel classification. The dividing line between high and low malignancy is the presence, or absence, of more than 32,5% of proliferating tumor cells.

The TUNEL-method was successfully used to estimate the apoptotic fraction in paraffin-wax embedded canine lymphomas. Highly significant differences can be obtained from high and low malignancy lymphomas. Furthermore, hyperplastic

tissues shows significantly lower levels of this fraction compared with normal lymph nodes.

5. In B-cell lymphomas of dogs there is a trend towards linear correlation between proliferative and apoptotic fraction. Remarkably higher values are shown between lymphomas in opposite to hyperplastic and normal lymph node tissue in calculating the quotient of proliferation and apoptosis (P/A-Index).

6. A "follow-up" analysis to look for a correlation between a histologic category, and the biological behaviour of a tumour, was not possible due to the high rate of euthanasia after diagnosis.

To assess the proliferative activity of hyperplastic and neoplastic lymphatic tissue, measuring apoptosis in addition to determination of growth fraction is of paramount importance, as documented by this study. It is noteworthy that the proliferative and the apoptotic fraction can be measured in formalin-fixed and paraffin-wax embedded material. Therefore, these parameters can be utilized for further retrospective studies and especially in the control of chemotherapy.