

## Die Bedeutung der Zytologie für den Nachweis von Knochentumoren bei Hund und Katze

C. Stockhaus<sup>1</sup>, H. A. Schoon<sup>2</sup>, S. Scharvogel<sup>1</sup>, E. Teske<sup>3</sup>

Aus der <sup>1</sup>Klinik für Kleintiere (Direktor: Prof. Dr. G. Oechtering), dem <sup>2</sup>Institut für Veterinär-Pathologie (Direktor: Prof. Dr. H. A. Schoon) der Universität Leipzig und dem <sup>3</sup>Department of Clinical Sciences of Companion Animals, University of Utrecht, Niederlande

### Schlüsselwörter:

Knochentumoren – Osteosarkom – Feinnadelaspirationsbiopsie – Zytologie

### Key words:

Bone tumors – Osteosarcoma – Fine needle aspiration biopsy – Cytology

### Zusammenfassung:

In einer prospektiven Untersuchung (1/2001–4/2002) wurde der Wert der Zytologie für die klinische Diagnostik von Knochentumoren bei Hund und Katze überprüft. Bei 31 Hunden und zwei Katzen mit klinischen und radiologischen Hinweisen auf eine Knochenneoplasie wurden eine Feinnadelaspirationsbiopsie und eine zytologische Untersuchung von Knochengewebe durchgeführt. Die Punktion erfolgte ohne Sedation oder Lokalanästhesie mit einer 20-Gauge-Einmalkanüle (0,9 × 40mm) und einer 5- oder 10-ml-Plastikspritze. Bei allen Patienten wurde die zytologische Diagnose durch eine histologische Untersuchung überprüft. Die histologische Untersuchung ergab bei 29 Tieren eine maligne Neoplasie: Osteosarkom (n = 23), undifferenziertes Sarkom (n = 2), maligne Histiozytose (n = 2), Liposarkom (n = 1) und Adenokarzinommetastase (n = 1). Bei vier Patienten wurden nichtneoplastische Knochenveränderungen festgestellt: reparative Knochenveränderungen (n = 3) und Osteomyelitis (n = 1). Bei keinem Tier waren im Zusammenhang mit der Feinnadelaspirationsbiopsie Komplikationen oder deutliche Schmerzreaktionen feststellbar. Bei 8/33 Patienten konnte mit einer Feinnadelaspirationsbiopsie kein auswertbares Zellmaterial gewonnen werden, sodass eine zytologische Untersuchung zunächst nicht möglich war. Eine zytologische Untersuchung von Abklatschpräparaten einer offenen Knochenbiopsie war bei vier dieser acht Tiere durchführbar. Bei 4/33 Tieren gelang es mit der zytologischen Untersuchung nicht, die Dignität der Knochenprozesse zu beurteilen. Mehr als drei Viertel der Patienten, bei denen nicht auswertbare zytologische Präparate vorlagen, wiesen röntgenologische Hinweise auf eine ausgeprägte Sklerosierung des Knochens im Bereich der Läsion auf. Mithilfe der Zytologie konnte bei 24/25 Patienten mit auswertbaren zytologischen Präparaten eine korrekte Diagnose bezüglich der Dignität gestellt werden, während bei einem Hund mit reparativen Knochenveränderungen fälschlicherweise ein Sarkom diagnostiziert wurde. Bei 5/25 Tieren war es mithilfe der Zytologie lediglich möglich, die Dignität korrekt zu beurteilen, während die Bestimmung der Tumorart nicht gelang.

### Summary:

#### The value of cytology in the diagnosis of bone tumors in small animals

In a prospective study (1/2001-4/2002) the application of cytology for the diagnosis of bone tumors in the dog and cat was evaluated. We performed fine needle aspiration biopsies and cytological examinations of bone lesions in 31 dogs and two cats with clinical and radiological evidence of bone neoplasia. Fine needle aspiration biopsies were taken without local or general anaesthesia using a 20 gauge (0.9 × 40 mm) cannula and a 5- or 10 ml-syringe. In every patient cytological results were controlled by histological examination of surgical bone biopsies. In 29 animals histological examination revealed malignant neoplasia including osteosarcoma (n = 23), undifferentiated sarcoma (n = 2), malignant histiocytosis (n = 2), liposarcoma (n = 1), and adenocarcinoma-metastasis (n = 1). In four animals histology revealed benign bone lesions including reparative lesions (n = 3) and osteomyelitis (n = 1). Complications or patient discomfort associated with fine needle biopsies were not detected. In 8/33 patients cytological examination was for the moment not possible due to poor cellularity or quality of the slides. In four of these eight animals cytological examination was possible with touch imprint slides performed on open incisional biopsies. In 4/33 patients evaluation of malignancy was not possible based on cytological examination. In most cases sclerosis of tumor tissue was attributable for poor cellularity or quality of cytological slides. In 24/25 patients with conclusive biopsies cytology identified correctly malignancy of the bone lesion whereas in one patient a false positive diagnosis of sarcoma was made based on cytology. In 5/25 patients diagnosis of malignancy was correct but identification of the tumor-type was not possible based on cytological examination.



**Abb. 1** Röntgenbild eines zehnjährigen Rottweilers mit Osteosarkom in der distalen Radiusmetaphyse. Ausgeprägte sklerosierende und osteolytische Veränderungen.

## Einleitung

Die Zytologie spielt in der Human- und Tiermedizin bei der Diagnostik von entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen verschiedener Organe eine große Rolle. Vorteile dieser Untersuchungsmethode sind die geringe Invasivität der Materialgewinnung und die Möglichkeit einer schnellen Befunderhebung. Als Nachteile gelten vor allem eine fehlende Beurteilbarkeit der Gewebearchitektur und der geringe Probenumfang (25).

In der Humanmedizin wurde die Diagnostik von primären und sekundären Knochentumoren mithilfe der zytologischen Untersuchung von Feinnadelaspirationsbiopsien (FNAB) erstmalig 1930 durch Martin und Ellis (18) beschrieben und hat mittlerweile eine große Bedeutung erlangt (8). Während mit der Zyto-

logie die Beurteilung der Dignität von Knochentumoren häufig mit großer Sicherheit gelingt (1, 3, 4, 8, 11, 13, 23, 24), sind die Zuordnung der Histogenese und die Subtypisierung des Tumors problematisch (8, 9, 13). Dieses wird teilweise durch das geringe Probenvolumen von FNAB des Knochens verursacht, insbesondere bei sklerosierenden Tumoren oder solchen mit intakter Kortikalis. Aufgrund des in einzelnen Studien hohen Anteils an nicht auswertbaren Präparaten empfehlen einige Autoren den Einsatz von histologischen Biopsieentnahmetechniken sowie offenen chirurgischen Knochenbiopsien (2). Nachteile dieser Untersuchungstechniken sind häufiger auftretende Komplikationen, höhere Kosten sowie die Notwendigkeit einer Anästhesie (8, 17). Vergleichbare tiermedizinische Arbeiten, die die Praktikabilität und diagnostische Sicherheit der Zytologie für den Nachweis von Knochentumoren untersuchten, liegen nicht vor.

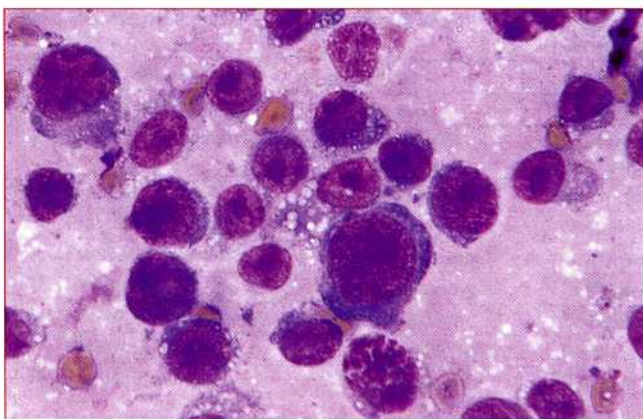
## Material und Methoden

### Patienten

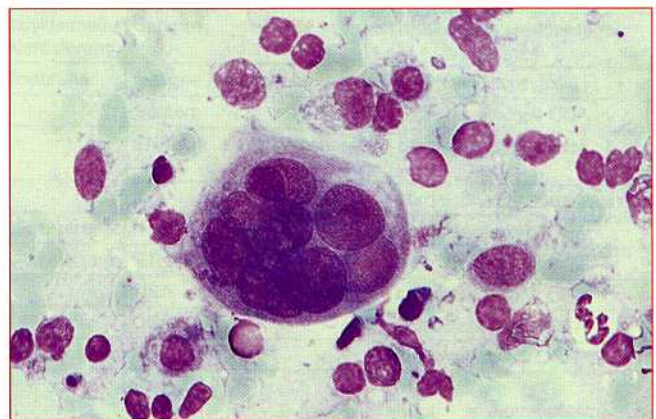
In einer prospektiven Untersuchung (1/2001–4/2002) an der Klinik für Kleintiere der Universität Leipzig wurden die klinische Praktikabilität und Zuverlässigkeit der FNAB-Zytologie für den Nachweis von Knochentumoren bei Kleintieren überprüft. Bei 33 Tieren (31 Hunden und zwei Katzen) (Tab. 1) wurden eine FNAB und teilweise eine intraoperative Untersuchung von zytologischen Abklatschpräparaten bei röntgenologisch knochentumorverdächtigen Veränderungen (Abb. 1) durchgeführt.

### Durchführung der Feinnadelaspirationsbiopsie

Die FNAB erfolgte durch einen Tierarzt, der bezüglich klinischer und radiologischer Befunde der Patienten vollständig informiert war. Die Tiere erhielten keine Sedation oder Lokalanästhesie. Für die Probengewinnung wurden eine 20-Gauge-Einmalkanüle (0,9 × 40 mm) und eine 5- oder 10-ml-Plastikspritze verwendet. Bei der Aspiration mit einem Unterdruck von zunächst 2–5 ml wurde die Kanüle etwa zwei bis fünf Sekunden lang mehrfach in unterschiedlichen



**Abb. 2** Zytologisches Bild eines osteoblastischen Osteosarkoms. Pleomorphe Osteoblasten mit verklumptem Chromatin und prominenten Nukleoli (May-Grünwald-Giemsa-Färbung, Vergrößerung 1000×).



**Abb. 3** Zytologisches Bild einer mehrkernigen Riesenzelle eines osteoklastischen Osteosarkoms. Kerne mit unterschiedlichem Durchmesser sowie sehr prominenten Nukleoli (May-Grünwald-Giemsa-Färbung, 630×).

Richtungen im Knochen bewegt. Punktionsorte waren jeweils Stellen mit deutlichen röntgenologischen Hinweisen auf eine Osteolyse, wobei die Punktion in diesen Bereichen mindestens viermal an verschiedenen Lokalisationen erfolgte. Das Material wurde auf einen Objektträger aufgebracht und mit der Kanülenspitze dünn-schichtig verteilt. Nach vollständiger Lufttrocknung wurden die Präparate mit einer hämatologischen Schnellfärbemethode (Haemacolor®, Firma Lehmann, Berlin) gefärbt und von einem Untersucher, der über die klinischen und radiologischen Befunde informiert war, lichtmikroskopisch untersucht. Bei der Aspiration von Präparaten mit ungenügender Zellularität wurde die FNAB sofort wiederholt. In diesem Fall wurde teilweise mit einem Unterdruck von mehr als 5 ml und für fünf bis 15 Sekunden punktiert. Wenn auch die Wiederholungspunktion zu keiner konkreten Aussage führte, erfolgte eine offene chirurgische Knochenbiopsie für eine histologische Untersuchung sowie

eine zytologische Untersuchung von Abklatschpräparaten. Für die Abklatschpräparate wurde die Oberfläche eines Knochengewebestücks zunächst mit Zellstoff betupft, um das auf der Geweboberfläche befindliche Blut zu entfernen. Danach wurden verschiedene Stellen des Gewebestücks mit leichtem Druck vorsichtig auf einen Objektträger gedrückt. Das Zellmaterial wurde durch Lufttrocknung fixiert und gefärbt.

### Beurteilung der Präparate

Für die zytologische Diagnose eines Osteosarkoms (Abb. 2, 3) wurden folgende Diagnosekriterien von Mahaffey (16) modifiziert verwendet: hohe Zellularität von Osteoblasten mit Anisokaryose, Makronuklei, -nukleoli, Anisonukleo-

**Tab. 1** Klinische und radiologische Daten sowie pathologische Ergebnisse bei 33 Patienten mit klinischen und röntgenologischen Hinweisen auf eine Knochenneoplasie. OSA = Osteosarkom, n. a. = nicht auswertbar, FNAB = Feinnadelaspirationsbiopsie, MP = mesenchymale Proliferation, w. = weiblich, m. = männlich, J. = Jahre, med. = medial.

	Signalement	Lokalisation	Röntgen	Zytologie	Histologie
1	Rottweiler, 10 J., w.	Humerus proximal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches und fibroblastisches OSA
2	Collie, 10 J., m.	Humerus proximal	Osteolyse	Sarkom	osteoblastisches OSA
3	Rottweiler, 7 J., m.	Ulna diaphysär	Osteolyse	n. a.	osteoblastisches OSA
4	Dtsch. Schäferhund, 5 J., m.	Tibia distal	Osteolyse	Karzinometastase	Liposarkom
5	Dtsch. Schäferhund, 7 J., m.	Tibia distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
6	Bernhardiner, 9 J., m.	Skapula	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
7	Am. Schäferhund, 8 J., m.	Femur distal	Osteolyse	OSA	fibroblastisches OSA
8	Russischer Terrier, 6 J., w.	Radius distal	Osteolyse + Sklerosierung	n. a.	osteoblastisches OSA
9	Boxer, 1 J., w.	Humerus distal	Sklerosierung	benigne Proliferation	Calcinosis circumscripta
10	Rottweiler, 10 J., m.	Radius distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
11	Landseer, 4 J., m.	Tibia distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
12	Dtsch. Dogge, 5 J., m.	Radius distal	Osteolyse	FNAB: n. a., Abklatsch OSA	osteoblastisches OSA
13	Rottweiler, 10 J., m.	Humerus distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
14	Bobtail, 9 J., w.	Skapula	Sklerosierung + Osteolyse	Sarkom	osteoblastisches OSA
15	Leonberger, 9 J., w.	Radius distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
16	Labrador, 4 J., w.	Femurkopf	Sklerosierung + Osteolyse	MP	reparative benigne Veränderungen
17	Rottweiler, 6 J., m.	Radius distal	Sklerosierung + Osteolyse	FNAB: n. a., Abklatsch: OSA	osteoblastisches OSA
18	Dtsch. Dogge, 6 J., m.	Radius distal	Sklerosierung + Osteolyse	FNAB: n. a., Abklatsch: OSA	osteoblastisches OSA
19	Riesenschnauzer, 6 J., m.	Radius distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
20	Mischling, 4 J., m.	Humerus distal	Fraktur des Condylus med., Osteolyse + Sklerosierung	Sarkom	reparative Veränderungen
21	Berner Sennenhund, 6 J., w.	Ellenbogen	periostale Veränderung	maligne Histiozytose	maligne Histiozytose
22	Irischer Wolfshund, 5 J., m.	Tibia distal	Osteolyse	Sarkom	osteoblastisches OSA
23	Europäisch Kurzhaar, 9 J., m.	Ulna diaphysär	Sklerosierung + ggr. Osteolyse	FNAB: n. a., Abklatsch: MP	osteoblastisches OSA
24	Mischling, 7 J., m.	Radius diaphysär	Sklerosierung	n. a.	chronische Osteomyelitis
25	Europäisch Kurzhaar 5 J., m.	Ileum	Osteolyse + Sklerosierung	n. a.	osteoblastisches OSA
26	Flat Coated Retriever, 5 J., w.	Humerus proximal	Osteolyse + Sklerosierung	MP	Sarkom
27	Greyhound, 7 J., m.	Femur metaphysär	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
28	Berner Sennenhund, 3 J., m.	Fibula proximal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA
29	Mischling, 9 J., w.	Humerus diaphysär	Fraktur, ggr. Sklerosierung	MP	fibroblastisches OSA
30	Akita Inu, 5 J., w.	Femur diaphysär	Osteolyse	Sarkom	hochmaligne Adenokarzinometastase
31	Mischling, 5 J., w.	Wirbelkörper extradural	Osteolyse	Sarkom	undifferenziertes Sarkom
32	Rottweiler, 9 J., m.	Ellenbogen	periostaler Weichteilprozess + Sklerosierung	maligne Histiozytose	maligne Histiozytose
33	Bernhardiner, 5 J., w.	Tibia distal	Osteolyse	OSA	osteoblastisches OSA

