

7 ZUSAMMENFASSUNG

Die Durchflußzytometrie hat sich in der Humanmedizin in den letzten Jahren zu einer Routinemethode entwickelt. Verbreitete Anwendungsbereiche sind neben der Lymphozytenimmunphänotypisierung immunologische Leukämie- und Lymphomdifferenzierung. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die relativen Werte der Lymphozytensubpopulationen im Blut gesunder Hunde zu bestimmen, auf alters-, rasse- oder geschlechtsbedingte Schwankungen zu prüfen und mit den relativen Werten im Blut an malignem Lymphom erkrankter Hunde zu vergleichen. Außerdem sollten Informationen über die relativen Werte der Leukozytensubpopulationen im Knochenmark gesunder Hunde erarbeitet und die Möglichkeiten der Durchflußzytometrie zur immunologischen Klassifizierung und Charakterisierung maligner Lymphome und Leukämien überprüft werden.

Für die Untersuchung standen 23 klinisch gesunde (13 Deutsche Schäferhunde und 9 Golden Retriever, 1 Beagle), 5 leukämiekranke und 32 an malignem Lymphom erkrankte Hunde zur Verfügung. Durchschnittlich 76% (Minimum 59%, Maximum 89%) der Lymphozyten im Blut der gesunden Hunde waren CD3cy+CD79acy- (T-Lymphozyten), 13% (Minimum 4%, Maximum 29%) CD3cy-CD79acy+ (B-Lymphozyten), 41% (Minimum 31%, Maximum 54%) caCD4+caCD8- und 23% (Minimum 10%, Maximum 35%) caCD4-caCD8+. Der durchschnittliche CD4/CD8 Quotient betrug 1,8 (Minimum 1, Maximum 4,2). Bestehende Unterschiede zwischen den relativen Werten der Lymphozytensubpopulationen und des CD4/CD8 Quotienten zwischen Hunden unterschiedlichen Alters, Geschlecht oder Rasse waren statistisch nicht signifikant (dreifaktorielle Varianzanalyse).

Ein Vergleich der relativen Werte der Lymphozytensubpopulationen im Blut gesunder und an malignem Lymphom erkrankter Hunde erbrachte statistisch signifikante (Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben) Unterschiede der relativen Werte der CD3cy-CD79acy+ und caCD4+caCD8- Zellen sowie des CD4/CD8 Quotienten.

Alle 32 Lymphome konnten immunologisch klassifiziert werden. 22 Lymphome (69%) wurden aufgrund ihres CD3cy-CD79acy+ Immunphänotyps als B-Zell-Lymphome und 10 (31%) als T-Zell-Lymphome charakterisiert. Bei 6 von 13 untersuchten Hunden konnten Lymphomzellen im Knochenmark nachgewiesen werden.

Drei der vier untersuchten chronischen Leukämien wurden der T-Zelllinie und eine der B-Zelllinie zugeordnet. Die akute Leukämie erwies sich als CD14-positiv und wurde als akute Monozytenleukämie klassifiziert.

Die Durchflußzytometrie ermöglicht eine schnelle, multiparametrische und quantitative Zellanalyse. Die Untersuchungsergebnisse liegen innerhalb weniger Stunden vor. Trotz der begrenzten Zahl verfügbarer Antikörper bietet sie die Möglichkeit, die Lymphom- und Leukämieklassifizierung beim Hund zu verbessern und das Wissen über Immunsystemstörungen beim Hund zu erweitern.

8 SUMMARY

Katja Culmsee (2000)

Flow cytometric analysis of bone marrow and blood from healthy and leukaemic dogs

Flow cytometry has become a routine method in human medicine in the last years. Popular applications are immunophenotyping of blood lymphocytes as well as immunophenotypic analysis of malignant lymphoma and leukaemia. The aim of the study presented here was to determine relative values of various subsets of lymphocytes in peripheral blood from healthy dogs and to compare these values with those of dogs with malignant lymphoma. Flow cytometric analysis of bone marrow from healthy dogs was carried out in an attempt to obtain information about normal ranges of leukocyte subsets in the bone marrow of healthy dogs. Moreover, the possibilities of flow cytometric analysis for the immunophenotypic characterisation of canine malignant lymphoma and leukaemia were explored

22 healthy dogs (13 Golden Retrievers, 9 German shepherds, 1 beagle), 32 dogs with multicentric lymphoma and 5 leukaemic dogs were available for the examination. 76% (minimum 59%, maximum 89%) of the lymphocytes in the blood of healthy dogs were CD3 positive (T-lymphocytes), 13% (minimum 4%, maximum 29%) CD79a positive (B-lymphocytes), 41% (minimum 31%, maximum 54%) CD4 positive and 23 % (minimum 10%, maximum 35%) CD8 positive. The CD4/CD8 ratio was 1,8 (minimum 1, maximum 4,2). The differences between the relative values between dogs of various ages, sexes or breeds (German shepherd versus Golden Retriever) were not statistically significant (multivariate analysis). Dogs with malignant lymphoma had a lower percentage of caCD4 positive lymphocytes (36%) as well as B-lymphocytes (2%) and a lower CD4/CD8 ratio (1,1) as healthy dogs.

All examined lymphomas could immunologically be classified. 22 (69%) of the lymphomas were found to be B-cell-lymphomas and 10 (31%) were characterized as T-cell-lymphoma. In the bone marrow from 6 / 13 dogs lymphoma cells could be detected by flow cytometry.

Three of the four chronic lymphatic leukaemias were allocated to the T-lymphatic cell line and one to the B-lymphatic cell line. The acute leukaemia was CD14 positive and was characterized as monocytic leukaemia.

Flow cytometry allows for rapid, multiparametric and quantitative cell analysis. Results are available within few hours. In spite of the limited number of available antibodies, flow cytometric analysis may be used to improve the classification of leukaemias and malignant lymphomas and to broaden your knowledge about immunodeficiency disease in dogs.