

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

C. Stockhaus¹, H. A. Schoon², S. Scharvogel¹, E. Teske³

Aus der ¹Klinik für Kleintiere (Direktor: Prof. Dr. G. Oechtering), dem ²Institut für Veterinär-Pathologie (Direktor: Prof. Dr. H. A. Schoon) der Universität Leipzig und dem ³Department 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 Histiocytose (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

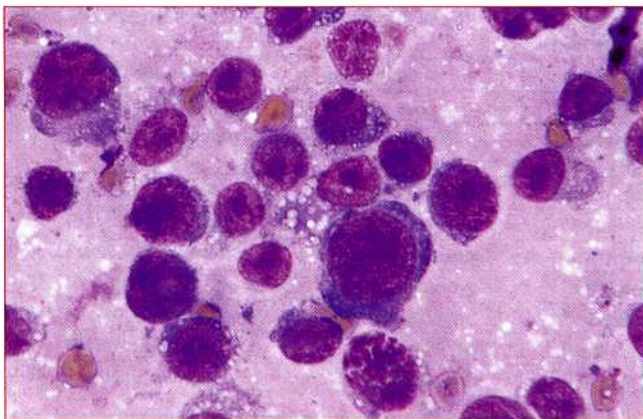


Abb. 2 Zytologisches Bild eines osteoblastischen Osteosarkoms. Pleomorphe Osteoblasten mit verklumptem Chromatin und prominenten Nukleoli (May-Grünwald-Giemsa-Färbung, Vergrößerung 1000×).

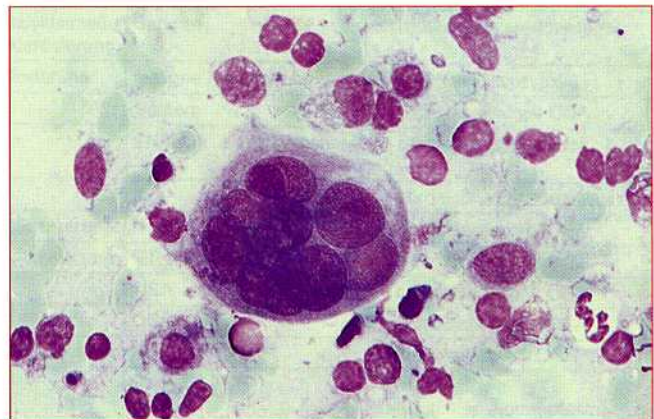


Abb. 3 Zytologisches Bild einer mehrkernigen Riesenzelle eines osteoklastischen Osteosarkoms. Kerne mit unterschiedlichem Durchmesser sowie sehr prominenten Nukleoli (May-Grünwald-Giemsa-Färbung, 630×).

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

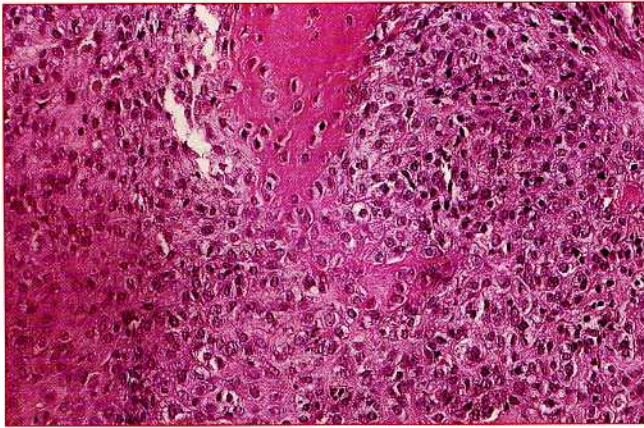


Abb. 4 Histologisches Bild eines osteoblastischen Osteosarkoms. Proliferation pleomorpher, mäßig zytoplasmareicher mesenchymaler Tumorzellen (Osteoblasten) mit deutlichen Nukleoli, arealweise osteoide Grundsubstanz bildend (HE-Färbung, Vergrößerung 62,5 \times).

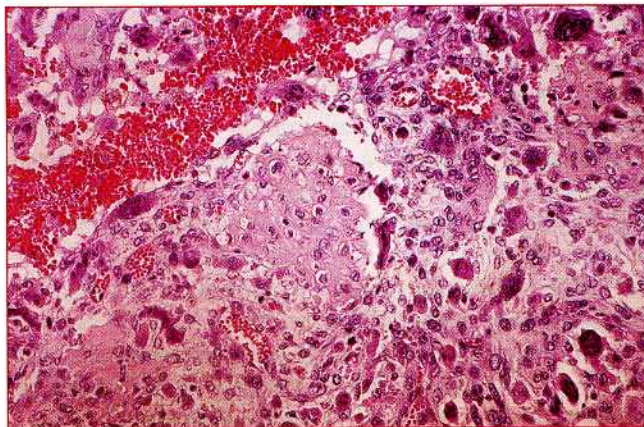


Abb. 5 Histologisches Präparat eines osteoklastischen Osteosarkoms. Proliferation einer hochgradig pleomorphen mesenchymalen Tumorzellpopulation mit zahlreichen mehrkernigen Riesenzellen (Osteoklasten), daneben maligne Osteoblasten, die geringe Mengen einer osteoiden Grundsubstanz produzieren, vollständige Destruktion der Knochenstruktur und multiple Blutungen (HE-Färbung, Vergrößerung 62,5 \times).

se, Chromatinverklumpung, atypische Mitosen, eventuell Vorhandensein von eosinophilem extrazellulärem Osteoid und geringer Anteil von Entzündungszellen (<30%) sowie gegebenenfalls weitere Kernmalignitätskriterien. Bei Vorliegen von nichtpleomorphen, gut differenzierten Osteoblasten und eventuell erhöhter Anzahl an Entzündungszellen im Präparat wurde die Diagnose einer benignen Proliferation gestellt. Eine weitere zytologische Differenzierung dieser Prozesse erfolgte nicht. Die Diagnose einer mesenchymalen Proliferation mit unklarer Dignität wurde gestellt, wenn im Präparat überwiegend Osteoblasten mit geringgradiger Ausbildung von Malignitätskriterien und/oder eine höhere Anzahl von Entzündungszellen gefunden wurden, sodass nicht eindeutig die Diagnose eines malignen Tumors gestellt werden konnte.

Histologische Kontrolluntersuchung

Die Proben für die Histologie wurden in 4%igem neutralen Formalin fixiert und, nach Überprüfung ihrer Schneidbarkeit, entweder direkt oder nach 24- bis

36-stündiger Entkalkung (Ossa Fixona, Fa. Waldeck GmbH) nach Standardmethoden in Paraplast eingebettet. Die Beurteilung erfolgte an 3–4 μ m dicken HE-gefärbten Schnitten. In Zweifelsfällen gelangten am nicht entkalkten Gewebematerial differenzierende immunhistologische Verfahren (Intermediärfilamentnachweise mittels PAP-Technik) zur Anwendung. Die histologischen Präparate wurden durch einen Pathologen begutachtet.

Auswertung

Für die Beurteilung der Korrektheit zytologischer Diagnosen wurde die histologische Untersuchung als »Goldstandard« verwendet. Hierbei wurde sowohl die zytologische Beurteilung der Dignität als auch der Histogenese überprüft.

Ergebnisse

Bei den Hunden (n = 31) handelte es sich um Tiere mit einer Körpermasse von mindestens 20 Kilogramm. Ihr Durchschnittsalter betrug 6,6 Jahre (Bereich: 1–10 Jahre), während die zwei Katzen mit Knochentumoren 9 und 14 Jahre alt waren.

Die histologische Untersuchung (Tab. 1) ergab bei 29 Tieren den Befund eines malignen Tumors: Osteosarkom (Abb. 4, 5) (n = 23), nicht differenzierbares Sarkom (n = 2), maligne Histiozytose (n = 2), Liposarkom (n = 1) und Adenokarzinometastase (n = 1). Vier Tiere hatten nichtneoplastische Knochenveränderungen: reparative Knochenveränderungen (n = 3) und Osteomyelitis (n = 1).

Bei keinem Patienten zeigten sich Komplikationen oder ausgeprägte Schmerzreaktionen im Zusammenhang mit der Punktion. Bei 8/33 Patienten konnte mit einer FNAB kein auswertbares Zellmaterial gewonnen werden, sodass bei ihnen zunächst keine zytologische Untersuchung durchführbar war. Bei vier dieser acht Tiere war eine zytologische Untersuchung von anschließend hergestellten Abklatschpräparaten einer offenen Knochenbiopsie auswertbar. Bei 4/33 Tieren ließ sich mithilfe der zytologischen Untersuchung die Dignität der Knochenprozesse nicht bestimmen (Diagnose: »mesenchymale Proliferation«). Mehr als drei Viertel der Patienten, bei denen nicht auswertbare zytologische Präparate vorlagen, zeigten röntgenologische Hinweise auf eine ausgeprägte Randsklerosierung des Knochens bzw. eine intakte Kortikalis im Bereich der Läsion.

Mithilfe der Zytologie konnten bei 24/25 Patienten mit auswertbaren zytologischen Präparaten korrekte Diagnosen bezüglich der Dignität gestellt werden, während bei einem Hund mit reparativen Knochenveränderungen fälschlicherweise ein Sarkom diagnostiziert wurde. Die zytologischen Präparate der restlichen Patienten (n = 8) erlaubten keine Beurteilung der Dignität. Bei den 25 auswertbaren zytologischen Präparaten wurde bei einem Patienten mit Adenokarzinometastase zytologisch der Verdacht auf ein Sarkom erhoben, bei einem Hund mit Liposarkom lautete die zytologische Verdachtsdiagnose Karzinometastase. Bei weiteren drei Hunden mit Osteosarkomen konnte zytologisch lediglich die Diagnose Sarkom gestellt werden, ohne dass eine Beurteilung der Sarkomform möglich war.

Diskussion

Knochentumoren kommen bei Hunden mit einem Anteil von 5–6% der bösartigen Neoplasien relativ häufig vor, während die Inzidenz bei Katzen deutlich geringer ist (10, 19). Es werden vor allem primäre Tumoren wie das Osteosarkom und deutlich seltener metastatische Neoplasien beobachtet (10, 15, 19). In unserer Arbeit stellten, analog zu den Beschreibungen in der veterinärmedizinischen Literatur, Osteosarkome im Bereich der Extremitäten den überwiegenden Anteil der primären Knochentumoren beim Hund dar, und es waren vor allem ältere Tiere mittelgroßer bis großer Rassen betroffen, während nur bei zwei Katzen ein Knochentumor festgestellt wurde (19).

Die klinischen und röntgenologischen Befunde führen sowohl bei Kleintieren als auch bei Menschen häufig zu einer konkreten Verdachtsdiagnose. Diese Befunde sind jedoch nicht beweisend für einen malignen Tumor, da auch nichtneoplastische oder benigne neoplastische Erkrankungen mit osteolytischen Veränderungen einhergehen können (2, 19). Da die Therapiemaßnahmen häufig ein hohes Maß an Invasivität aufweisen, sollte vor einer chirurgischen oder konservativen Behandlung immer eine zytologische oder histologische Tumordiagnose gestellt werden (8, 19). Das therapeutische Vorgehen bei primären und sekundären Knochentumoren des Menschen ist hinsichtlich des Einsatzes von invasiven oder nichtinvasiven Maßnahmen sehr variabel und stark von der Tumorart abhängig (8, 14). Wie beim Menschen wird es auch bei Kleintieren in Zukunft vermutlich vermehrt zum alternativen oder ergänzenden Einsatz nichtchirurgischer Therapiemaßnahmen wie Chemotherapie, Bestrahlung und Immuntherapie kommen (12, 15). Auch diese Methoden sind an eine gründliche Tumordiagnostik gebunden.

Die **Materialgewinnung** für weiterführende Untersuchungen kann durch eine FNAB für zytologische Untersuchungstechniken sowie durch Stanzbiopsien und die offene chirurgische Biopsie für die Histopathologie erfolgen. Vorteile der FNAB sind die geringe Invasivität der Materialgewinnung mit der Möglichkeit einer mehrfachen Wiederholung der Punktion, die geringen Kosten und die schnelle Diagnosestellung (5). Bei unseren Patienten konnten die geringe Invasivität und leichte Durchführbarkeit bestätigt werden, da bei keinem Tier eine Sedation notwendig war und Komplikationen oder ausgeprägte Schmerzreaktionen im Zusammenhang mit der Punktion nicht beobachtet wurden. Der Materialumfang bei einer FNAB ist jedoch so gering, dass damit keine histologische Untersuchung durchführbar ist. Stanzbiopsien eignen sich auch für eine histologische Untersuchung, können aber nur in Vollnarkose gewonnen werden und es besteht ein höheres Komplikationsrisiko als bei der FNAB (24). Die diagnostische Sicherheit bei der Untersuchung von Stanzbiopsien im Vergleich zu der FNAB wird kontrovers beurteilt (2, 22). Eine deutliche Steigerung der diagnostischen Sicherheit lässt sich durch die offene chirurgische Biopsie erzielen. Sie wird jedoch in der Human- und Veterinärmedizin kritisch betrachtet, da das Komplikationsrisiko und der Aufwand deutlich höher sind als bei geschlossenen Biopsieverfahren und eine erhebliche Ver-

zögerung einer Tumorthherapie, insbesondere bei nicht chirurgisch zu versorgenden Neoplasien, entstehen kann (8, 17, 19).

Die Akzeptanz der Zytologie für die Diagnostik bei Knochentumoren hängt in hohem Maße von der Häufigkeit inadäquater Biopate ab, die mit Werten zwischen 0% (13) und 33% (5) angegeben wird. In unserer Untersuchung betrug der Anteil nicht auswertbarer Präparate und die Häufigkeit von Präparaten, die keine eindeutige Aussage zur Dignität erlaubten (»mesenchymale Proliferation«), 24%.

Bei vier Patienten war der Materialumfang bei der FNAB zu gering, doch konnte intra operationem mittels zytologischer Untersuchung von Abklatschpräparaten eine Diagnose gestellt werden. Der Anteil nicht auswertbarer Präparate wird durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst. Einige Autoren betonen die Bedeutung der Durchführung einer FNAB durch den Zytologen sowie die adäquate Information des Zytologen mit klinischen und radiologischen Daten (8, 13). In unserer Untersuchung konnte vermutlich eine hohe Rate an auswertbaren Präparaten dadurch erzielt werden, dass der biop-tierende Tierarzt große Erfahrung mit der Durchführung von Knochenbiopsien hatte, in unmittelbarem Kontakt mit dem Zytologen stand und sofort bei unzureichenden Biopsien informiert wurde, sodass die Knochenpunktion wiederholt werden konnte.

Die **Punktionstechnik** scheint bei der FNAB-Zytologie von Knochenprozessen eine große Bedeutung zu besitzen (13). Layfield et al. (13) empfehlen die Verwendung von 0,6-mm-(22-Gauge-)Nadeln und einer 10-ml-Spritze. Dabei soll die Aspiration mit hohem Unterdruck in verschiedenen Richtungen erfolgen (13, 22). Vor allem bei stark vaskularisierten Tumoren ist ein zu lang bestehender und hoher Punktionsunterdruck problematisch, da die Präparate dadurch überwiegend Blut und kaum repräsentative Zellen enthalten, die möglicherweise durch die Punktion noch artefiziell verändert sind (2). Wir punktieren bei deutlich osteolytischen Tumoren in der Regel mit einem geringen Unterdruck und setzen nur bei Läsionen mit intakter Kortikalis oder ausgeprägter Sklerosierung einen höheren Unterdruck ein. Die Ausbeute an Zellmaterial lässt sich weiterhin erhöhen, wenn die FNAB mehrfach in unterschiedlichen Arealen wiederholt wird, wobei auch zentrale Tumorbereiche erfasst werden sollen (19). Analog zu den Beobachtungen in unserer Arbeit bestanden auch bei anderen Untersuchungen große Probleme bei Punktionen von Prozessen, die von einer intakten Kortikalis begrenzt wurden, oder bei Tumoren, die eine geringe Zellularität und einen hohen Anteil an kalzifiziertem Stroma sowie einen ausgeprägt sklerosierenden Charakter aufwiesen (6, 13, 20, 22). Darüber hinaus konnte bei der FNAB von benignen Knochenläsionen eine geringere Zellularität in zytologischen Präparaten beobachtet werden, was eventuell mit einer schwachen Zellexfoliationsneigung dieser Prozesse in Zusammenhang zu bringen ist (7). Auch die Verwendung großlumiger Nadeln mit einem Durchmesser von 1,25–2 mm scheint die Rate an auswertbaren Punktaten bei solchen Prozessen nicht wesentlich erhöhen zu können (21, 23). Einige Autoren betonen die zunehmende Bedeutung der fluoroskopischen oder computertomographisch

gesteuerten Knochenbiopsie, um die Ausbeute an diagnostisch repräsentativem Material zu steigern, was in unserer Studie jedoch keine Anwendung fand (2, 14).

Mithilfe der FNAB-Zytologie konnte bei 24/25 Patienten mit auswertbaren Präparaten eine **korrekte Diagnose** bezüglich der Dignität gestellt werden, während nur bei einem Tier eine falsche zytologische Dignitätsbeurteilung vorlag. Unsere Ergebnisse stimmen somit mit humanmedizinischen Arbeiten überein, bei denen hinsichtlich der Beurteilung der Dignität von Knochenprozessen häufig eine diagnostische Genauigkeit von über 90% erzielt wird (1, 3, 4, 8, 11, 13, 23, 24). Analog zu unserer Arbeit wurde auch in den genannten humanmedizinischen Studien der Untersucher zumeist über klinische und radiologische Befunde informiert, sodass eine isolierte Validierung der Zytologie als diagnostische Methode problematisch erscheint.

Im Gegensatz zur Beurteilung der Dignität ist die Genauigkeit der Zytologie bei der Zuordnung der Art des Knochentumors deutlich geringer. Problematisch ist vor allem die zytologische Differenzierung von Osteo-, Fibro- und Chondrosarkomen mit den verwendeten hämatologischen Färbungen (26). Auch die Subspezifizierung des Osteosarkomtyps, und hier vor allem die Differenzierung fibroblastischer und osteoblastischer Formen, lässt sich mithilfe der zytologischen Diagnostik nicht sicher durchführen. Darüber hinaus bestehen große Probleme beim Nachweis von gut differenzierten malignen oder benignen Knochentumoren sowie bei der sicheren Abgrenzung von entzündlichen und nichtentzündlichen, reparativen Knochenläsionen (8, 9). Diese Schwierigkeiten sind dadurch erklärbar, dass bei der zytologischen Diagnostik keine Architekturveränderungen erfasst werden (13). Vor allem bei zytologischen Proben, die unzureichende Mengen an Zellmaterial enthalten, sollte keine Tumordiagnose gestellt werden (8). In unserer Untersuchung konnte bei vier Patienten keine konkrete Aussage zur Dignität erfolgen, sodass die Diagnose »mesenchymale Proliferation« gestellt wurde. Um die Häufigkeit solcher Untersuchungsergebnisse ohne genaue Aussage zu reduzieren, müssen systematische zytologische Untersuchungen durchgeführt werden, die statistisch relevante Diagnosekriterien von reparativen Knochenprozessen und Knochentumoren überprüfen.

Basierend auf unseren Untersuchungen können wir für die zytologische Diagnostik von Knochentumoren bei Kleintieren die folgenden **Empfehlungen** geben:

- Die FNAB sollte aus tumorverdächtigen Arealen erfolgen, die zuvor durch röntgenologische oder andere bildgebende Verfahren wie die Computer- oder Kernspintomographie genau lokalisiert wurden.
- Die Punktion kann bei unsedierten Tieren mit einer 20- bis 22-G-Kanüle und einer 5- bis 10-ml-Spritze erfolgen. Es sollten immer mindestens vier Punktionen an unterschiedlichen Stellen durchgeführt werden, die eine deutliche Osteolyse und eine möglichst nicht intakte Kortikalis aufweisen. Die Punktion darf initial nur wenige Sekunden bei einem Unterdruck von 2-5 ml dauern, wobei mehrfach aspiriert und die Nadel durch horizontale Bewegungen im Knochen verscho-

ben wird. Bei sehr derbem Gewebe können Aspirationsunterdruck und -dauer deutlich erhöht werden.

- Das Material sollte sofort auf einem Objektträger ausgestrichen und getrocknet werden. Gegebenenfalls empfiehlt es sich, die Zellularität und Qualität des Präparates sofort nach der Punktion zu überprüfen.
- Falls trotz mehrfacher Punktion keine qualitativ ausreichenden Präparate erstellt werden können oder bei einer negativen Tumordiagnose klinisch und radiologisch ein Tumorverdacht besteht, wird eine histologische Knochenbiopsie durchgeführt.
- Die histologische Untersuchung ist immer im Anschluss an invasive Maßnahmen einzuleiten, um die Tumorart näher zu bestimmen.
- Die zytologische Untersuchung von knochentumorverdächtigen Strukturen sollte nur durch einen mit der Zytologie gut vertrauten Pathologen durchgeführt werden, da diese Diagnostik schwierig ist und Fehldiagnosen mit fatalen Konsequenzen für den Patienten verbunden sein könnten.

Literatur

1. Akerman M, Berg NO, Persson BM. Fine needle aspiration biopsy in the evaluation of tumor-like lesions of bone. *Acta Orthop Scand* 1976; 47: 129-36.
2. Berning W, Freyschmidt J, Ostertag H. Zur perkutanen Knochenbiopsie. *Unfallchirurg* 1993; 96: 34-8.
3. Bommer KK, Ramzy I, Mody D. Fine needle aspiration biopsy in the diagnosis and management of bone lesions. *Cancer Cytopathol* 1997; 81: 148-56.
4. De Santos LA, Murray JA, Ayala AG. The value of percutaneous needle biopsy in the management of primary bone tumors. *Cancer* 1979; 43: 735-44.
5. Dollahite HA, Tatum L, Moinuddin SM, Carnesale PG. Aspiration biopsy of primary neoplasms of bone. *J Bone Joint Surg* 1989; 71: 1166-9.
6. Fraser-Hill MA, Renfrew DL. Percutaneous needle biopsy of musculoskeletal lesions. 1. Effective accuracy and diagnostic utility. *Am J Rad* 1992; 158: 809-12.
7. Jayaram G, Miac MD, Gupta M. Fine needle aspiration cytology in the diagnosis of bone tumours. *Malaysian J Pathol* 1994; 16: 137-44.
8. Jorda M, Rey L, Hanly A, Ganjei-Azar P. Fine-needle aspiration cytology of bone. Accuracy and pitfalls of cytodiagnosis. *Cancer Cytopathol* 2000; 90: 47-54.
9. Kabukcuoglu F, Kabukcuoglu Y, Kuzgun U, Evren I. Fine needle aspiration of malignant bone lesions. *Acta Cytol* 1993; 42: 875-82.
10. Kessler M. Primäre Knochentumoren der Katze. In: *Kleintieronkologie*, Bd 1. Kessler M, Hrsg. Berlin: Parey 1999; 451-54.
11. Kilpatrick SE, Ward WG, Allen MD, Chauvenet AR, Pettenati MJ. The role of fine-needle aspiration biopsy in the initial diagnosis of pediatric bone and soft tissue tumors: an institutional experience. *Mod Pathol* 1998; 11: 923-28.
12. Kleiter M, Kren G, Willmann M, Henninger W, Höllriegel W, Selzer E. Palliative Bestrahlungstherapie bei sechs Hunden mit einem Osteosarkom des Gliedmaßenskeletts. *Tierärztl Prax* 2002; 30 (K): 29-33.
13. Layfield LJ, Glasgow BJ, Anders KH, Mirra JM. Fine needle aspiration cytology of primary bone lesions. *Acta Cytol* 1987; 31: 177-84.
14. Layfield LJ, Armstrong K, Zaleski S, Eckardt J. Diagnostic accuracy and clinical utility of fine-needle aspiration cytology in the diagnosis of clinically primary bone lesions. *Diagn Cytopathol* 1993; 9: 168-73.
15. Mac Ewen EG, Kurzman ID. Canine osteosarcoma: amputation and chemoimmunotherapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1996; 26: 123-33.

16. Mahaffey EA. Cytology of the musculoskeletal system. In: Diagnostic Cytology and Hematology in the Dog and Cat, 2nd ed. St. Louis: Mosby 1999; 120-4.
17. Mankin HJ, Lange TA, Spanier SS. The hazards of biopsy in patients with malignant primary bone and soft-tissue tumors. J Bone Joint Surg (Am) 1982; 64: 1121-7.
18. Martin HE, Ellis EB. Biopsy by needle puncture and aspiration. Ann Surg 1930; 92: 169-81.
19. Nagel ML. Knochentumoren des Hundes. In: Kleintieronkologie, Bd 1. Kessler M, Hrsg. Berlin: Parey 1999; 429-50.
20. Nanda M, Sanjeeva E, Behera SC, Mohanty L. Fine needle aspiration cytology (FNAC) in malignant bone tumours. Indian J Pathol Microbiol 1994; 37: 247-53.
21. Schajowicz F, Hokama J. Aspiration (puncture or needle) biopsy in bone lesions. Recent Results Cancer Res 1976; 54: 139-44.
22. Schweitzer ME, Gannon FH, Deely DM, O'Hara BJ, Juneja V. Percutaneous skeletal aspiration and core biopsy: Complementary techniques. Am J Rad 1996; 166: 415-8.
23. Snyder RE, Coley BL. Diagnosis of bone tumors by aspiration. Am J Surg 1945; 80: 517-22.
24. Stormby N, Akerman M. Cytodiagnosis of bone lesions by means of fine-needle aspiration. Acta Cytol 1973; 17: 166-72.
25. Tyler RD, Cowell RL, Balwin CJ, Morton RJ. Introduction. In: Diagnostic Cytology and Hematology in the Dog and Cat, 2nd ed. St. Louis: Mosby 1999; 1-19.
26. White V, Fanning CV, Ayala AG, Raymond AK, Carrasco CH, Murray JA. Osteosarcoma and the role of fine needle aspiration: a study of 51 cases. Cancer 1988; 62: 1238-46.

Dr. C. Stockhaus
Klinik für Kleintiere
Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig
An den Tierkliniken 23
04103 Leipzig

REFERAT FÜR DIE PRAXIS

Vergleich je dreier monoklonaler und polyklonaler Antikörper bei der immunhistochemischen Diagnose kaniner Autoimmunkrankheiten der Haut

Pérez J et al. Comparison of three monoclonal and three polyclonal antibodies in the immunohistochemical diagnosis of canine autoimmune skin diseases. Vet Dermatol 2002; 13: 231-6.

Untersucht wurden die Hautbiopate von 23 Hunden mit Autoimmunkrankheiten der Haut, und zwar von sieben Fällen mit Pemphigus foliaceus, drei mit Pemphigus vulgaris, einem Fall mit Pemphigus

erythematosus und 12 Fällen mit Lupus erythematosus discoidalis. Es erfolgte ein Vergleich mit Biopaten von 12 Hunden mit anderen Hautkrankheiten und von sechs ohne Dermatopathien. Für die immunhistochemische Untersuchung standen drei monoklonale sowie zwei polyklonale IgG- und ein polyklonaler IgM-Antikörper zur Verfügung.

Keiner der Antikörper reagierte mit den Epithelzellen der Kontrollgruppe. Dagegen kam bei allen 11 Pemphigusfällen und bei 11 der 12 Lupusfälle eine positive interepitheliale und/oder basalmembranöse Reaktion zustande. Die monoklonalen IgG1- und IgG2-Antikörper (CA4E7-monoklonale Antikörper)

ergaben eine ähnliche Sensitivität, aber eine höhere Spezifität als die beiden polyklonalen Antikörper gegenüber den Pemphigusformen und dem Lupus erythematosus discoidalis. Mit den Plasmazellen zeigten die IgG2-monoklonalen Antikörper bei den Autoimmunopathien mäßige bis geringe interepitheliale Reaktionen, aber starke Zytoplasmafärbungen der Plasmazellen in den entzündlichen Infiltraten. Die Autoren schließen aus ihren Untersuchungen, dass CA4E7-monoklonale Antikörper zur immunhistochemischen Diagnose von Autoimmunopathien geeignet sind.

W. Kraft, München