

# Feline Maligne Histiocytose und Lysozymnachweis

Autor(en): **Gafner, F. / Bestetti, G.E.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **130 (1988)**

PDF erstellt am: **07.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-591675>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Schweiz. Arch. Tierheilk. 130, 349–356, 1988

Aus dem Institut für Tierpathologie  
(Prof. Dr. H. Luginbühl) der Universität Bern

## Feline Maligne Histiozytose und Lysozymnachweis<sup>1</sup>

*F. Gafner und G. E. Bestetti<sup>2</sup>*

### Einleitung

Als «Histiozytäre medulläre Retikulose» beschrieben Scott und Robb-Smith (19) 1939 erstmals eine Erkrankung, die durch systemische neoplastische Proliferationen von morphologisch atypischen Histiozyten charakterisiert ist.

1966 führte Rappaport (15) für den gleichen Krankheitskomplex den Begriff der «Malignen Histiozytose» (MH) ein.

Bei der humanen MH handelt es sich um eine seltene, abrupt einsetzende, extrem maligne und ohne Therapie sehr rasch fatal verlaufende neoplastische Erkrankung des mononukleären Phagozytensystems (MPS), welche in ihrem Verlauf typischerweise frühzeitig Milz, Leber und Lymphknoten befällt (3, 4, 21).

Die klinischen Symptome bestehen regelmässig in Fieber, Gewichtsverlust, generalisierter Lymphadenopathie, Hepato- und Splenomegalie und Anämie. Seltener werden Ikterus, Thrombozytopenie, Granulozytopenie, Haut-, Lungen- und Darmaffektionen beschrieben. Im Frühstadium kann eventuell nur ein Einzelorgan befallen sein.

Über MH beim Tier erschienen 1978 und 1979 die ersten zwei Berichte (17, 18). 1986 gab Moore (11) eine detaillierte Übersicht der Erkrankung, die bislang nur beim Hund beobachtet wurde. Ältere männliche Tiere und Berner Sennenhunde sind besonders prädisponiert. Bei anderen Rassen wie Pudel, Dobermann, Golden Retriever und Schnauzer wurden nur vereinzelte Fälle beschrieben (11, 16, 17, 18, 22).

Autoptisch werden beim Hund meist noduläre Lungenmassen, vergrösserte Lymphknoten mit Verlust der normalen Architektur, Hepato- und Splenomegalie festgestellt. Noduläre Hautveränderungen, Miteinbezug von Nieren, Muskulatur, ZNS, Knochenmark, Darm, Nebennieren und Hoden kommen seltener vor. Wie bei der humanen MH ist das Knochenmark im Gegensatz zu Milz, Leber, Lymphknoten und Lunge erst in späten Stadien der Erkrankung betroffen.

Histologisch werden in den aufgeführten Organen analog zum Menschen neoplastische Proliferationen von atypischen, pleomorphen histiozytären Zellen beobachtet (11, 16, 17, 18).

Die häufigsten klinischen Befunde der caninen MH sind Gewichtsverlust, Lethargie, Inappetenz bis Anorexie, Anämie, Lymphadenomegalie, Spleno- und Hepatome-

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. H. König zum 65. Geburtstag gewidmet

<sup>2</sup> Korrespondenzadresse: Institut für Tierpathologie, Postfach 2735, CH-3001 Bern

galie, noduläre Lungenmassen (Berner Sennenhund). Thrombozytopenie, Ikterus, Körperhöhlenergüsse und Hautaffektion kommen nicht regelmässig vor (11, 16, 18, 22).

Bei der Katze wurde die MH bisher nicht beschrieben.

### Material und Methoden

Während der Sektion wurden Gewebstücke entnommen und in 4% gepuffertem Formalin fixiert. Anschliessend folgte die übliche Weiterverarbeitung bis zur HE-Färbung der Schnitte.

Für die immunhistochemischen Abklärungen wurden die Schnitte auf chromgelatine-beschichtete Objektträger aufgezogen, in Xylol entparaffiniert, in Alkohol rehydriert und mit TBS übergossen. Es folgte ein konventioneller immunhistochemischer Lysozymnachweis mittels Alkalische Phosphatase – Anti-Alkalische Phosphatase (APAAP) und eine wie folgt modifizierte APAAP-Methode:<sup>1</sup>

– Trypsinisierung (im Wasserbad bei 26 °C)	5–8 Min.
– Auswaschen in fliessendem Leitungswasser	mind. 15 Min.
– 15% Essigsäure (Blockierung der endogenen alkalischen Phosphatase)	5 Min.
– Auswaschen in fliessendem Leitungswasser	10 Min.
– TBS	kurz
– Kaninchen-Anti-Maus, 1:1 verdünnt (Zimmertemperatur)	über Nacht
– TBS (abspülen und wechseln, 4×)	10 Min.
– Maus-Anti-Kaninchen, 1:200 verdünnt	45 Min.
– TBS (wie oben)	10 Min.
– Kaninchen-Anti-Maus, 1:50 verdünnt	45 Min.
– TBS (wie oben)	10 Min.
– APAAP 1:50 verdünnt	45 Min.
– TBS (wie oben)	10 Min.
– Kaninchen-Anti-Maus, 1:50 verdünnt	45 Min.
– TBS (wie oben)	10 Min.
– APAAP 1:50 verdünnt	60 Min.
– TBS (wie oben)	10 Min.
– Substratlösung	5–20 Min.
– Auswaschen in fliessendem Leitungswasser	mind. 90 Min.
– Einschliessen in Glycerin-Gelatine	
Trypsinisierung:	
0,1% Trypsin (2000 E/g; Merck, Darmstadt, BRD)	
0,1% CaCl <sub>2</sub>	
lösen in 0,05 mol/l Tris-Puffer, pH 7,80, bei 26 °C.	
Antikörper:	
– Kaninchen-Anti-Lysozym (gebrauchsfertige Verdünnung; Ortho Diagnostic Systems, Raritan, New Jersey, USA)	
– Maus-Anti-Kaninchen, monoklonal (Dako Corporation, Santa Barbara, USA)	
– Kaninchen-Anti-Maus IG (Dako)	
– APAAP Maus, monoklonal (Dako)	
Verdünnungslösungen für die Antikörper:	
Lösung A	100 mg bovines Albumin (Sigma Chemical Company, St. Louis, USA)
	20 ml PBS-Puffer (vorsichtig lösen)
Lösung B	1 Teil Tris-Puffer 0,5 mol/l, pH 7,60
	9 Teile 0,88% NaCl (TBS)

<sup>1</sup> Herrn J. Zbären, Chef Laborant, danken wir für die Modifikation und Durchführung der APAAP-Methode

Gebrauchslösung: Lösungen A und B zu gleichen Teilen mischen  
Substratlösung: 2 mg Naphtol AS-MX-phosphat (Sigma)  
5 mg Fast red TR salt (Sigma)  
5 ml Veronalacetat Puffer pH 8,30

Für die Negativkontrollen wurden die gleichen Reagentien verwendet, mit Ausnahme des primären Antiserums.

## Resultate

### *1. Klinische Befunde*

Am 7. 9. 87 gelangte die 13jährige, weiblich-kastrierte Hauskatze in der Kleintierklinik der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Bern zum ersten Mal zur Untersuchung.<sup>1</sup> Sie zeigte im wesentlichen ausgeprägte Abmagerung (Kachexie), Inappetenz, leichtgradige Exsikkose, mittelgradig ausgeprägte, fluktuierende, leicht palpationsdolente Auftreibung des Abdomens mit Hepato- und Splenomegalie. Das Abdominalpunktat war Rivalta-positiv.

Die Laboruntersuchungen ergaben folgende pathologische Werte: Ec 3,84 Mio/l, Hb 6,7 g/100 ml, Hk 20 Vol-%, Harnstoff 85 mg/100 ml. Röntgenologisch wurden leichtgradiger Pleural- und massiver Peritonealguss sowie ausgeprägte Splenomegalie diagnostiziert.

Am 9. 9. 87 wurde die Katze erneut untersucht und wegen starker Verschlechterung des Allgemeinzustandes euthanasiert.

### *2. Pathologische Veränderungen*

Die Autopsie der Katze ergab mittelgradige Abmagerung und Anämie, leichten Hydrothorax (gelblich, klar), mittelgradigen Ascites (gelblich, klar, leicht viskös), starke Hepato- und Splenomegalie sowie mittelgradige Vergrößerung der Mesenteriallymphknoten.

Die Leber erschien gelblich-braun, an der Oberfläche mit fokal disseminierten diskreten Einziehungen, die abwechselten mit leicht erhabenen Bereichen (Durchmesser 1–5 mm). Die Leberkonsistenz war deutlich erhöht.

Die Mesenteriallymphknoten waren von erhöhter Konsistenz, im Schnitt weisslich und homogen aufgebaut.

Alle anderen untersuchten Lymphknoten schienen makroskopisch unverändert. Die Milz war stark vergrößert, im Bereich der aus der Schnittfläche hervorquellenden roten Pulpa leicht diffus aufgehell.

### *Histologische Befunde*

Alle betroffenen Organe (Milz, Leber, Lymphknoten) waren von Infiltraten aus grossen, stark polymorphen, ein- und mehrkernigen Zellen des MPS durchsetzt. Mit

---

<sup>1</sup> Frau C. Marti, Tierärztin, danken wir für die klinischen Angaben

normalen Makrophagen verglichen, wiesen die meisten neoplastischen Zellen ein deutlich vergrössertes, eosinophiles, zum Teil vakuolisiertes Zytoplasma auf. Nuklei und Nukleoli waren bezüglich Grösse und Form sehr unterschiedlich. Nicht selten wurden mehrere Nukleoli pro Kern beobachtet. Vor allem die grösseren, atypischen mononukleären Zellen zeigten einen hohen Mitoseindex. Bizarre Mitoseformen, wie sie in der Literatur zum Teil beschrieben sind (3, 11, 21), waren vorwiegend in den Lymphknoten zu finden.

Einige mehrkernige Riesenzellen schienen Reed-Sternberg Zellen ähnlich, zeigten aber keine eosinophilen Nukleoli. Perineoplastische entzündliche Reaktion (Lymphozyten und Neutrophile) war selten. In allen betroffenen Organen konnten Erythrophagozytose, aber auch Leuko- und Autophagozytose beobachtet werden, am ausgeprägtesten in Lymphknoten und Milz. Die am besten ausdifferenzierten Makrophagen zeigten auch die grössten und zahlreichsten Phagosomen (Abb. a, b).

In den einzelnen Organen wies die Neoplasie folgende Merkmale auf:

- Milz Primär war die rote Pulpa betroffen. Die weisse Pulpa schien sekundär involviert. Das neoplastische Gewebe zeigte eine diffuse Invasion ohne Knotenbildung.
- Leber Periportal und sinusoidal lagen deutliche neoplastische Infiltrationen ohne Knotenbildung vor.
- Lymphknoten Die massive neoplastische Wucherung führte zum Verschwinden der Architektur und zu einer beinahe vollständigen Verdrängung des lymphatischen Gewebes. Das perikapsuläre mesenteriale Gewebe zeigte lokal unterschiedlich ausgedehnte neoplastische Infiltrationen.

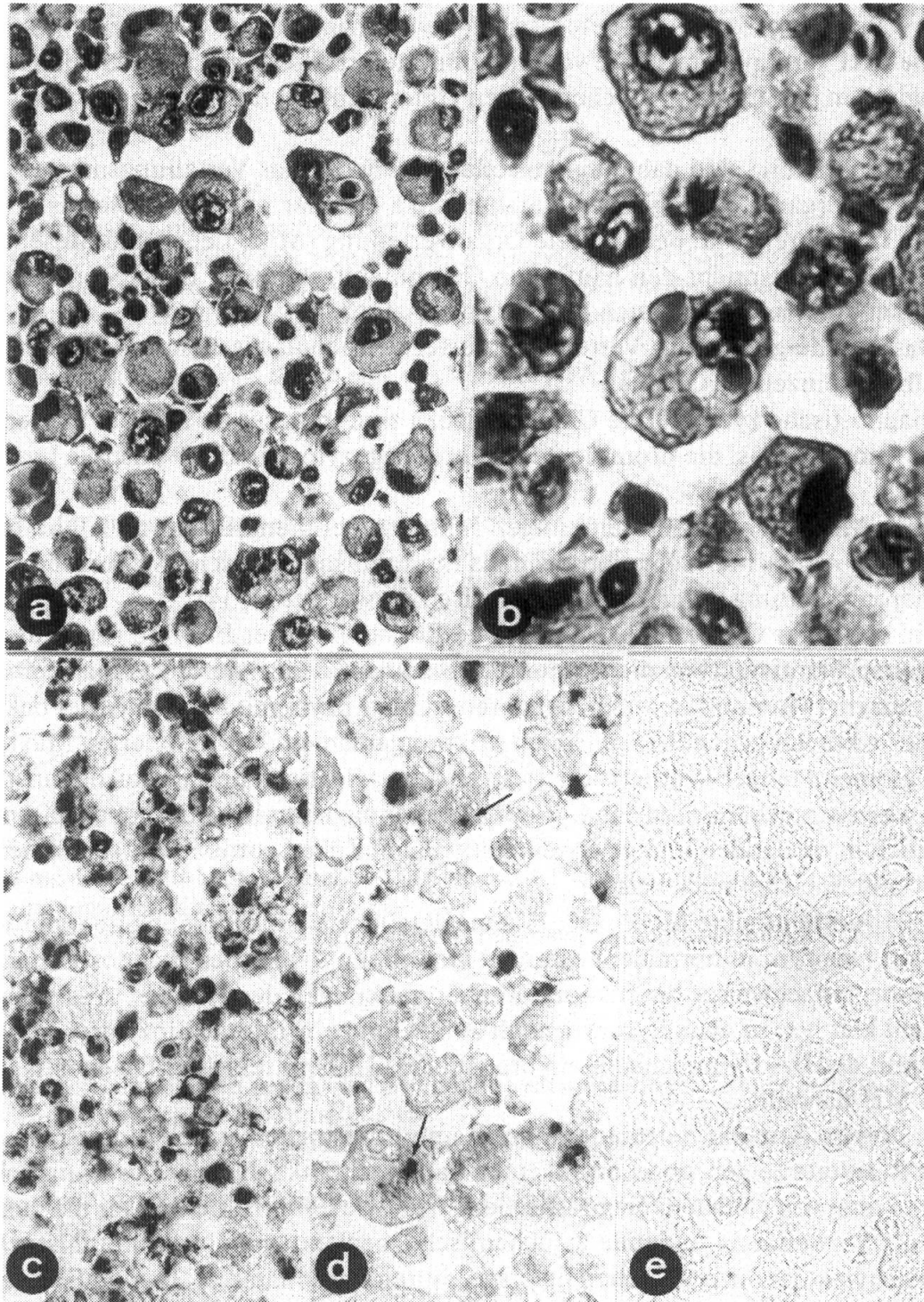
### *3. Immunhistochemie*

Im Vergleich zur normalen APAAP-Methode ergab die modifizierte Variante eine deutliche Intensitätssteigerung der positiven Reaktion.

In allen Organen dominierten Zellen mit leicht- bis mittelgradig positiver Reaktion. Nur gut ausdifferenzierte Histiozyten und einige Riesenzellen zeigten eine stark positive Färbung. Die Positivität beschränkte sich meistens auf einige Zytoplasmaanteile. Lysozym-negative histiozytäre Tumorzellen, wie sie in der Literatur oft beschrieben werden, wurden in allen Organen gefunden (8, 13, 14). Dabei handelte es sich durchwegs um wenig differenzierte Zelltypen (Abb. c, d).

Als Positivkontrolle diente Nierengewebe (Tubulus proximalis).

Wie zu erwarten, zeigten Negativkontrollen keine positive Reaktion (Abb. e).



- a Neoplastische Proliferation grosser, ein- und mehrkerniger Zellen des mononukleären Phagozytensystems mit ausgeprägtem Polymorphismus (Lymphknoten, HE, 530 ×)
- b Erythrophagozytose, am deutlichsten im Lymphknoten (HE, 1320 x)
- c + d Nur gut ausdifferenzierte Histiocyten und einige Riesenzellen (†) enthalten immunreaktives Lysozym (Lymphknoten, APAAP, 330 ×)
- e Negativkontrollen zeigen keine positive Reaktion (Lymphknoten, 530 ×)

## Diskussion

Die MH kann nur mit Hilfe von kombinierten makroskopischen, histologischen, zytologischen und immunhistochemischen Untersuchungen sicher diagnostiziert werden.

Von Bedeutung sind dabei die betroffenen Organe, das Verteilungsmuster innerhalb dieser Organe, zytologische Charakteristika und der Lysozymnachweis.

Die in unserem Fall beobachtete Organverteilung (Milz, Leber und Mesenteriallymphknoten) entspricht den häufigsten Organmanifestationen beim Menschen und mit Ausnahme der Lunge auch beim Hund (3, 11, 21).

Das gleiche gilt für das Verteilungsmuster der neoplastischen Proliferationen innerhalb der einzelnen Organe.

Diagnostische zytologische Charakteristika sind in unserem Fall der ausgeprägte Zellpolymorphismus, die prominente Erythrophagozytose und der positive Lysozymnachweis.

Beim Menschen werden seit einigen Jahren zunehmend Lysozym, Alpha-1-Antitrypsin und Alpha-1-Antichymotrypsin als immunhistochemische Marker für den histiozytären Ursprung einer Zelle diagnostisch verwendet (8, 14).

Ein wichtiger Grund dafür ist die hohe Resistenz dieser Enzyme gegenüber verschiedenen Fixativen, was die Immundiagnostik auf dem fixierten Präparat erlaubt.

Lysozym (Muramidase) im besonderen ist ein Enzym mit beträchtlicher bakteriolytischer Aktivität gegenüber sensiblen Mikroorganismen. Von aktivierten Makrophagen in grossen Mengen synthetisiert, stellt es einen wichtigen Bestandteil der unspezifischen Abwehrmechanismen dar. Lysozym ist aber nicht nur in histiomonozytären, sondern auch in myeloiden und gewissen epithelialen Zellen sowie in Milch, Tränenflüssigkeit und Speichel nachweisbar.

1986 veröffentlichte Moore (10, 13) eine detaillierte Untersuchung über die Verteilung von Lysozym in normalem caninem Gewebe und über den diagnostischen Wert des Lysozymnachweises bei histiozytären Erkrankungen des Hundes. Aus dieser Arbeit geht klar hervor, dass Lysozym auch beim Hund ein guter histiozytärer Marker ist und somit der Lysozymnachweis ein brauchbares Hilfsmittel in der Diagnostik der caninen MH darstellt.

In diesem Kontext entstanden unsere immunhistochemischen Untersuchungen. Deren Resultate zeigen, obschon auf einen Fall beschränkt, dass der Lysozymnachweis bei der Katze von gleichem diagnostischem Wert wie beim Hund ist. Der diagnostisch ebenfalls Verwendung findende zytochemische, beziehungsweise immunhistochemische Nachweis der unspezifischen Esterase, sauren Phosphatase, C3b- und Fc-Rezeptoren (IgG) war nicht durchführbar, da nur formalinfixiertes Material zur Verfügung stand (1, 3, 10, 11).

Folgende Erkrankungen sollten von der MH der Katze unterschieden werden: diffuse granulomatöse Erkrankungen nicht neoplastischer Natur, myeloproliferative Erkrankungen und histiozytäres Lymphosarkom. Ob, wie beim Hund, auch das anaplastische Lungenkarzinom vom Riesenzelltyp als Differentialdiagnose in Frage kommt, bleibt für die Katze noch offen (11).

Die beim Hund in der Liste der MH-Differentialdiagnosen zusätzlich aufzuführende systemische Histiocytose und die lymphomatoide Granulomatose wurden bei der Katze bisher nicht beschrieben.

### Zusammenfassung

Gestützt auf klinische, pathologische und immunhistochemische Untersuchungen wurde bei einer Katze zum ersten Mal eine maligne Histiocytose (MH) diagnostiziert.

Wie beim Hund ist der Nachweis von Lysozym als Marker für den histiozytären Zellursprung auch bei der Katze ein brauchbares Hilfsmittel zur Bestätigung der lichtmikroskopischen Diagnose MH.

Zum Lysozymnachweis diente eine modifizierte APAAP-Methode.

### Résumé

Basé sur des investigations cliniques, pathologiques et immunohistochimiques, le diagnostic d'histiocytose maligne est posé pour la première fois chez un chat.

Comme chez le chien, la détection de la lysozyme permet de montrer l'origine histiocytaire des cellules et de renforcer le diagnostic d'histiocytose maligne établi en microscopie traditionnelle.

Une méthode APAAP modifiée est utilisée pour la mise en évidence de la lysozyme.

### Riassunto

Sulla base di dati clinici, patologici ed istopatologici viene posta per la prima volta nel gatto la diagnosi di istiocitosi maligna.

Come nel cane, la evidenziazione istopatologica del lisozima quale marker citologico sembra avere una importanza diagnostica.

Il lisozima viene messo in evidenza con una reazione immunoistochimica secondo il metodo APAAP.

### Summary

Based on clinical, pathological and immunohistochemical investigations, malignant histiocytosis is diagnosed for the first time in a cat.

As well as in the dog, the detection of lysozyme as a histiocytic marker seems to be a useful diagnostic tool.

A modified APAAP-method is used for the detection of lysozyme.

### Literaturverzeichnis

- [1] *Calderwood, M. B., Bergeron, J. A.*: Cutaneous Histiocytosis in Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188: 377–381, 1986. — [2] *Carrington, S. G., Winkelmann, R. K.*: Electron Microscopy of Histiocytic Diseases of the Skin. *Acta Dermatovener.* (Stockholm), 52: 161–178, 1972. — [3] *Ducatman, B. S., Morgan, T. W., Pierre, R. V.*: Malignant Histiocytosis: A Clinical, Histologic and Immunohistochemical Study of 20 Cases. *Human Pathology*, 15: 368–377, 1984. — [4] *Groopman, J. E., Golde, D. W.*: The Histiocytic Disorders: A Pathophysiologic Ana-



lysis. *Annals of Internal Medicine*, 94: 95–107, 1981. — [5] *Isaacson, P., Wright, D. H., Judd, M. A., Mephram, B. L.*: Primary Gastrointestinal Lymphomas, a Classification of 66 Cases. *Cancer*, 43: 1805–1819, 1979. — [6] *Harrist, T. J., Bhan, A. K., Murphy, G. F. et al.*: In Situ Characterization of Cutaneous Infiltrates with Monoclonal Antibodies. *American Society of Clinical Pathologists*, 79: 294–300, 1983. — [7] *Koh, S.-J., Vargas, G. F., Caces, J. N., Johnson, W. W.*: Malignant Histiocytic Lymphoma in Childhood. *American Journal of Clinical Pathology*, 74: 417–426, 1980. — [8] *Mason, D. Y., Taylor C. R.*: The Distribution of Muraminidase (Lysozyme) in Human Tissues. *Journal of Clinical Pathology*, 28: 124–132, 1975. — [9] *Mihm, M. C., Clark, W. H., Reed, R. J.*: The Histiocytic Infiltrates of the Skin. *Human Pathology*, 5: 45–54, 1974. — [10] *Moore, P. F.*: Characterization of Cytoplasmic Lysozyme Immunoreactivity as a Histiocytic Marker in Normal Canine Tissues. *Veterinary Pathology*, 23: 763–769, 1986. — [11] *Moore, P. F., Rosin, A.*: Malignant Histiocytosis in Bernese Mountain Dogs. *Veterinary Pathology*, 23: 1–10, 1986. — [12] *Moore, P. F.*: Systemic Histiocytosis of Bernese Mountain Dogs. *Veterinary Pathology*, 21: 554–563, 1984. — [13] *Moore, P. F.*: Utilization of Cytoplasmic Lysozyme Immunoreactivity as a Histiocytic Marker in Canine Histiocytic Disorder. *Veterinary Pathology*, 23: 757–762, 1986. — [14] *Pinkus, G. S., Said, J. W.*: Profile of Intracytoplasmic Lysozyme in Normal Tissues, Myeloproliferative Disorders, Hairy Cell Leukemia and Other Pathologic Processes. *American Journal of Pathology*, 89: 351–362, 1977. — [15] *Rappaport, H.*: Tumors of the Hematopoietic System. *Atlas of Tumor Pathology*, 49–63, 1966. — Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC. — [16] *Rosin, A., Moore, P. F., Dubielzig, R.*: Malignant Histiocytosis in Bernese Mountain Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 188: 1041–1045, 1986. — [17] *Schalm, O. W.*: Histiocytic Medullary Reticulosis. *Canine Practice*, 5: 42–44, 1978. — [18] *Scott, D. W., Miller, W. H., Tasker, J. B., Schultz, R. D., Meuten, D. J.*: Lymphoreticular Neoplasia in a Dog Resembling Malignant Histiocytosis (Histiocytic Medullary Reticulosis) in Man. *Cornell Veterinarian*, 69: 176–197, 1979. — [19] *Scott, R. B., Robb-Smith AHT*: Histiocytic Medullary Reticulosis *Lancet* 2: 194, 1939. — [20] *Taylor, C. R.*: Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist. Volume 19 in the Series: Major Problems in Pathology W. B. Saunders Company, 1986. — [21] *Warnke, R. A., Kim, H., Dorfman, R. F.*: Malignant Histiocytosis (Histiocytic Medullary Reticulosis). *Cancer*, 35: 215–230, 1975. — [22] *Wellman, M. L., Davenport, D. J., Morton, D., Jacobs, D. J.*: Malignant Histiocytosis in Four Dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 187: 919–921, 1985. — [23] *Wick, M. R., Sanchez, N. P., Crotty, C. P., Winkelmann, R. K.*: Cutaneous Malignant Histiocytosis: A Clinical and Histopathologic Study of Eight Cases, with Immunohistochemical Analysis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 8: 50–62, 1983.

Manuskripteingang: 6. Mai 1988