

Histochemische sowie enzymhisto- und lektinhistochemische Untersuchungen zum Nachweis von Mastzelltumoren und zur Charakterisierung von Mastzellsubtypen beim Hund

Histochemical, enzyme- and lectin-histochemical investigations for the identification of mast cell tumours and the characterization of mast cell types in dogs

B.G. Tobollik

Zusammenfassung: Zur Diagnose von Mastzelltumoren (Mz-T) des Hundes wurden histochemische Färbungen modifiziert und mit der Naphthol-AS-D-Chlorazetatesterase-Reaktion (NASDCE-Reaktion) sowie lektinhistochemischen Nachweisverfahren verglichen. Die lektinhistochemische Darstellung der Mastzellen (Mz) erfolgte mit 10 verschiedenen Lektinen über eine modifizierte Avidin-Biotin-Komplex-Technik. Als Untersuchungsmaterial dienten Paraffinschnitte von Mz-T, bei der Toluidinblau- und Giemsa-Färbung sowie der NASDCE-Reaktion wurden Paraffin- und Glykolphosphorsäuremethacrylat-Schnitte (GMA-Schnitte) von Mz-T, Histiozytomen, Stickersarkomen und einem Mz-T mit fraglicher Diagnose verwendet. Mit der Alzianblau- und der Fite-Faraco-Färbung war auch nach Modifizierung beider Verfahren kein zuverlässiger Nachweis der Mz-T möglich. In weitgehender Übereinstimmung ergab sich bei der modifizierten Toluidinblau- und Giemsa-Färbung sowie der NASDCE-Reaktion eine empfindliche Darstellung von Tumor-Mz, wobei mit der Giemsa-Färbung zusätzlich weitere Zelltypen und Gewebestrukturen differenziert angefärbt wurden. Bei der NASDCE-Reaktion wirkte sich häufig eine starke Hintergrundfärbung störend auf die Beurteilung der Tumoren aus. Mit allen 3 Verfahren war eine eindeutige Unterscheidung der Mz-T von den Histiozytomen und Stickersarkomen möglich. Paraffin und GMA eigneten sich bei den 3 Methoden gleichermaßen als Gewebeeinbettung. Das lektinhistochemische Verfahren erwies sich im Vergleich zur NASDCE-Reaktion, Toluidinblau- und Giemsa-Färbung als weniger empfindlich in der Darstellung von Tumor-Mz. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war die histochemische und lektinhistochemische Unterscheidung von Mz-Subtypen beim Hund. Für die Untersuchungen wurden Paraffinschnitte von Dünndarm und Mz-T verwendet. Die Mz der Darmschleimhaut ließen sich nach Fixierung in Carnoy'scher Lösung, nicht jedoch in formalinfixiertem Material mit Toluidinblau und Giemsa nachweisen. Die Mz der Submukosa konnten sowohl bei Fixierung in Carnoy'scher Lösung wie in Formalin mit den beiden histochemischen Färbungen dargestellt werden. Da also die Mukosa-Mz (MMC) formalinempfindlich und die Bindegewebs-Mz (CTMC) formalinresistent reagieren, sind auch beim Hund MMC und CTMC als zwei verschiedene Mz-Subtypen zu definieren. Durch die NASDCE-Reaktion waren die MMC und CTMC nicht voneinander zu unterscheiden. Das Lektin UEA I scheint sich spezifisch an MMC zu binden, während die CTMC nur schwach dargestellt werden. Dieses Ergebnis ist unabhängig davon, ob das Gewebe in Carnoy'scher Lösung oder Formalin fixiert wurde. Die schwache Bindung von UEA I in den Granula der Mz-T läßt darauf schließen, daß die Mz dieser Neoplasien weitgehend vom CTMC-Typ sind. Bei DBA reagierten die CTMC des Darmes nur fraglich positiv, wogegen die CTMC der Haut und des differenzierten Mz-T eine stark positive Reaktion zeigten. Diese unterschiedliche Bindung von DBA könnte darauf deuten, daß sich die CTMC in 2 weitere Subtypen unterteilen lassen.

Summary: For the identification of mast cell tumours in dogs, histochemical stains were modified and compared with the naphthol-AS-D-chloroacetate esterase reaction (NASDCE reaction) as well as with lectin-histochemical methods. Ten different lectins were used in a modified avidin biotin complex technique for the identification of the mast cells by the lectin-histochemical methods. Paraffin sections of mast cell tumours were used as the specimens; paraffin and glycolmethacrylate (GMA) sections of mast cell tumours, histiocytomas, Sticker sarcomas, and a mast cell tumour of uncertain diagnosis were used for the toluidine blue and Giemsa stains as well as the NASDCE reaction. No reliable detection of mast cell tumours was

possible using the Alcian blue or Fite-Faraco stains, even after modification of both techniques. The modified toluidine blue and Giemsa stains as well as the NASDCE reaction produced basically the same results: a sensitive identification of tumour mast cells. Furthermore the Giemsa stains resulted in differentiated colouration of additional cell types and tissue structures. The NASDCE reaction was often accompanied by a strong background stain which adversely affected the identification of the tumours. Mast cell tumours could be clearly distinguished from histiocytomas and Sticker sarcomas by all three methods. Both paraffin and GMA were equally suitable as tissue embedding. The lectin-histochemical technique proved less sensitive for tumour mast cell identification than the NASDCE reaction or the toluidine blue and Giemsa stains. Another object of this paper is the histochemical and lectin-histochemical differentiation of mast cell subtypes in dogs. The specimens were paraffin sections of the small intestine and of mast cell tumours. The mast cells of the intestinal mucosa could be visualized with toluidine blue and Giemsa stains after fixation in Carnoy's solution, but not in formalin-fixated material. The mast cells of the submucosa could be visualized with both histochemical stains after fixation of the specimen with either Carnoy's solution or formalin. As the mucosa mast cell (MMC) proved to be formalin-sensitive and the connective tissue mast cell (CTMC) formalin-resistant, MMC and CTMC must also be defined as two different subtypes in dogs. By means of the NASDCE reaction, a differentiation between MMC and CMTC was impossible. Apparently, the lectin UEA I specifically binds to MMC whereas labelling of CMTC is weak, irrespective of the fixative used, either Carnoy's solution or formalin. The weak binding of UEA I with the granulae of the mast cell tumour indicates that the mast cells of these neoplasms are predominately of the CTMC type. With DBA, a definite positive reaction of the CTMC of the intestine could not be found whereas the CTMC of the skin and of the differentiated mast cell tumour showed a strongly positive reaction. This varying binding of DBA suggests that the CTMC can be subdivided into two further subtypes.