

Aktuelles zur Tumordiagnostik in der Veterinär-Pathologie

Teil 1: Histopathologie: Tumorränder, Mitosen und Immunhistochemie

Die histopathologische Untersuchung ist nach wie vor der Goldstandard für die Diagnose der Tumorart und ihrer Dignität und die Angabe der Proliferationsaktivität ist oftmals von prognostischer Relevanz. Die Histopathologie ermöglicht darüber hinaus die Detektion von Metastasen im Lymphknoten und die Beurteilung der Resektionsgrenzen des Tumors. Außerdem stehen präzisierende immunhistologische Verfahren zur Charakterisierung von Histogenese, Differenzierung und Subtypisierung der Tumorzellen zur Verfügung.

¹Laboklin GmbH & Co. KG, Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen | ²Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie, TU München, Trögerstr. 18, 81675 München

Einleitung

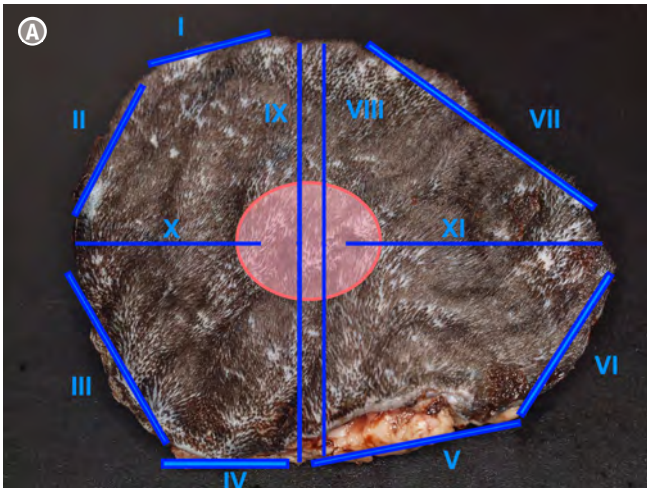
Die histopathologische Untersuchung dient neben der eigentlichen Tumordiagnose nach WHO-Klassifikationen auch der detaillierten Charakterisierung der jeweiligen Neoplasie. Ein wesentlicher Bestandteil der Beurteilung der Dignität vieler Tumoren ist u.a. die Anzahl der Mitosefiguren, die in verschiedene histopathologische Tumorgradings einfließt (Avallone et al. 2021, Meuten et al. 2021). Entsprechend der internationalen Guidelines (Meuten et al. 2021) umfasst die histopathologische Deskription auch Angaben zur Invasivität, die Beurteilung der Resektionsränder (Liptak 2020) und ggf. die Untersuchung der regionären Lymphknoten (Tuohy et al. 2009, Marcوناتo et al. 2017, Beer et al. 2018, Lapsley et al. 2021).

Bei schlecht differenzierten Neoplasien, deren histogenetischer Ursprung mittels konventioneller Lichtmikroskopie nicht sicher zu identifizieren ist, gelingt die genauere Charakterisierung in vielen Fällen mittels Immunhistologie (Sandusky et al. 1987, Bahrami et al. 2008, Bellizzi 2020). Eine weiterführende immunhistologische Charakterisierung kann z.B. bei Mastzelltumoren (Mallett et al. 2013, Freytag et al. 2021), Lymphomen (Day 1995, Gabor et al. 1999) oder Melanomen (Ramos-Vara et al. 2000) prognostische und zum Teil auch therapeutisch relevante Informationen liefern.

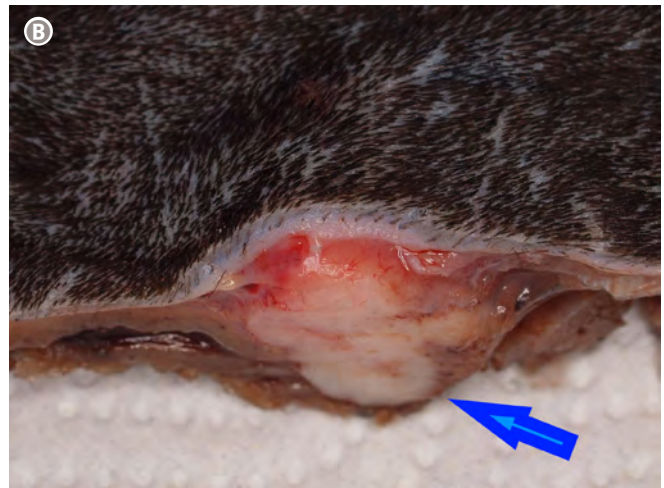
Ziel dieses Artikels ist es, einen aktuellen Überblick über verschiedene Aspekte der konventionellen Tumordiagnostik in der Veterinärmedizin zu geben und auch kritische methodische Punkte aufzuzeigen.

Beurteilung von Tumor-Resektionsrändern

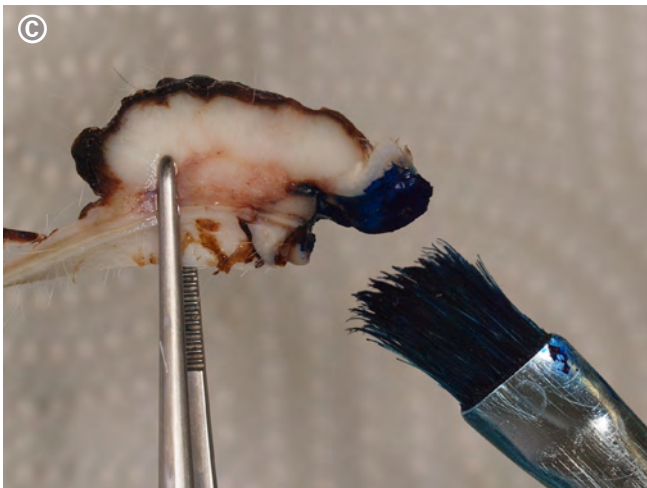
Die Guidelines für den Zuschnitt von Tumorproben wurden bereits vor Jahren publiziert (Kamstock et al. 2011) und gehören zum Standard in der Veterinär-Pathologie. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf der umfangreichen Aufarbeitung der Resektionsränder (Meuten et al. 2021), insbesondere bei Mastzelltumoren und Sarkomen (Blackwood et al. 2012, Liptak 2020, Abrams et al. 2021). Falls eine solche Tumordiagnose bereits präoperativ (zytologisch oder durch eine Biopsie) gestellt wurde, ist es wichtig, dies auf dem Einsendeformular für die Pathologie zu vermerken, so dass beim Zuschnitt der Proben der Fokus richtig gesetzt wird (Abb. 1 A+B). Makroskopisch unklare Resektionsränder



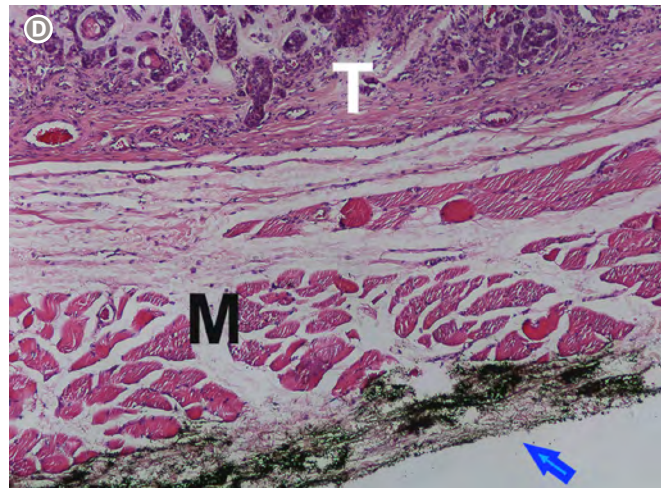
1 A Schematische Darstellung der Schnittführung zur standardisierten Aufarbeitung der Resektionsränder, um repräsentative Lokalisationen histopathologisch untersuchen zu können. (Fibrosarkom einer 12 Jahre alten Katze, formalinfixiertes Präparat).



1 B Schnittfläche des Tumors von Abb. 1A: Trotz der weiten seitlichen Ränder ist eine sehr knappe Abgrenzung des Fibrosarkoms in die Tiefe auffällig (Pfeil).



1 C Der sehr knappe seitliche Resektionsrand wird mit Gewebefarbe markiert, um später die Orientierung im histologischen Schnitt zu erleichtern (Fibrosarkom am Ohr einer 5 Jahre alten Katze, formalinfixiertes Präparat).

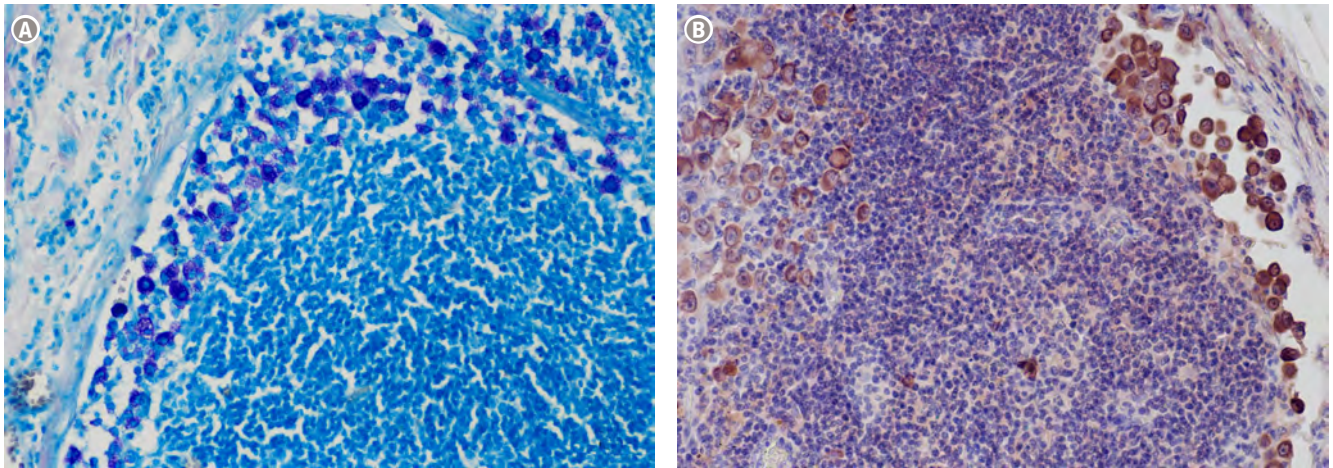


1 D Die Gewebefarbe markiert den Resektionsrand in der Tiefe (blauer Pfeil). Der Tumor (T) infiltriert die tiefere Muskelschicht (M) nicht – der Resektionsrand ist an dieser Stelle also tumorfrei (Mammakarzinom eines 13 Jahre alten Hundes, HE-Färbung).

können von Chirurgen *intra operationem* oder in der Pathologie während des Zuschnittes mit Gewebefarbe („Markierungsfarbe für die Histologie“ am besten schwarz oder blau) markiert werden. Die farbliche Markierung ist dann im histologischen Schnitt erkennbar und erleichtert die mikroskopische Beurteilung der Resektionsränder (Kamstock et al. 2011) (Abb. 1 C+D). Diese Form der farblichen Kennzeichnung relevanter Gewebelokalisationen ist auch bei verschiedenen interdisziplinären Forschungsansätzen (Korrelation der bildgebenden Befunde mit den pathologischen Präparaten) von Bedeu-

tung (Ballke et al. 2021). Wichtig ist auch, dass es durch die Formalinfixierung zu teils erheblichen Schrumpfungen des Gewebes kommt, so dass die makroskopischen Größenangaben des Labors von denen des Nativmaterials in der Operation abweichen können (Morrice et al. 2019). Mikroskopisch wird z.B. bei Weichteilsarkomen der Abstand zum gesunden Gewebe an der engsten Stelle dokumentiert (nicht vorhanden; sehr knapp / fraglich < 1 mm; knapp < 3 mm; sauber > 3 mm) (Dennis et al. 2011). Außerdem wird angegeben, ob noch eine Faszien- oder Muskelschicht als Barriere in der Tiefe

vorhanden ist (Meuten et al. 2021). Zu beachten ist: Chirurgisch werden z.B. bei Mastzelltumoren in Abhängigkeit von der Größe des Tumors 2 cm bis zu 3 cm Abstand zur klinisch darstellbaren Masse empfohlen (Selmic und Ruple 2020) – dies wird im intraoperativen Befund bzw. der makroskopischen Beschreibung reflektiert (Liptak 2020). Histologisch sind solche Abstände jedoch nicht darstellbar (Limitation durch die Größe der Standard Einbettkassette: 3,0 × 2,5 × 0,5 cm) und auch nicht gemeint. Histologisch geht es vielmehr um die Beurteilung der Tumorausläufer, die klinisch palpatorisch nicht



2 Nachweis von Tumorzellen im Lymphknoten:

- A Mittels Giemsa-Färbung sind Nester von Mastzellen (violett) im Lymphknoten gut erkennbar, die in dieser Anzahl als Metastase zu werten sind (5 Jahre alter American Staffordshire Terrier);
- B Die immunhistologische Expression von Zytokeratin (braun) identifiziert die Karzinommetastasen im Lymphknoten (8 Jahre alte Boerboelhündin)

erfassbar sind – auf diese beziehen sich dann die histologischen Angaben in Millimeter (Bray 2017, Meuten et al. 2021).

In der Humanmedizin wird die Art und Weise der Dokumentation der Tumorränder standardisiert durchgeführt. Dies hat sich in der Veterinärmedizin noch nicht durchgesetzt, es gibt aber Bestrebungen, ein standardisiertes Vorgehen zu etablieren. (Ranganathan et al. 2018, Liptak 2020, Abrams et al. 2021). Allerdings sollte man sich der Tatsache bewusst sein, dass trotz allen Aufwandes letztendlich von einem großen dreidimensionalen Gewebe nur wenige 2–3 µm dicke histologische „Schnitte“ zur histopathologischen Begutachtung vorliegen (Meuten et al. 2021).

Der intra operativen Entnahme und Untersuchung von Biopsien aus dem Wundbett des Tumors (Tumorbettbiopsien) kommt insbesondere bei Mastzelltumoren und Sarkomen eine besondere Bedeutung zu. Mit Tumorbettbiopsien können größere Wundbereiche repräsentativ erfasst und chirurgisch fragliche Areale gezielt untersucht werden. Der diagnostische und somit auch klinische Nutzen solcher Tumorbettbiopsien wurde bereits früh bei der Resektion von Mammatumoren der Frau beschrieben (Taylor et al. 1998). Die Tumorbettbiopsien sollten in einem separaten beschrifteten Formalingefäß zusätzlich zur Tumorseite eingesandt werden.

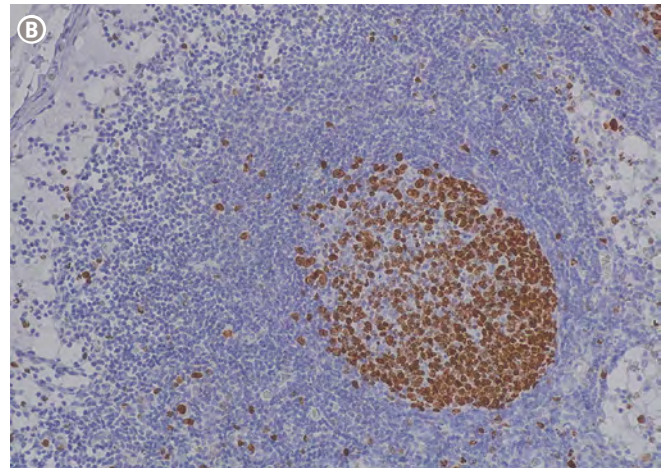
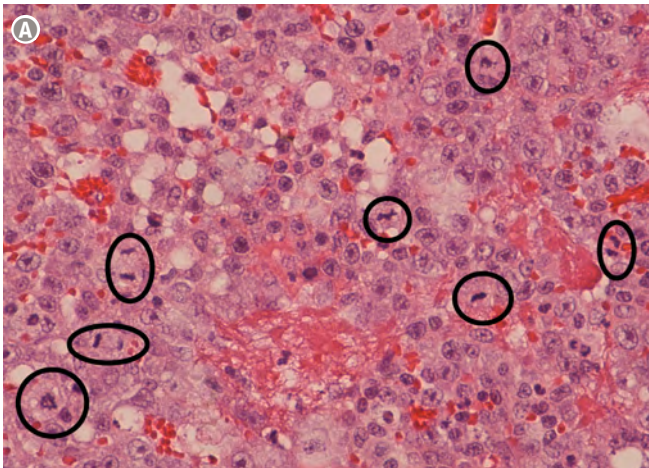
Untersuchung von Lymphknoten auf Tumorzellen

Für die histologische Untersuchung von Lymphknoten auf das Vorliegen von Tumorzellen werden bevorzugt solche aus dem tributären Gebiet (van Diest et al. 1999, Beer et al. 2018) oder solche, die mittels klinischer bzw. bildgebender Verfahren auffällig erscheinen, eingesandt (Lawrence et al. 2010). Als „Wächterlymphknoten“ (Sentinel-Lymphknoten) wird der erste Lymphknoten im Lymphabflussgebiet eines Tumors bezeichnet. Diese regionären Lymphknoten werden in der Veterinärmedizin vor allem bei der Resektion von Mammatumoren (Sorenmo 2003, Araújo et al. 2015), Darmtumoren (Kehl et al. 2022), bei der Amputation von Gliedmaßen mit Tumor, aber auch für das klinische Staging von Mastzelltumoren (Marconato et al. 2008, Lapsley et al. 2021) und Melanomen (Grimes et al. 2017) regelmäßig zur histopathologischen Diagnostik eingesandt.

Dabei ist die histologische der zytologischen Untersuchung von Lymphknoten-aspirationen (z.B. bei Mastzelltumoren) deutlich überlegen (Grimes et al. 2017). Serien- oder Stufenschnitte von dem jeweiligen Paraffinblock und die Verwendung von Spezialfärbungen werden in unklaren Fällen bei der Suche nach Mastzelltumormetastasen (Abb. 2A) empfoh-

len (Sabattini et al. 2022). Serienschnitte bezeichnen eine Kette aufeinander folgender Schnittstufen während Stufenschnitte bedeuten, dass zwischen einzelnen Schnittstufen Material verworfen wird. Für die Detektion von Karzinommetastasen (Abb. 2B) kann eine immunhistologische Untersuchung (Detektion von Epithelzellen mittels Zytokeratin s.u.) die Sensitivität deutlich erhöhen (van Trappen und Pepper 2002).

Grundsätzlich muss zwischen Tumorzellemboli und echten Metastasen (einem Anwachsen der Tumorzellen im Lymphknoten) unterschieden werden – was zytologisch nicht möglich ist. Einzelne Tumorzellen können im Rahmen der lymphatischen Drainage in den Lymphknoten gelangt sein (Emboli) und liegen dann meist in den Sinusoiden. Ob sie dort eine biologische Aktivität im Sinne eines Heranwachsens einer neuen Tumormasse (Metastase) entfalten werden, lässt sich in der Momentaufnahme der Probenentnahme nicht vorhersagen. Tumorzellemboli zeigen aber an, dass es bereits zu einer Verbreitung von Tumorzellen gekommen ist (Sleeman 2000). Liegen größere Zellcluster im Lymphknoten vor, so ist von einer Metastasierung auszugehen (Sleeman 2000, van Trappen und Pepper 2002). Für einige Tumorarten gibt es diagnostische Scoringssysteme der Lymphknoten, um diesem Punkt Rechnung zu



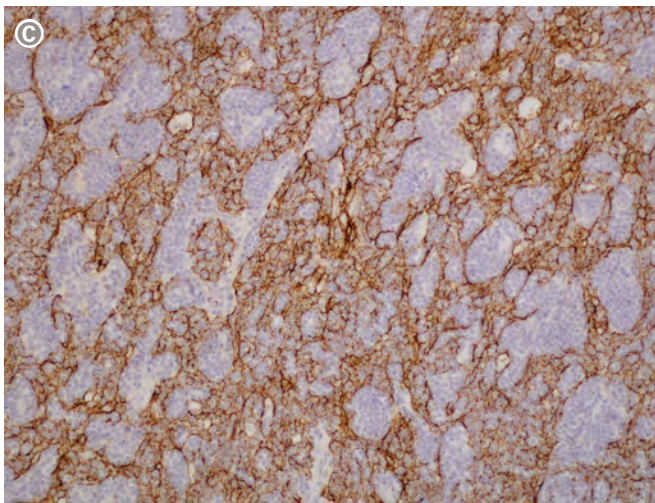
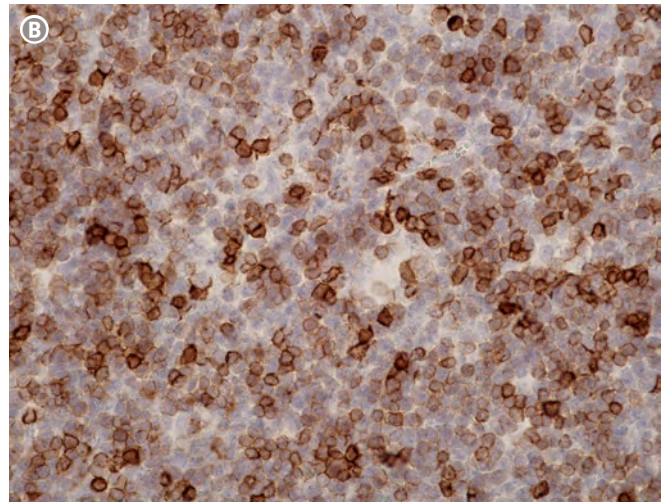
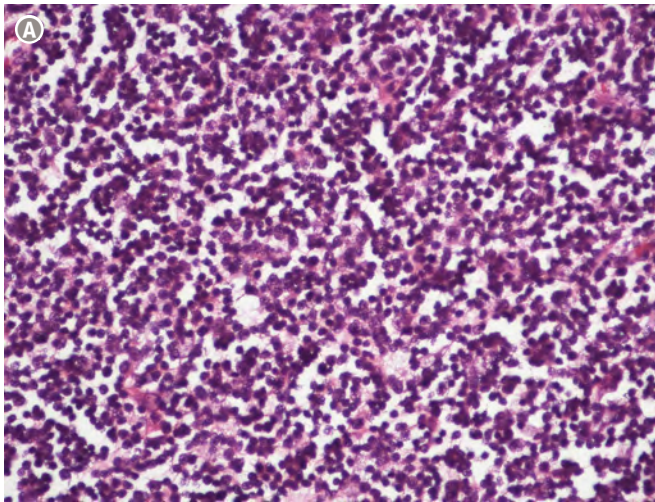
3 Proliferationsaktivität:

A Zahlreiche Mitosefiguren (Kreise) in der Milz eines Hundes mit maligner Histiozytose (HE-Färbung);

B Expression von Ki-67 Antigen (braun) in den mitotisch aktiven Lymphozyten im Zentrum eines Lymphfollikels in einem aktivierten Lymphknoten (Immunhistologie).

	Wertung der Mitosezahl	Bezugsgröße	Literaturstelle
Lymphom Hund	Grad 1 (low-grade): 0–5 / HPF Grad 2 (medium-grade): 6–10 / HPF Grad 3 (high-grade): >10 / HPF	Mittelwert aus 10 HPF	(Valli et al. 2011)
Mammakarzinom Hund	Score 1: 0–9 / 10 HPF Score 2: 10–19 / 10 HPF Score 3: >20 / 10 HPF	Summe von 10 HPF	(Peña et al. 2013)
Mammakarzinom Katze	Score 1: 0–8 / 10 HPF Score 2: 9–16 / 10 HPF Score 3: > 16 / 10 HPF	Summe von 10 HPF	(Mills et al. 2015)
Mastzelltumor Hund	Score 1: 0 / HPF Score 2: 0–2 / HPF Score 3: 3–6 / HPF	Mittelwert aus 10 HPF	(Patnaik et al. 1984)
Mastzelltumor Hund	low-grade < 7 / 10 HPF high-grade ≥ 7 / 10 HPF	Summe von 10 HPF	(Kiupel et al. 2011, Meuten 2017)
Mastzelltumor Katze	low-grade < 5 / 10 HPF high-grade ≥ 5 / 10 HPF	Summe von 10 HPF	(Sabattini und Bettini 2010)
Melanom Hund	Schlechtere Prognose bei ≥ 3/ 10 HPF (Haut) ≥ 4/ 10 HPF (Maul, Lippe)	Summe von 10 HPF	(Smedley et al. 2011, Smedley et al. 2022)
Osteosarkom Hund	Score 1: <10 / 3 HPF Score 2: 10–20 / 3 HPF Score 3: >20 / 3 HPF	Summe von 3 HPF	(Kirpensteijn et al. 2002)
Weichteilsarkom Hund	Score 1: 0–9 / 10 HPF Score 2: 10–19 / 10 HPF Score 3: 20 / 10 HPF	Summe von 10 HPF	(Dennis et al. 2011)

Tabelle 1: Beispiele für die unterschiedliche Zählweisen von Mitosen bei verschiedenen Tumorgradings in der Literatur; HPF: high power field, 40x Objektiv



4 Thymom einer British Kurzhaar Katze: Der immunhistologische Nachweis der Epithelzellen ist entscheidend für die Diagnose des Thymoms, das vom epithelialen Anteil des Thymus ausgeht.

A Das histologische Bild wird von kleinen Lymphozyten dominiert (HE-Färbung)

B Immunhistologische Detektion zahlreicher T-Lymphozyten (CD3, braun), die für den Thymus typisch sind.

C Immunhistologische Detektion des hohen Anteils epithelialer Tumorzellen (Zytokeratin, braun), die von den Lymphozyten überlagert wurden.

tragen. So werden beispielsweise einzelne Mastzellen in einem Lymphknoten als „non-metastatic“, wenige Mastzellen als „prä-metastatic“ und die Formation von Clustern oder eine entsprechend hohe Zellzahl als Metastase gewertet (Weishaar et al. 2014).

Mitosen und andere Proliferationsmarker

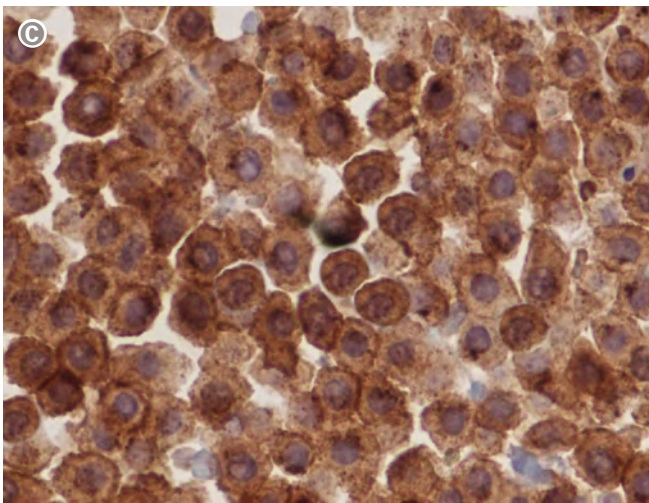
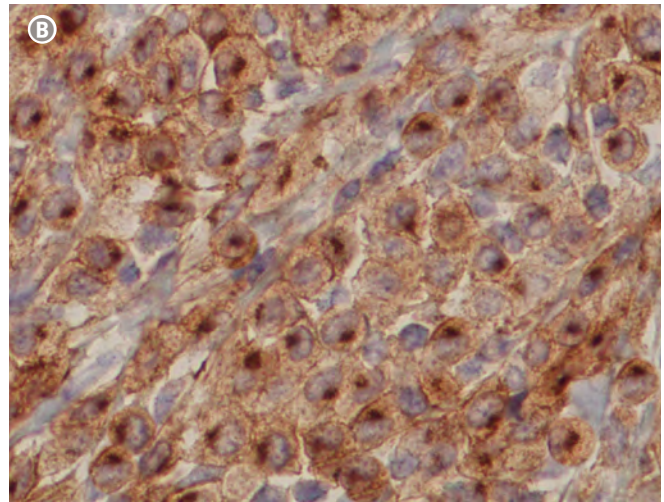
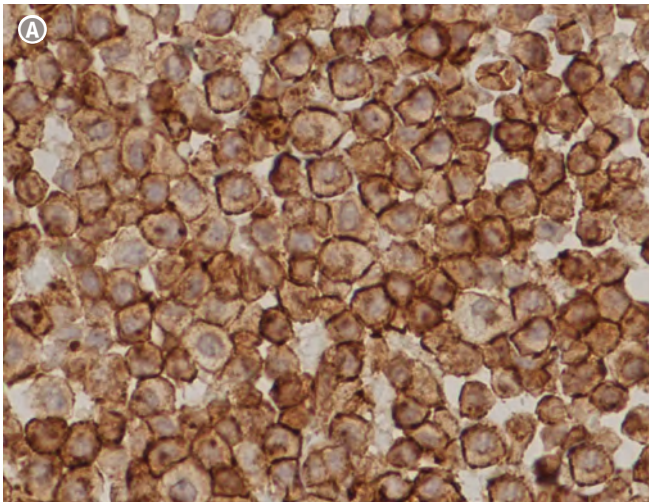
In Abhängigkeit von der Tumorart kann die Anzahl der Mitosefiguren ein wesentlicher Bestandteil bei der Beurteilung der Dignität eines Tumors sein (Meuten et al. 2021) (Abb. 3A). Dabei gibt es erhebliche Unterschiede in der Bedeutung der Mitosen: in den gutartigen kaninen kutanen Histiocytyomen findet man stets zahlreiche Mitosen, während bereits relativ wenige Mitosen in melanozytären Tumoren ein schwerwiegendes Malignitätskriterium darstellen (Tab. 1).

Zu beachten ist, dass Mitosefiguren nur

dann zu finden sind, wenn das Gewebe unverzüglich nach der Entnahme in ausreichend konzentriertem Formalin (10%iges Formalin entspricht 4%iger Formaldehydlösung) fixiert und die Autolyse gestoppt wird. Kann eine schnelle Fixierung nicht gewährleistet werden, so kann dies Einfluss auf die Bewertung der Malignität im Rahmen der histopathologischen Tumorggraduierung haben. Bei humanen Mammakarzinomen sank im nativen Zustand schon nach zwei Stunden die Zahl der nachweisbaren Mitosen um 30%, nach sechs Stunden war nur noch die Hälfte der Mitosen nachweisbar (Cross et al. 1990). Dies ist jedoch abhängig vom untersuchten Gewebe, so dass keine allgemeingültige Aussage zum Ausmaß des Verlustes von Mitosen über die Zeit möglich ist (Donovan et al. 2021).

Während in der älteren Literatur oft ein Mitose-Index angegeben wird (bei 1000 Tumorzellen das Verhältnis von Mitosefiguren zu der Zahl der Zellen, die

nicht in Mitosephasen sind), wird heute der Mitotic Count (MC) / die Mitosezahl angegeben (Meuten et al. 2021). Hierzu wird die Anzahl der Mitosefiguren innerhalb eines definierten Gesichtsfeldes (10 HPF = 2,73 mm²) gezählt. Vereinbarungsgemäß wird bei kleiner Vergrößerung (10er Objektiv) zunächst die Tumoregion mit der höchsten mitotischen Aktivität identifiziert. Dann werden 10 Gesichtsfelder in diesem Bereich ausgezählt (bei einer Okular Sehfeldzahl FN22 und 40er Objektiv) (Meuten 2017, Meuten et al. 2021). Ein solches Gesichtsfeld im 40er Objektiv wird als high power field (HPF) bezeichnet. Es wird je nach Tumorart die Summe der Mitosefiguren in 10 HPFs oder der Mittelwert der Mitosefiguren aus mehreren HPFs angegeben (Tab. 1). Leider sind in vielen Studien die Angaben zur Methodik (wie genau die Mitosefiguren ermittelt wurden) unvollständig oder sie erscheinen willkürlich (Smedley et al. 2011, Avallone et al. 2021,



5 Immunhistologische Expressionsmuster des KIT-Rezeptors in kaninen Mastzelltumoren, die von prognostischer Relevanz sind (Mastzelltumore mit atypischer KIT-Expression gehen mit einer kürzeren Überlebenszeit einher):

- A** Muster 1: Membranständige Expression (physiologisch)
- B** Muster 2: Perinukleäre punktförmige Expression (atypisch)
- C** Muster 3: Diffuse intrazytoplasmatische Expression (atypisch)

Meuten et al. 2021). Außerdem muss die Probe groß genug sein, damit von einem repräsentativen Ergebnis ausgegangen werden kann, was bei kleinen Tumorbiospien nicht der Fall ist.

Während die Anzahl der Mitosefiguren einen Eindruck von der Proliferationsaktivität vermittelt, spielt die Erfassung atypischer Mitosefiguren eine Rolle bei der Bewertung der nukleären Atypien, die ein weiteres Malignitätskriterium darstellen (Donovan et al. 2021, Meuten et al. 2021). Neben dem Zählen von Mitosefiguren werden bei einigen Tumoren zusätzlich verschiedene Proliferationsmarker bestimmt (Madewell 2001). Am gebräuchlichsten ist der immunhistologische Nachweis von Ki-67 Antigen (Kreipe 2018). Ki-67 Antigen ist ein nukleäres Protein, das sehr eng mit den Mitosephasen assoziiert ist (Sun und Kaufman 2018) und eine Halbwertszeit von ca. einer Stunde hat. Es wird ausschließlich während der Zellteilung normaler Zellen

(Abb. 3B) oder in proliferierenden Tumorzellen exprimiert, nicht aber im Rahmen von nukleären Reparaturvorgängen (Madewell 2001). Die Anzahl Ki-67 Antigen exprimierender Tumorzellen gibt Auskunft über die Proliferationsaktivität einer Neoplasie (Webster et al. 2007, Blackwood et al. 2012, Vascellari et al. 2013). Während für einzelne Tumorarten eine Assoziation von Ki-67 Antigen Nachweis mit der Prognose gegeben ist, besteht keine klinisch relevante Assoziation zu Alter und Geschlecht des Hundes oder der Tumorgroße (Firsching et al. 2022).

Der Nachweis von Ki-67 Antigen kommt routinemäßig bei kaninen Mastzelltumoren (Kandefer-Gola et al. 2015a) oder Melanomen (Smedley et al. 2022) zum Einsatz. Kanine Mastzelltumoren, die mehr als 10 Ki-67 positive Zellen/100 Zellen aufweisen (Vascellari et al. 2013) oder mehr als 23 Ki-67 positive Zellen/1 ocular grid area (Webster et al. 2007), gehen mit einer

kürzeren Überlebenszeit einher. Bei kutanen Melanomen sind mehr als 15 % Ki-67 Antigen positive Tumorzellen in der Summe aus 10 ocular grid areas und bei oralen Melanomen mehr als 19,5 positive Zellen / 1 ocular grid area (Mittelwert aus 5 gemessenen Feldern) mit einer kürzeren Überlebenszeit assoziiert (Bergin et al. 2011, Smedley et al. 2022).

Bei der ocular grid area handelt es sich um ein Raster auf einer Glasscheibe, die in das Okular des Mikroskops eingesetzt wird, um eine definierte Fläche auszuwerten (1 cm² ocular grid area im HPF entspricht dabei 0,0625 mm² im Gewebe) (Smedley et al. 2022).

Die Limitationen (Autolyse, Probengröße etc.) gelten auch für andere Proliferationsmarker, z.B. proliferating-nuclear-antigen (PCNA) oder argyrophilic nucleolar organizer regions (AGNORs) (Scott et al. 1991, Löhr et al. 1997, Mukaratirwa 2005, Ettinger et al. 2006, Scase et al. 2006, Kandefer-Gola et al. 2015a).

Immunhistologisch nachgewiesenes Antigen		Zell-/Gewebetyp (Beispiele)	Tumortypen (Beispiele)	Literatur (Beispiele)
CD3	Oberflächenantigen	T-Lymphozyten (alle)	T-Zell Lymphom	(Burkhard und Bienzle 2013)
CD20, CD79a	Oberflächenantigen	B-Lymphozyten (alle)	B-Zell Lymphom	(Burkhard und Bienzle 2013)
PAX-5	Transkriptionsfaktor	B-Lymphozyten	B-Zell Lymphom, nur Hund	(Willmann et al. 2009)
Lambda light chain	Teil der Immunglobuline	Antikörper produzierende B-Lymphozyten	Plasmazelltumor, B-Zell Lymphom	(Sandusky et al. 1987)
Multiple Myeloma Oncogene 1 (MUM-1)	Onkogen (Interferon-Regulationsfaktor)	B-Lymphozyten	Plasmazelltumor, nur Hund	(Ramos-Vara et al. 2007, Wachowiak et al. 2022)
CD18	Oberflächenantigen	Zellen des Makrophagensystems, Leukozyten	Histiozytäre Tumoren	(Fulmer und Mauldin 2007)
Lysozym	Enzym	Histiozytäre Zellen, einige Epithelzellen	Histiozytäre Tumoren	(Thoolen et al. 1992)
MAC 387 (syn. Calprotectin, L1 Antigen,)	Intrazytoplasmatisches Protein	Makrophagen, Granulozyten	Histiozytäre Tumoren	(Morris et al. 2002)
MHC II	Oberflächenantigen	Antigen-präsentierende Zellen, Lymphozyten	Histiozytäre Tumoren	(Burkhard und Bienzle 2013)
IBA1 (syn. AIF-1, Allograft Inflammatory Factor 1)	ionisiertes kalziumbindendes Adaptermolekül 1 (IBA1);	Histiozytäre Zellen, Mikroglia	Histiozytäre Tumoren, Gliome	(Pierezan et al. 2014)
c-kit (syn. CD117, KIT)	Oberflächenantigen	Mastzellen, epitheliale Gewebe, Melanozyten u.v.a.m.	Mastzelltumor, Gastrointestinaler Tumor (GIST) u.v.a.m.	(Morini et al. 2004).
Melan A	Oberflächenantigen	Melanozytäre Zellen; Nebennierenrinde	Melanom, Nebennierenrindenkarzinom	(Zhang et al. 2003, Ramos-Vara und Miller 2011)
Ki-67 Antigen	nukleäres Protein	Proliferationsmarker	Mastzelltumor, Melanom	Kandefer-Gola et al. 2015a, Smedley et al. 2022

Tabelle 2A: Beispiele für immunhistologische Marker zur Diagnostik von Rundzelltumoren

Immunhistologische Untersuchungen

Bei bestimmten Neoplasien können immunhistologische Verfahren zur weiteren Charakterisierung der Tumordifferenzierung beitragen. Dies kann notwendig werden, wenn die Tumorart mit Hilfe der klassischen Färbemethoden nicht eindeutig identifiziert werden kann. In einigen Fällen

ist eine immunhistologische Untersuchung sinnvoll, weil eine Subtypisierung z. B. bei Mastzelltumoren oder Lymphomen klinisch relevant ist (Tabelle 2A), oder die Abgrenzung eines Hämangiosarkoms von anderen Sarkomen von prognostischer oder therapeutischer Bedeutung wäre (Tabelle 2B). Auch die Identifikation (neuro)endokriner Tumoren bedarf regelmäßig der immun-histologischen Absicherung

(Tabelle 2C). Auf die Möglichkeit und Sinnhaftigkeit einer solchen Untersuchung wird i. d. R. im pathologischen Bericht hingewiesen.

Die Immunhistologie (syn. Immunhistochemie) stellt eine Technik dar, bei der mittels spezifischer Antikörper das gesuchte Tumorantigen (z.B. Zytokeratin in Epithelzellen) im Gewebe detektiert und farblich markiert werden kann. Erst nach

Immunhistologisch nachgewiesenes Antigen		Zell-/Gewebetyp (Beispiele)	Tumortypen (Beispiele)	Literatur (Beispiele)
a-Aktin (SMA)	Mikrofilament	Glatte Muskulatur, Myoepithelzellen	Leiomyom/-sarkom	(Folpe und Cooper 2007)
Desmin	Intermediärfilament	Glatte und quergestreifte Muskulatur	Rhabdomyom/-sarkom	(Folpe und Cooper 2007)
Glial fibrillary protein (GFAP)	Intermediärfilament	z.B. Astrozyten	Gehirn-/Nerventumoren	(Folpe und Cooper 2007)
Vimentin	Intermediärfilament	Mesenchymale Zellen	Alle Sarkome	(Folpe und Cooper 2007)
c-kit (syn. CD117, KIT)	Oberflächenantigen	Mastzellen, Nervenzellen u.v.a.m.	Gastrointestinaler Tumor (GIST), Mastzelltumor u.v.a.m.	(Morini et al. 2004).
CD31 (syn. PECAM-1, platelet-endothelial cell adhesion molecule 1)	Oberflächenantigen	Endothelzellen, Leukozyten	Hämangiosarkom	(Gamlem und Nordstoga 2008, Ramos-Vara et al. 2018)
v. Willebrandt Faktor	Trägerprotein des Blutgerinnungsfaktors VIII	Endothelzellen	Hämangiosarkom	(Beust et al. 1988, Sabbatini und Bettini 2009, Ramos-Vara et al. 2018)

Tabelle 2B: Beispiele für immunhistologische Marker zur Diagnostik von Sarkomen

einer histologischen Untersuchung kann die Immunhistologie zielgerichtet an den paraffin-eingebetteten Gewebeproben erfolgen.

Die Spezifität der immunhistologischen Markierung hängt davon ab, wie gut das nachzuweisende Antigen (Protein) charakterisiert ist, und wie selektiv es im Tumor exprimiert wird (z.B. genau definierter Zelltyp). Außerdem ist die Qualität eines immunhistologischen Tests immer von der Qualität des primären Antikörpers (Kreuzreaktivität der Spezies; monoklonal oder polyklonal) abhängig (Webster et al. 2021). Leider stehen für die Veterinär-Pathologie deutlich weniger spezifische Antikörper für die Immunhistologie zur Verfügung, als in der humanmedizinischen Diagnostik (Bahrami et al. 2008), denn auf Grund fehlender Kreuzreaktivität können nicht alle Antikörper bei jeder Tierart angewandt werden. Dies gilt insbesondere für die Subtypisierung von Lymphomen und von Karzinomen unterschiedlichen Ursprungs.

Folgende Einschränkungen der immunhistologischen Nachweisbarkeit der Anti-

gene und der Auswertbarkeit des Reaktionsmusters sind zu beachten:

- Einige Antigene zerfallen im unfixierten Gewebe, so dass es zu falsch negativen Ergebnissen kommen kann, wenn der Tumor unzureichend in Formalin fixiert wird (große Probe, Formalin zu stark verdünnt).
- Zu lange Fixationszeiten in Formalin (länger als 10 Tage) können bei bestimmten Antigenen zu einem Verlust der immunhistologischen Reaktionsfähigkeit des Gewebes führen.
- In anaplastischen Tumoren wird in Einzelfällen eine atypische Koexpression oder eine fehlende Expression bestimmter Antigene festgestellt, da sich im Rahmen der neoplastischen Entartung auch gewebetypische Charakteristika verändern können, so dass die Diagnose trotz der immunhistologischen Untersuchungen unklar bleibt (Bahrami et al. 2008).

Beispiele für die Einsatzbereiche der immunhistologischen Tumordiagnostik

Um eine Aussage hinsichtlich der Prognose und Therapie bei undifferenzierten, anaplastischen Tumoren treffen zu können, ist es hilfreich, den histogenetischen Ursprung (z.B. epithelial, mesenchymal, melanozytär, hämatopoetisch) zu ermitteln (Bahrami et al. 2008). Die Tabellen 2A-C fassen einige in der Veterinär-Pathologie gängige immunhistologische Marker mit ihrem physiologischen Vorkommen sowie die daraus resultierenden Einsatzbereichen in der Tumordiagnostik zusammen. Es gibt jedoch noch zahlreiche andere etablierte Marker, die aber aus Gründen der Übersichtlichkeit hier nicht aufgeführt sind.

Die Bedeutung des immunhistologischen Nachweises der Zytokeratine liegt z.B. in der Detektion von kleinen Karzinommetastasen in Lymphknoten (Abb. 2B) oder von „maskierten“ epithelialen Tumorzellen z.B. in skirrhösen Karzinomen oder bei Thymomen (Abb. 4). Es gibt

Immunhistologisch nachgewiesenes Antigen		Zell-/Gewebetyp (Beispiele)	Tumortypen (Beispiele)	Literatur (Beispiele)
Chromogranin A	Matrix der Sekretgranula	endokrine Zellen	Endokrine Tumoren	(Doss et al. 1998)
Melan A	Oberflächenantigen	Nebennierenrinde, Melanozytäre Zellen	Nebennierenrindenkarzinom, Melanom	(Zhang et al. 2003, Ramos-Vara und Miller 2011)
Neuronenspezifische Enolase (NSE)	Enzym der Glykolyse	Neuroendokrine Zellen und neuronale Gewebe	Neuroendokrine Tumoren u.v.a.m.	(Patnaik und Lieberman 1991, Barnhart et al. 2002).
S100 Protein	Calciumbindendes Protein	Gliazellen, Schwann-Zellen, Satellitenzellen des Nebennierenmarks, myoepitheliale Zellen, Melanozyten, Chondrozyten	Melanom, Schwannom, Gliom, Chondrom/-sarkom, Phäochromozytom	(Folpe und Cooper 2007)
Zytokeratine	Intermediärfilamente	Epitheliale Zellen	Karzinome	(Rickmeyer et al. 2019).

Tabelle 2C: Beispiele für immunhistologische Marker zur Diagnostik von (neuro)endokrinen Tumoren

über 20 Zytokeratine, die in gewebespezifischen Kombinationen in den Epithelzelltypen vorkommen (Rickmeyer et al. 2019), daher wird meist ein übergreifender pan-Zytokeratin-Antikörper (clone AE1/AE3) verwendet.

Die immunhistologische Differenzierung in T- bzw. B-Zell-Lymphome (Tab. 2A) kann von prognostischer und therapeutischer Relevanz sein (Valli et al. 2011). Für die meisten Lymphomsubtypen funktioniert dies gut, bei follikulären Lymphomen hingegen ist immunhistologisch keine Aussage möglich, ob die B-Lymphozyten in den prominenten Follikeln wirklich monoklonal neoplastisch oder doch polyklonal hyperplastisch sind. In solchen Fällen kann eine Abklärung mittels Klonalitätsanalyse (PARR) hilfreich sein, auch, wenn diese Methode ebenfalls Limitationen hat (Burkhard und Bienzle 2013). In Körperflüssigkeiten (z.B. Blut, Liquor, Ergüsse) kommt hingegen eine Flowzytometrie (FACS) zur Anwendung, die die Zellpopulationen detailliert subtypisieren kann (Burkhard und Bienzle 2013).

Histiozytäre Zellen können mittels verschiedener Makrophagenmarker (Tab. 2A) charakterisiert werden. Eine Unterscheidung zwischen histiozytärem Tumor

oder granulomatöser Entzündung ist aber auch damit nicht in allen Fällen möglich (Fulmer und Mauldin 2007).

KIT (CD117, c-KIT) ist ein Tyrosinkinase Rezeptor Typ III, der physiologischerweise auf vielen Zellen unterschiedlicher Gewebe vorkommt: z.B. Mastzellen, hämatopoetische Stammzellen, epitheliale Gewebe, Melanozyten, Hoden, Ovarien, ZNS (Morini et al. 2004). Eine KIT-Expression wird dementsprechend nicht nur in Mastzelltumoren nachgewiesen, sondern z.B. auch in gastrointestinalen stromalen Tumoren (GIST) (Morini et al. 2011), was diese von Leiomyomen/-sarkomen unterscheidet (Maas et al. 2007, Hayes et al. 2013). Eine Besonderheit bei kaninen Mastzelltumoren ist, dass drei unterschiedliche KIT-Expressionsmuster mittels Immunhistologie dargestellt werden können (Abb. 5), wobei der Nachweis eines atypischen KIT-Expressionsmusters (Typ 2 oder 3) mit einer schlechteren Prognose einhergeht (Kandefer-Gola et al. 2015b, Freytag et al. 2021). Grundsätzlich finden sich auch bei feline Mastzelltumoren die drei vom Hund bekannten KIT Expressionsmuster (Sabattini et al. 2013), aber interessanterweise exprimieren nicht alle feline Mastzelltumoren KIT (Mallett et al. 2013).

Fazit für die Praxis

Für eine präzise Diagnostik und individuelle Therapieplanung sollte eine enge Verknüpfung von Ergebnissen der klinischen Untersuchung (inklusive Tumorstaging), der bildgebenden Untersuchungsmethoden (Ultraschall, Röntgen, evtl. CT oder MRT) sowie der Ergebnisse der histologischen Untersuchungen (ggf. auch zytologischen Untersuchungen) erfolgen.

Die Immunhistologie kann ein wichtiger Bestandteil der histopathologischen Tumordiagnostik mit klarem klinischen Nutzen sein. Die Kenntnis der Möglichkeiten und Grenzen der histopathologischen und immunhistologischen Untersuchungsmethoden ist für die optimale Probenentnahme sowie die Interpretation des Pathologiebefundes von großem Wert. Aussagekräftige Vorberichte, zielführende Probenentnahme sowie zügige und vollständige Fixierung des Gewebes sind die Voraussetzungen für eine aussagefähige Befunderhebung und garantieren die Anwendbarkeit weiterführender Methoden, wie der Immunhistologie und eine optimale Zusammenarbeit von Klinik und Pathologie.

Interessenkonflikt

Die Autoren sind zum Zeitpunkt der Drucklegung wissenschaftliche Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter bei Laboklin GmbH & Co. KG.



Literatur

- Abrams B.E., Putterman A.B., Ruple A., Wavreille V. & Selmic L.E. (2021) Variability in tumor margin reporting for soft tissue sarcoma and cutaneous mast cell tumors in dogs: A systematic review. *Veterinary surgery* : VS, 50, 259–72.
- Araújo M.R. de, Campos L.C., Ferreira E. & Cassali G.D. (2015) Quantitation of the Regional Lymph Node Metastatic Burden and Prognosis in Malignant Mammary Tumors of Dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 29, 1360–7.
- Allvone G., Rasotto R. & Chambers J.K. et al. (2021) Review of Histological Grading Systems in Veterinary Medicine. *Veterinary pathology*, 58, 809–28.
- Bahrami A., Truong L.D. & Ro J.Y. (2008) Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 132, 326–48.
- Ballke S., Heid I. & Mogler C. et al. (2021) Correlation of in vivo imaging to morphomolecular pathology in translational research: challenge accepted. *EJNMMI research*, 11, 83.
- Barnhart K.F., Wojcieszyn J. & Storts R.W. (2002) Immunohistochemical staining patterns of canine meningiomas and correlation with published immunophenotypes. *Veterinary Pathology*, 39, 311–21.
- Beer P., Pozzi A., Rohrer Bley C., Bacon N., Pfammatter N.S. & Venzin C. (2018) The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: A comparison with current approaches in human medicine. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16, 178–87.
- Bellizzi A.M. (2020) An Algorithmic Immunohistochemical Approach to Define Tumor Type and Assign Site of Origin. *Advances in anatomic pathology*, 27, 114–63.
- Bergin I.L., Smedley R.C., Esplin D.G., Spangler W.L. & Kiupel M. (2011) Prognostic evaluation of Ki67 threshold value in canine oral melanoma. *Veterinary pathology*, 48, 41–53.
- Beust B.R. von, Suter M.M. & Summers B.A. (1988) Factor VIII-related antigen in canine endothelial neoplasms: an immunohistochemical study. *Veterinary Pathology*, 25, 251–5.
- Blackwood L., Murphy S. & Buracco P. et al. (2012) European consensus document on mast cell tumours in dogs and cats. *Veterinary and comparative oncology*, 10, e1–e29.
- Bray J.P. (2017) Soft tissue sarcoma in the dog - Part 2: surgical margins, controversies and a comparative review. *The Journal of small animal practice*, 58, 63–72.
- Burkhard M.J. & Bienze D. (2013) Making sense of lymphoma diagnostics in small animal patients. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 43, 1331–47, vii.
- Cross S.S., Start R.D. & Smith J.H. (1990) Does delay in fixation affect the number of mitotic figures in processed tissue? *Journal of clinical pathology*, 43, 597–9.
- Day M.J. (1995) Immunophenotypic characterization of cutaneous lymphoid neoplasia in the dog and cat. *Journal of comparative pathology*, 112, 79–96.
- Dennis M.M., McSporran K.D., Bacon N.J., Schulman F.Y., Foster R.A. & Powers B.E. (2011) Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. *Veterinary pathology*, 48, 73–84.
- Donovan T.A., Moore F.M. & Bertram C.A. et al. (2021) Mitotic Figures-Normal, Atypical, and Imposters: A Guide to Identification. *Veterinary pathology*, 58, 243–57.
- Doss J.C., Gröne A., Capen C.C. & Rosol T.J. (1998) Immunohistochemical localization of chromogranin A in endocrine tissues and endocrine tumors of dogs. *Veterinary Pathology*, 35, 312–5.
- Ettinger S.N., Scase T.J. & Oberthaler K.T. et al. (2006) Association of argyrophilic nucleolar organizing regions, Ki-67, and proliferating cell nuclear antigen scores with histologic grade and survival in dogs with soft tissue sarcomas: 60 cases (1996–2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 228, 1053–62.
- Firsching T.C., Dietert K., Bartel A., Doherr M.G. & Gruber A.D. (2022) Dependence of the Ki67 Labelling Index of Selected Canine Tumours on Patient Age, Sex and Tumour Size. *Journal of comparative pathology*, 193, 1–8.
- Folpe A.L. & Cooper K. (2007) Best practices in diagnostic immunohistochemistry: pleomorphic cutaneous spindle cell tumors. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 131, 1517–24.
- Freytag J.O., Queiroz M.R. & Govoni V.M. et al. (2021) Prognostic value of immunohistochemical markers in canine cutaneous mast cell tumours: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary and Comparative Oncology*, 19, 529–40.
- Fulmer A.K. & Mauldin G.E. (2007) Canine histiocytic neoplasia: an overview. *The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne*, 48, 1041–3, 1046–50.
- Gabor L.J., Canfield P.J. & Malik R. (1999) Immunophenotypic and histological characterisation of 109 cases of feline lymphosarcoma. *Australian veterinary journal*, 77, 436–41.
- Gamlem H. & Nordstoga K. (2008) Canine vascular neoplasia-histologic classification and immunohistochemical analysis of 221 tumours and tumour-like lesions. *APMIS. Supplementum*, 19–40.
- Grimes J.A., Matz B.M. & Christopherson P.W. et al. (2017) Agreement Between Cytology and Histopathology for Regional Lymph Node Metastasis in Dogs With Melanocytic Neoplasms. *Veterinary Pathology*, 54, 579–87.
- Hayes S., Yuzbasiyan-Gurkan V., Gregory-Bryson E. & Kiupel M. (2013) Classification of canine nonangiogenic, nonlymphogenic, gastrointestinal sarcomas based on microscopic, immunohistochemical, and molecular characteristics. *Veterinary pathology*, 50, 779–88.
- Kamstock D.A., Ehrhart E.J. & Getzy D.M. et al. (2011) Recommended guidelines for submission, trimming, margin evaluation, and reporting of tumor biopsy specimens in veterinary surgical pathology. *Veterinary pathology*, 48, 19–31.
- Kandefer-Gola M., Madej J.A., Dzimir S., Nowak M., Janus I. & Ciaputa R. (2015a) Comparative analysis of markers of cell proliferation in canine mast cell tumours according to current classifications. *Polish journal of veterinary sciences*, 18, 241–7.
- Kandefer-Gola M., Nowak M., Madej J.A., Dzimir S., Ciaputa R. & Janus I. (2015b) Useful immunohistochemical indicators in canine mast cell tumours. *Acta veterinaria Hungarica*, 63, 49–59.
- Kehl A., Törner K. & Jordan A. et al. (2022) Pathological Findings in Gastrointestinal Neoplasms and Polyps in 860 Cats and a Pilot Study on miRNA Analyses. *Veterinary sciences*, 9.
- Kirpensteijn J., Kik M., Rutteman G.R. & Teske E. (2002) Prognostic significance of a new histologic grading system for canine osteosarcoma. *Veterinary pathology*, 39, 240–6.
- Kiupel M., Webster J.D. & Bailey K.L. et al. (2011) Proposal of a 2-tier histologic grading system for canine cutaneous mast cell tumors to more accurately predict biological behavior. *Veterinary pathology*, 48, 147–55.
- Kreipe H. (2018) Ki67-Tumorheterogenität vs. Assayheterogenität. *Der Pathologe*, 39, 272–7.
- Lapsley J., Hayes G.M. & Janvier V. et al. (2021) Influence of locoregional lymph node aspiration cytology vs sentinel lymph node mapping and biopsy on disease stage assignment in dogs with integumentary mast cell tumors. *Veterinary Surgery*, 50, 133–41.
- Lawrence J., Rohren E. & Provenzale J. (2010) PET/CT today and tomorrow in veterinary cancer diagnosis and monitoring: fundamentals, early results and future perspectives. *Veterinary and Comparative Oncology*, 8, 163–87.
- Liptak J.M. (2020) Histologic margins and the residual tumour classification scheme: Is it time to use a validated scheme in human oncology to standardise margin assessment in veterinary oncology? *Veterinary and Comparative Oncology*, 18, 25–35.

LABOKLIN

VEKTORBASIERTE INFEKTIONSKRANKHEITEN

Wir sind Ihr Partner in der Diagnostik:

- ➔ Anaplasma phagocytophilum
- ➔ Ehrlichia spp.
- ➔ Borrelia spp.
- ➔ Dirofilaria spp.
- ➔ Babesia spp.
- ➔ Hepatozoon spp.
- ➔ Leishmania spp.
- ➔ FSME

NEU: Factsheets zu beliebten Reiseländern

Sie möchten mehr erfahren?
<https://vbd.laboklin.com>



info@laboklin.com

www.laboklin.com

- Löhr C.V., Teifke J.P., Failing K. & Weiss E. (1997) Characterization of the proliferation state in canine mammary tumors by the standardized AgNOR method with postfixation and immunohistologic detection of Ki-67 and PCNA. *Veterinary Pathology*, 34, 212–21.
- Maas C.P.H.J., Haar G. ter, van der Gaag I. & Kirpensteijn J. (2007) Reclassification of small intestinal and cecal smooth muscle tumors in 72 dogs: clinical, histologic, and immunohistochemical evaluation. *Veterinary surgery* : VS, 36, 302–13.
- Madewell B.R. (2001) Cellular proliferation in tumors: a review of methods, interpretation, and clinical applications. *Journal of veterinary internal medicine*, 15, 334–40.
- Mallett C.L., Northrup N.C. & Saba C.F. et al. (2013) Immunohistochemical characterization of feline mast cell tumors. *Veterinary pathology*, 50, 106–9.
- Marconato L., Marchetti V. & Francione D. et al. (2008) Morphometrical approach for predicting regional lymph node micrometastatic load in canine mast cell tumours: preliminary results. *Veterinary and comparative oncology*, 6, 162–70.
- Marconato L., Polton G.A. & Sabattini S. et al. (2017) Conformity and controversies in the diagnosis, staging and follow-up evaluation of canine nodal lymphoma: a systematic review of the last 15 years of published literature. *Veterinary and Comparative Oncology*, 15, 1029–40.
- Meuten D.J., editor (2017) Tumors in domestic animals. John Wiley & Sons Inc, Ames, Iowa.
- Meuten D.J., Moore F.M. & Donovan T.A. et al. (2021) International Guidelines for Veterinary Tumor Pathology: A Call to Action. *Veterinary pathology*, 58, 766–94.
- Mills S.W., Musil K.M. & Davies J.L. et al. (2015) Prognostic value of histologic grading for feline mammary carcinoma: a retrospective survival analysis. *Veterinary Pathology*, 52, 238–49.
- Morini M., Gentilini F. & Pietra M. et al. (2011) Cytological, immunohistochemical and mutational analysis of a gastric gastrointestinal stromal tumour in a cat. *Journal of comparative pathology*, 145, 152–7.
- Morrice M., Polton G. & Beck S. (2019) Evaluation of the histopathological extent of neoplastic infiltration in intestinal tumours in cats. *Veterinary medicine and science*, 5, 307–16.
- Morris J.S., McInnes E.F., Bostock D.E., Hoather T.M. & Dobson J.M. (2002) Immunohistochemical and histopathological features of 14 malignant fibrous histiocytomas from Flat-Coated Retrievers. *Veterinary Pathology*, 39, 473–9.
- Mukaratirwa S. (2005) Prognostic and predictive markers in canine tumours: rationale and relevance. A review. *The veterinary quarterly*, 27, 52–64.
- Patnaik A.K., Ehler W.J. & MacEwen E.G. (1984) Canine cutaneous mast cell tumor: morphologic grading and survival time in 83 dogs. *Veterinary pathology*, 21, 469–74.
- Patnaik A.K. & Lieberman P.H. (1991) Gross, histologic, cytochemical, and immunocytochemical study of medullary thyroid carcinoma in sixteen dogs. *Veterinary Pathology*, 28, 223–33.
- Peña L., Andrés P.J. de, Clemente M., Cuesta P. & Pérez-Alenza M.D. (2013) Prognostic value of histological grading in noninflammatory canine mammary carcinomas in a prospective study with two-year follow-up: relationship with clinical and histological characteristics. *Veterinary pathology*, 50, 94–105.
- Pierezan F., Mansell J., Ambrus A. & Rodrigues Hoffmann A. (2014) Immunohistochemical expression of ionized calcium binding adapter molecule 1 in cutaneous histiocytic proliferative, neoplastic and inflammatory disorders of dogs and cats. *Journal of comparative pathology*, 151, 347–51.
- Ramos-Vara J.A., Beissenherz M.E. & Miller M.A. et al. (2000) Retrospective study of 338 canine oral melanomas with clinical, histologic, and immunohistochemical review of 129 cases. *Veterinary pathology*, 37, 597–608.
- Ramos-Vara J.A. & Miller M.A. (2011) Immunohistochemical identification of canine melanocytic neoplasms with antibodies to melanocytic antigen PNL2 and tyrosinase: comparison with Melan A. *Veterinary Pathology*, 48, 443–50.
- Ramos-Vara J.A., Miller M.A. & Dusold D.M. (2018) Immunohistochemical Expression of CD31 (PECAM-1) in Nonendothelial Tumors of Dogs. *Veterinary Pathology*, 55, 402–8.
- Ramos-Vara J.A., Miller M.A. & Valli V.E.O. (2007) Immunohistochemical detection of multiple myeloma 1/interferon regulatory factor 4 (MUM1/IRF-4) in canine plasmacytoma: comparison with CD79a and CD20. *Veterinary Pathology*, 44, 875–84.
- Ranganathan B., Milovancev M., Leeper H., Townsend K.L., Bracha S. & Curran K. (2018) Inter- and intra-rater reliability and agreement in determining subcutaneous tumour margins in dogs. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16, 392–8.
- Richmeyer T., Jäger K., Schöninger S. & Schoon H.-A. (2019) Cytokeratin expression profiles of canine epithelial tissues. *Histology and histopathology*, 34, 683–96.
- Sabattini S. & Bettini G. (2009) An immunohistochemical analysis of canine haemangioma and haemangiosarcoma. *Journal of comparative pathology*, 140, 158–68.
- Sabattini S. & Bettini G. (2010) Prognostic value of histologic and immunohistochemical features in feline cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 47, 643–53.
- Sabattini S., Faroni E. & Renzi A. et al. (2022) Longitudinal lymph node step-sectioning for the identification of metastatic disease in canine mast cell tumor. *Veterinary pathology*, 59, 768–72.
- Sabattini S., Guadagni Frizzon M., Gentilini F., Turba M.E., Capitani O. & Bettini G. (2013) Prognostic significance of Kit receptor tyrosine kinase dysregulations in feline cutaneous mast cell tumors. *Veterinary Pathology*, 50, 797–805.
- Sandusky G.E., Carlton W.W. & Wightman K.A. (1987) Diagnostic immunohistochemistry of canine round cell tumors. *Veterinary pathology*, 24, 495–9.
- Scase T.J., Edwards D. & Miller J. et al. (2006) Canine Mast Cell Tumors: Correlation of Apoptosis and Proliferation Markers with Prognosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 151.
- Scott R.J., Hall P.A. & Haldane J.S. et al. (1991) A comparison of immunohistochemical markers of cell proliferation with experimentally determined growth fraction. *The Journal of pathology*, 165, 173–8.
- Selmic L.E. & Ruple A. (2020) A systematic review of surgical margins utilized for removal of cutaneous mast cell tumors in dogs. *BMC veterinary research*, 16, 5.
- Sleeman J.P. (2000) The lymph node as a bridgehead in the metastatic dissemination of tumors. Recent results in cancer research. *Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer*, 157, 55–81.
- Smedley R.C., Sebastian K. & Kiupel M. (2022) Diagnosis and Prognosis of Canine Melanocytic Neoplasms. *Veterinary sciences*, 9.
- Smedley R.C., Spangler W.L. & Esplin D.G. et al. (2011) Prognostic markers for canine melanocytic neoplasms: a comparative review of the literature and goals for future investigation. *Veterinary pathology*, 48, 54–72.
- Sorenmo K. (2003) Canine mammary gland tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 33, 573–96.
- Sun X. & Kaufman P.D. (2018) Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*, 127, 175–86.
- Taylor I., Mullee M.A., Carpenter R., Royle G., McKay C.J. & Cross M. (1998) The significance of involved tumour bed biopsy following wide local excision of breast cancer. *European Journal of Surgical Oncology*, 24, 110–3.
- Thoolen R.J., Vos J.H. & van der Linde-Sipman J.S. et al. (1992) Malignant fibrous histiocytomas in dogs and cats: an immunohistochemical study. *Research in veterinary science*, 53, 198–204.
- Tuohy J.L., Milgram J., Worley D.R. & Dernell W.S. (2009) A review of sentinel lymph node evaluation and the need for its incorporation into veterinary oncology. *Veterinary and Comparative Oncology*, 7, 81–91.
- Valli V.E., San Myint M. & Barthel A. et al. (2011) Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Veterinary pathology*, 48, 198–211.
- van Diest P.J., Peterse H.L., Borgstein P.J., Hoekstra O. & Meijer C.J. (1999) Pathological investigation of sentinel lymph nodes. *European journal of nuclear medicine*, 26, S43–9.
- van Trappen P.O. & Pepper M.S. (2002) Lymphatic dissemination of tumour cells and the formation of micrometastases. *The Lancet. Oncology*, 3, 44–52.
- Vascellari M., Gianti M. & Capello K. et al. (2013) Expression of Ki67, BCL-2, and COX-2 in canine cutaneous mast cell tumors: association with grading and prognosis. *Veterinary pathology*, 50, 110–21.
- Wachowiak I.J., Moore A.R. & Avery A. et al. (2022) Atypical multiple myeloma in 3 young dogs. *Veterinary Pathology*, 59, 787–91.
- Webster J.D., Solon M. & Gibson-Corley K.N. (2021) Validating Immunohistochemistry Assay Specificity in Investigative Studies: Considerations for a Weight of Evidence Approach. *Veterinary pathology*, 58, 829–40.
- Webster J.D., Yuzbasiyan-Gurkan V., Miller R.A., Kaneene J.B. & Kiupel M. (2007) Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Veterinary pathology*, 44, 298–308.
- Weishaar K.M., Thamm D.H., Worley D.R. & Kamstock D.A. (2014) Correlation of nodal mast cells with clinical outcome in dogs with mast cell tumour and a proposed classification system for the evaluation of node metastasis. *Journal of comparative pathology*, 151, 329–38.
- Willmann M., Müllauer L., Guija de Arespacochaga A., Reifinger M., Mosberger I. & Thalhammer J.G. (2009) Pax5 immunostaining in paraffin-embedded sections of canine non-Hodgkin lymphoma: a novel canine pan pre-B- and B-cell marker. *Veterinary immunology and immunopathology*, 128, 359–65.
- Zhang P.J., Genega E.M., Tomaszewski J.E., Pasha T.L. & LiVolsi V.A. (2003) The role of calretinin, inhibin, melan-A, BCL-2, and C-kit in differentiating adrenal cortical and medullary tumors: an immunohistochemical study. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 16, 591–7.

Korrespondenzadresse



PD Dr. med. vet. Heike Aupperle-Lellbach

Laboklin GmbH & Co KG
Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen
Tel. 0971-7202-0
Institut für Allgemeine Pathologie und
Pathologische Anatomie, TU München,
Trögerstr. 18, 81675 München
aupperle@laboklin.de

Studium an der Tierärztlichen
Hochschule Hannover
Promotion und Habilitation am
Institut für Veterinär-Pathologie an
der Veterinärmedizinischen Fakultät
Leipzig
Fachtierärztin für Pathologie und
Fachtierärztin für Bienen
seit 2010 Privat-Dozentin an der
Vet.Med. Fakultät Leipzig
seit 2010 Diagnostik und Forschung
bei Laboklin, Bad Kissingen
seit 2023 Gastwissenschaftlerin am
Institut für Allgemeine Pathologie
und Pathologische Anatomie, Abt.
Vergleichende experimentelle
Pathologie, Technische Universität
München
Schwerpunkte: Tumorphologie,
kardiovaskuläre Erkrankungen,
Organpathologie