

Aus dem Department für Biologische Wissenschaften und Pathobiologie
der Veterinärmedizinischen Universität Wien
(Leiter: O.Univ.-Prof. Dr.med.vet. Mathias Müller)

Labordiagnostik
(Leiterin: Ass.-Prof. Dr.med.vet. Ilse Schwendenwein Dipl.ECVCP)

Hämatologische Verlaufsuntersuchung
bei
felines gastrointestinalen Lymphomen

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von
Morris Wagner

Wien, im November 2024

Betreuerin: Dr. med. vet. Barbara Rütgen
Labordiagnostik
Department für Biologische Wissenschaften und Pathobiologie
Veterinärmedizinische Universität Wien

Begutachterin: Priv.-Doz. Dr.med.vet. Birgitt Wolfesberger
Plattform für Radioonkologie und Nuklearmedizin
Klinisches Department für Kleintiere und Pferde
Veterinärmedizinische Universität Wien

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel,, Hämatologische Verlaufsuntersuchung bei feline gastrointestinalen Lymphomen“ selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe. Alle verwendeten Hilfsmittel und Literaturstellen sind ordnungsgemäß angegeben und zitiert. Die Arbeit wurde nicht an anderer Stelle eingereicht oder veröffentlicht.

Ort/Datum: Wien / 07.11.2024

Unterschrift: 

1) Abkürzungsverzeichnis:

ÜLZ	-	Überlebenszeit
FCM	-	Durchflusszytometrie
PARR	-	PCR für das Antigen Rezeptor Rearrangement
WHO	-	World Health Organization
DLBCL	-	diffuse large B-Cell Lymphoma
EATL-I	-	enteropathy-associated T-Cell Lymphoma Type I
EATL-II	-	enteropathy-associated T-Cell Lymphoma Type II
PTCL	-	Peripheral T-Cell Lymphoma
RBC	-	Erythrozyten
Hgb	-	Hämoglobin
HKT	-	Hämatokrit
Retic	-	Retikulozyten
PLT	-	Thrombozyten
TWBC	-	Leukozyten
Neutro	-	Neutrophile Granulozyten
Lymph	-	Lymphozyten
Mono	-	Monozyten
Eos	-	Eosinophile
Baso	-	Basophile
Band	-	Stabkernige Granulozyten

Lb	-	Lymphoblasten
Juv	-	Juvenile
MPXI	-	Myeloperoxidaseindex
MCV	-	Mittleres korpuskuläres Volumen
MHC	-	mittlere Hämoglobinkonzentration
MCHC	-	mittlere Hämoglobinkonzentration in Erythrozyten berechnet
CHCM	-	mittlere Hämoglobinkonzentration in Erythrozyten gemessen
RDW	-	Erythrozytenverteilungsbreite
LUC	-	large unstained cells
US	-	ultrashort
S	-	short
I	-	intermediate
L	-	long
UL	-	ultralong

2) Zusammenfassung:

Lymphome sind die am häufigsten bei Katzen vorkommenden hämatopoetischen malignen Tumore.

Ziel dieser Arbeit war, hämatologische Unterschiede zwischen den Immunphänotypen von B-beziehungsweise T-Zell Lymphomen, den WHO-Entitäten sowie zwischen den Überlebenszeiten zu untersuchen und zu beschreiben.

Die Untersuchungskohorte bestand aus Krankheitsverlaufs - Hämatologiedaten von 33 feline gastrointestinalen Lymphompatienten, die in einer prospektiven bereits publizierten Studie mittels aller zurzeit etablierter Methoden zur Diagnose und Klassifikation des feline gastrointestinalen Lymphoms aufgearbeitet waren.

Diese gefundenen Veränderungen sind zu einem geringen Teil bereits in der Literatur beschrieben worden und stützen sich daher in der Diskussion auf die physiologischen Veränderungen, die die Erkrankung mit sich bringt. Sie sind durch das chronische Entzündungsgeschehen, Anämie, die gastrointestinalen Veränderungen und die Chemotherapeutikawirkung erklärbar.

Für Rückschlüsse in punkto Prognose wären weitere Untersuchungen wünschenswert, um die Daten noch weiter zu untermauern. Ein möglicher Ansatz ist, dass das Auftreten von Stabkernigen, Lymphoblasten, Juvenilen und ein erhöhter MPXI, der nur bei kurz überlebenden Patienten zu sehen war, sicherlich prognostisch negativ zu bewerten ist. Ebenso ist die steigende Eosinophilenzahl bei längerer Überlebensdauer, wenn auch nicht über dem Referenzwert, ein möglicher Ansatz, der zum Monitoren dienen könnte.

In Zukunft sollte in diese Richtung noch mehr Forschung betrieben werden, um die Diagnosestellung beziehungsweise die Therapiemöglichkeiten zu verbessern und zu vereinfachen.

2) Abstract:

Lymphomas are the most common hematopoietic malignant tumors in cats to date.

The aim of this study was to investigate and describe statistically significant and/or clinically relevant hematological differences between the immunophenotypes of B-cell and T-cell lymphomas, WHO entities, and survival times.

The study cohort consisted of disease course hematology data from 33 feline gastrointestinal lymphoma patients, who were in a prospective, already published study using all currently established methods for diagnosing and classifying feline gastrointestinal lymphoma.

Some of the observed changes have been partially described in the literature and are therefore discussed in the context of physiological changes associated with the disease. They can be explained by the chronic inflammatory process, anemia, gastrointestinal changes, and the effect of chemotherapeutics.

For conclusion regarding prognosis, further investigations would be desirable to further substantiate the data. One possible approach is, that the presence of Band cells, lymphoblasts, juvenile cells and an increased MPXI, only observed in patients with shorter survival time, could certainly be evaluated as prognostically negative.

In the future, more research should be conducted in this direction, to improve as well as simplify diagnosis and treatment options.

Inhaltsverzeichnis

1) Abkürzungsverzeichnis	S. 1
2) Zusammenfassung/Abstract	S. 3
3) Einleitung	S. 7
4) Material und Methodik	S. 10
5) Ergebnisse	S.13
5.1. Unterschiede zwischen B und T-Zell Lymphomen	S.13
5.2. Unterschiede zwischen WHO-Entitäten	S.14
5.3. Unterschiede der Überlebensgruppen	S.15
6) Diskussion	S.20
6.1. Unterschiede zwischen B und T-Zell Lymphomen	S.20
6.2. Unterschiede zwischen WHO-Entitäten	S.20
6.3. Unterschiede der Überlebensgruppen	S.21
7) Anhang (Tabellen)	S.25
8) Literaturverzeichnis	S.27

3) Einleitung:

Lymphome sind die am häufigsten bei Katzen vorkommenden hämatopoetischen malignen Tumore. Steigende Inzidenz wird in den letzten Jahren beobachtet (1). State of the art in der Lymphomdiagnostik sowie der Differenzierung von Entitäten sind die Immunophänotypisierung mittels Durchflußzytometrie (FCM), die Klonalitätsuntersuchung, Pathohistologie inklusive world health organisation (WHO) Klassifikation und die Immunhistochemie.

Mit der FCM erfolgt die Diagnostik mittels monoklonaler Antikörper in B-, oder T-Zell Lymphomen. Die Klonalitätsuntersuchung mit Hilfe der PCR für das Antigen Rezeptor Rearrangement (PARR) ist indiziert, wenn die zytologische Beurteilung keine eindeutige Diagnose für ein Lymphom stellen kann und eine reaktive lymphoide Population differenzialdiagnostisch möglich ist. Die Pathohistologie ist jedoch immer noch der Gold Standard zur Bestimmung der Lymphomentität mittels WHO-Klassifikation. Hämatologische und biochemische Blutuntersuchungen ergänzen mit dem Staging und der klinischen Untersuchung die diagnostische Aufarbeitung, zur Unterstützung der Prognose und Optimierung der Therapie.

Die häufigste Lymphom Lokalisation bei der Katze ist gastrointestinal. Sowohl Dünndarm als auch Magen sind des Öfteren betroffen. Seltener ist ein Lymphom im Dickdarm lokalisiert. B-Zell Lymphome bei der Katze sind meist im Magenbereich oder Dickdarmbereich, währenddessen T-Zell Lymphome eher im Bereich des Dünndarms auftreten.

Mittels FCM kann mittlerweile eine Immunophänotypisierung durchgeführt werden (2).

Seit 2011 werden die Lymphomentitäten beim Hund mittels der aus der Humanmedizin adaptierten WHO-Klassifikation pathohistologisch bestimmt (3). Diese Klassifikation wurde für die Katze ebenfalls schon evaluiert (4). Bei B – Zell Lymphomen ist das diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL - diffus großzelliges B-Zell Lymphom) die häufigste Form. Lymphome vom T-Zelltyp beinhalten das peripheral T-cell lymphoma (PTCL - peripheres T-Zell Lymphom) und das enteropathy associated T-cell lymphoma I und II (EATL-I und II - Enteropathie-assoziiertes T-Zell Lymphom).

Das DLBCL zeigt sich pathohistologisch als große Lymphozyten mit unreifem Kernchromatin, Nukleoli und wenig bis mäßig Zytoplasma, die diffus im Lymphgewebe verteilt sind.

EATL-I zeigen transmurale Infiltrate großer intraepithelialer Lymphozyten, die je nach Ausbreitung, Infiltrate in der Submukosa aufweisen. EATL-II Lymphome zeigen mukosale Infiltrate klein bis mittelgroßer intraepithelialer Lymphozyten mit Epitheliotropismus. Das EATL-II scheint eher indolent, langsam fortschreitend mit einer besseren Prognose als das prognostisch ungünstigere EATL- I (4).

Das PTCL als transmurales Infiltrat kann in manchen Fällen pathohistologisch schlecht vom EATL-I abgegrenzt werden. Die neoplastischen Zellen zeigen üblicherweise große, aber auch variabel große Zellen mit gekerbten oder ovalen Kernen. Nukleoli und Mitosen sind variabel in Zahl und Größe (3).

Diese Diplomarbeit untersuchte 3 Fragestellungen:

1. Gibt es Unterschiede in der Hämatologie in Bezug auf FCM Immunphänotyp zwischen B und T-Zell Lymphomen?
2. Gibt es hämatologische Unterschiede zwischen den verschiedenen WHO-Entitäten?
3. Gibt es hämatologische Unterschiede in Bezug auf die Überlebenszeiten der Patienten?

Um dies zu untersuchen wurden retrospektiv hämatologische Befunde von 33 Lymphomkatzen, deren Diagnose bereits durch eine Studie (5) bestätigt, dokumentiert, und in ihrem Verlauf begleitet worden sind, verwendet. Sie wurden von der Diagnosestellung, über Chirurgie und Chemotherapieverlauf bis hin zum Versterben beziehungsweise der Euthanasie begleitet und bis dahin regelmäßig hämatologisch untersucht.

Die Ergebnisse wurden systematisch abgearbeitet und die Informationen mittels einem Excel Programm Analyse-it® berechnet und deren Signifikanzen in den einzelnen Gruppen der 3 Fragestellungen ermittelt.

Im Verlauf dieser Arbeit erfolgte eine systematische Literaturrecherche nach thematisch relevanten Reviews sowie Papers aus unterschiedlichen Quellen, um ein besseres Verständnis zur Thematik zu erhalten. Es gibt zu unserer Fragestellung bisher limitiert Literatur aus diesem Bereich.

4) Material und Methodik:

Die dafür untersuchte Studienpopulation umfasst 33 Katzenpatienten, deren hämatologische Befunde retrospektiv von der Initialdiagnose bis zum Versterben versus Euthanasie in regelmäßigen Abständen analysiert wurde. Diese Kohorte ist mittels Zytologie, FCM, PARR, Pathohistologie inklusive WHO-Klassifikation in DLBCL, EATL-I, EATL-II und PTCL charakterisiert und publiziert (5) worden.

Die folgenden in jeder Routine Hämatologie (ADVIA 2120[®], Siemens) analysierten Blutparameter wurden anhand der 3 Gruppenthypothesen auf statistisch signifikante Unterschiede untersucht:

Für das rote Blutbild wurden Erythrozyten (RBC) (/μl), Hämoglobin (Hgb) (g/dl), Hämatokrit (HKT) (%), Retikulozyten (Retic) (/μl), für die primäre Gerinnung, die Thrombozyten (PLT) (/μl) untersucht und bestimmt. (Tab. 1)

Für das weiße Blutbild wurden die Leukozyten (TWBC) (/μl) mit Differenzialblutbild, Neutrophile Granulozyten (Neutro) (/μl), Lymphozyten (Lymph) (/μl), Monozyten (Mono) (/μl), Eosinophile (Eos) (/μl), Basophile (Baso) (/μl), Stabkernige Granulozyten (Band) (/μl), Lymphoblasten (Lb) (/μl), Juvenile (Juv) (/μl) und der Myeloperoxidaseindex (MPXI) bestimmt. (Tab. 1)

Für das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV), die mittlere Hämoglobinkonzentration (MHC), mittlere Hämoglobinkonzentration in Erythrozyten berechnet (MCHC) und gemessen (CHCM), Erythrozytenverteilungsbreite (RDW) und large unstained cells (LUC) wurden aufgrund der meisten Berechnungen der Werte und der daraus resultierenden präanalytischen Unsicherheiten keine statistischen Signifikanzen zur Interpretation herangezogen.

Die Einteilung in B und T-Zell Lymphome wurde anhand der Ergebnisse der FCM Phänotypisierung vorgenommen und die Einteilung in die WHO-Entitäten DLBCL, EATL-I, EATL-II, PTCL (6) mittels der Pathohistologie durchgeführt (5) (Abbildung 1, Tabelle 1).

Anhand ihrer Überlebenszeiten wurden die Patienten in 5 Kategorien eingeteilt: ultrashort (US) (1-10 Tage), short (S) (10-100 Tage), intermediate (I) (100-180 Tage), long (L) (180-365 Tage) und ultralong (UL) (> 365 Tage). (Abbildung 1, Tabelle 1+2)

Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen FCM Phänotyp B und T-Zell Lymphom, WHO-Entitäten DLBCL, EATL-I, EATL-II, PTCL und den 5 Überlebensgruppen wurden mittels Excel-Programms Analyse-it[®] untersucht. Das Signifikanzniveau wurde mit einem $p < 0.05$ festgelegt (Scheffe Test). (Tabelle 1) Zur Darstellung der Daten wurde eine Boxplotdarstellung verwendet.

Das gehört schon zu den Ergebnissen, nicht zur Material und Methode:

Bei diesen 33 untersuchten Katzen wurden bei 8 Katzen (24%) Lymphome im Bereich des Magens gefunden, bei den restlichen 25 (76%) befand sich der Tumor im Darm. Wir fanden mittels FCM, 18 Patienten mit einem B- Zell, sowie 14 mit einem T-Zell Phänotyp und eine B+T Zell gemischte Expression. Alle Magenlymphome waren vom B-Zell Typ wohingegen bei den Darmlymphomen eine Verteilung von 56 % (14 Katzen) T-Zell Lymphomen und 40 % (10 Katzen) B-Zell Lymphomen auftrat. Eine Katze (4%) zeigt einen B+T Zell Phänotyp.

Die WHO-Subtypen der Lymphome war wie folgt aufgeteilt: Alle B-Zell Lymphome bis auf eine DLBCL + EATL-I Mischform waren DLBCL, die T-Zell Lymphome unterteilten sich in 66 % (10 Katzen) EATL-I, 20 % (3 Katzen) waren vom Typ PTCL und 13 % (2 Katzen) waren vom Subtypus EATL-II (Abbildung 1, Daten von Rütgen et al. 2024).

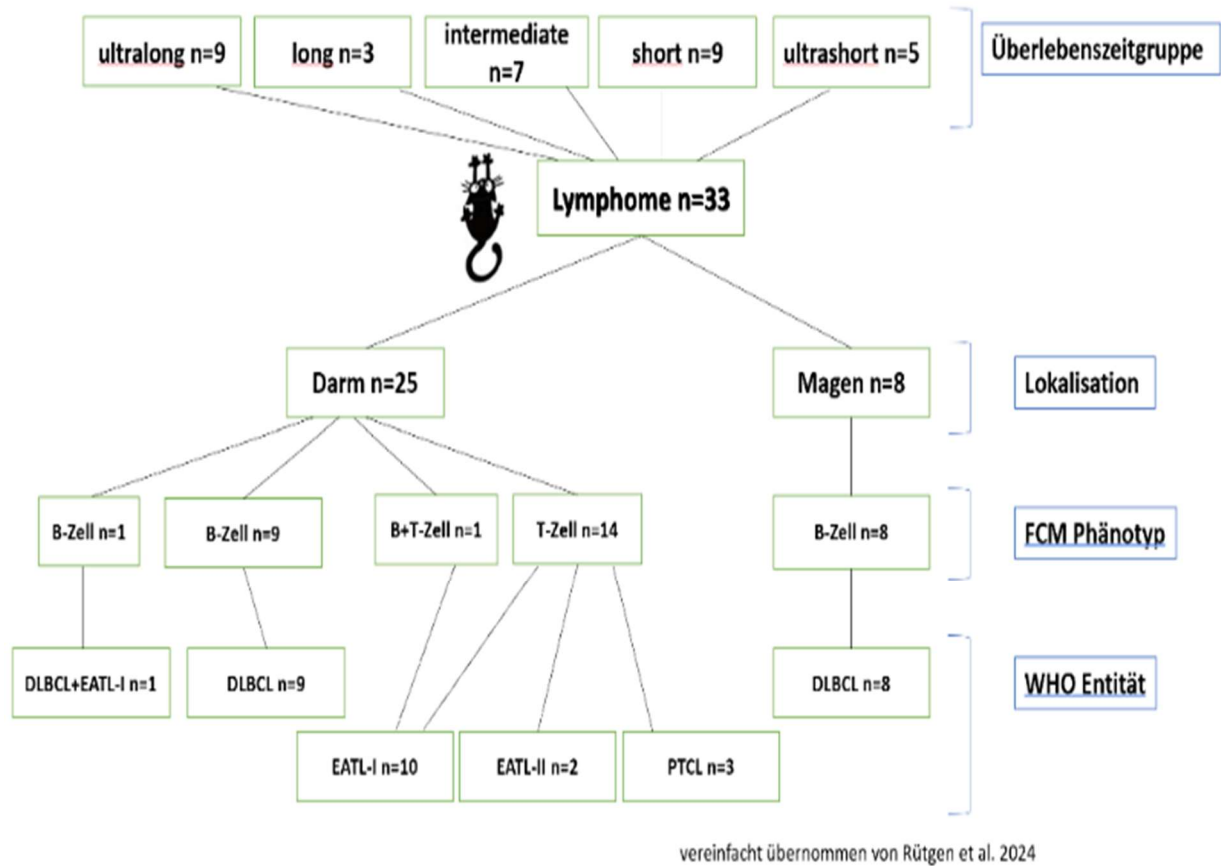


Abbildung 1 – Einteilung der Lymphome nach Subtypen und systematische Anordnung dieser nach Überlebenszeit, Lokalisation, FCM Phänotyp sowie WHO Entitäten. Sowie die Anzahl (n) der in der jeweiligen Gruppe vorkommenden Patienten.

5) Ergebnisse:

5.1. Signifikante Unterschiede zwischen B und T-Zell Lymphomen: (Tabelle 1, Abbildung 1)

Diese Unterscheidung basiert auf dem FCM Phänotyp von 17 Feliden mit einem B-Zell Lymphom sowie 15 mit einem T-Zell Lymphom (Abbildung 1). Ein Felide von gemischter Expression B+T erscheint aufgrund von n=1 nicht in der Analyse, da statistisch signifikante Unterschiede bei n=1 im Vergleich nicht zu bewerten sind.

Neutrophile:

Katzen mit B-Zell Lymphomen zeigten signifikant mehr Neutrophile im peripheren Blut als T-Zell Lymphom Patienten ($p=0,0297$; B-Zell Median: $5,55 \times 10^3/\mu\text{l}$, T-Zell Median: $4,82 \times 10^3/\mu\text{l}$)

Das Referenzintervall liegt zwischen $3,6 - 12,75 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Eosinophile:

Patienten mit B-Zell Lymphom zeigten signifikant mehr Eosinophile im peripheren Blut als T-Zell Lymphom Patienten ($p=0.0014$; B-Zell Median: $238/\mu\text{l}$, T-Zell Median: $154/\mu\text{l}$).

Der Referenzwert liegt bei $<800/\mu\text{l}$.

MPXI

Jene mit T-Zell Lymphom zeigten signifikant höheren MPXI im peripheren Blut als B-Zell Lymphom Patienten ($p=0.0001$; T-Zell Median: 21.9, B-Zell Median: 18.9).

Bei den übrigen getesteten Werten RBC, Hämoglobin, Hämatokrit, Retikulozyten, Thrombozyten, Leukozyten, Stabkernigen, Lymphozyten, Monozyten, Basophilen, Lymphoblasten und Juvenilen gab es keine statistisch signifikant unterschiedlichen Ergebnisse.

5.2. Signifikante Unterschiede zwischen WHO-Entitäten: (Tabelle 1, Abbildung 1)

Diese Unterscheidung basiert auf der WHO-Klassifikation von 17 DLBCL, 10 EATL-I, 2 EATL-II und 3 PTCL (Abbildung 2). Der eine Fall von DLBCL+EATL-I erscheint aufgrund von n=1 nicht in der Analyse, da statistisch signifikante Unterschiede bei n=1 im Vergleich nicht als zuverlässig zu bewerten sind.

Thrombozyten:

Untersuchungen zeigten, dass bei Thrombozyten, Lymphome vom Subtyp **EATL-II** (Median: **520x10³/μl**) eine signifikant höhere Thrombozytenzahl aufwiesen als alle anderen Arten von Entitäten. DLBCL (p=0.0001; Median: 270.5x10³/μl), PTCL (p=0.0003; Median: 295.5x10³/μl) und EATL-I (p=0.0006; Median: 292x10³/μl).

Das Referenzintervall liegt zwischen 180-430x10³/μl.

Leukozyten:

Die Gesamtleukozytenzahl war bei Patienten mit einem **EATL-II** (Median: **21.04x10³/μl**), signifikant höher als bei den PTCL Patienten (p=0.0037, Median: 6.22x10³/μl). Auch im Vergleich zu DLBCL Katzen (p=0.0401, Median: 7.43x10³/μl) war die Leukozytenzahl höher bei EATL-II Patienten.

Das Referenzintervall liegt zwischen 6-18x10³/μl.

Lymphozyten:

Feliden mit einem **EATL-I** Lymphom (Median: **0,876x10³/μl**) zeigten signifikant mehr Lymphozyten im peripheren Blut als **PTCL** Lymphom Patienten (p=0.0431; Median: **0,610x10³/μl**).

Das Referenzintervall liegt zwischen 0,9-5.1x 10³/μl.

Monozyten:

Katzen mit einem **EATL-II** Lymphom (Median: **696.6/μl**) zeigten signifikant mehr Monozyten im peripheren Blut als PTCL ($p=0.0119$; Median: 194.62/μl) und DLBCL Lymphom Patienten ($p=0.01$; Median: 221.63/μl).

Der Referenzwert liegt bei $<500/\mu\text{l}$.

MPXI

Katzen mit EATL-I Lymphom (Median: 22.8) zeigten einen signifikant höheren MPXI im peripheren Blut im Vergleich zu DLBCL, ($p=0.0005$; Median: 18.9) Katzen.

Lymphoblasten

Patienten mit EATL-II Lymphom (Median: 0.02/μl) zeigten eine signifikant höhere Anzahl von Lymphoblasten im peripheren Blut im Vergleich zu PTCL ($p=0.036$; Median: 0.01/μl) Katzen.

Juvenile

Katzen mit EATL-II Lymphom (Median: 0.02/μl) zeigten eine signifikant höhere Anzahl von Juvenilen Zellen im peripheren Blut im Vergleich zu PTCL ($p=0.0062$; Median: 0.01/μl) und DLBCL ($p=0.0494$; Median: 0.01/μl) Katzen.

Bei den übrigen getesteten Werten RBC, Hämoglobin, Hämatokrit, Retikulozyten, Stabkernigen, Neutrophilen, Eosinophilen und Basophilen gab es keine statistisch signifikant unterschiedlichen Ergebnisse.

5.3. Signifikante Unterschiede der Überlebensgruppen: (Tabelle 1, Abbildung 1)

Diese Gliederung basiert auf der Unterscheidung der 5 Überlebensgruppen: Neun Katzen sind dabei ultralong (UL; median survival 983 Tage), drei Katzen long (L; median survival 222 Tage), sieben Katzen intermediate (I; median survival 128 Tage), neun Katzen short (S; median survival 65 Tage) und fünf Katzen ultrashort (US; median survival 4 Tage) survivors (Tabelle 2). Im Median wurden die Katzen der UL Gruppe 35 mal, die der L Gruppe 19 mal, der I Gruppe 16 mal, der S Gruppe 13 mal und der US Gruppe 3 mal hämatologisch untersucht (Tabelle 2).

Erythrozyten:

Feliden der UL (Median: $7.77 \times 10^6/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Erythrozytenkonzentrationen im peripheren Blut im Vergleich zu US ($p=0.001$; US Median: **$5.145 \times 10^6/\mu\text{l}$**), I ($p=0.0001$; I Median: $6.335 \times 10^6/\mu\text{l}$) und S ($p=0.0001$; S Median: $6.38 \times 10^6/\mu\text{l}$) Katzen.

Katzen der L (Median: $7,33 \times 10^6/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Erythrozytenkonzentrationen im peripheren Blut im Vergleich zu den US ($p=0.0208$; US Median: **$5.145 \times 10^6/\mu\text{l}$**) Patienten.

Das Referenzintervall liegt zwischen $5.5-10 \times 10^6/\mu\text{l}$.

Hämoglobin + Hämatokrit

Katzen der UL (Hgb-Median: 11.3g/dl, Hkt-Median: 32.9%) Gruppe zeigten signifikant höhere Hämoglobinkonzentrationen und gleichlaufend höheren Hämatokrit im peripheren Blut als im Vergleich zu allen anderen Überlebensgruppen: US (Hgb: $p=0.001$; Median: 8.8g/dl; Hkt $p=0.0027$ Median: **25,65%**), S (Hgb: $p=0.0001$; Median: 8.9g/dl; Hkt: $p=0.0001$; Median: **25.85%**), I (Hgb: $p=0.0001$; Median: 8.9g/dl; Hkt: $p=0.0001$; Median: **26.3%**) und L (Hgb: $p=0.0001$; Median: 10.1g/dl; Hkt: $p=0.0008$; Median: 28.9%).

Das Referenzintervall für Hgb liegt zwischen 8-17g/dl, das des Hkt zwischen 27-47%.

Thrombozyten:

Jene der US (Median: **$443 \times 10^3/\mu\text{l}$**) Gruppe zeigten signifikant höhere Thrombozytenzahlen im peripheren Blut im Vergleich zu UL ($p=0.0026$; Median: $257 \times 10^3/\mu\text{l}$) und L ($p=0.0371$; Median: $293 \times 10^3/\mu\text{l}$) Katzen.

Die Gruppe der UL (Median: $257 \times 10^3/\mu\text{l}$) zeigte eine signifikant niedrigere Thrombozytenzahl im peripheren Blut im Vergleich zu den S ($p=0.0001$; Median: $359.10 \times 10^3/\mu\text{l}$), und I ($p=0.0009$; Median: $321 \times 10^3/\mu\text{l}$), Gruppen.

Das Referenzintervall liegt zwischen $180-430 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Leukozyten

Patienten der US (Median: $25.485 \times 10^3/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Gesamtleukozytenzahlen im peripheren Blut im Vergleich zu allen anderen Gruppen: UL ($p=0.0001$; Median: $6.51 \times 10^3/\mu\text{l}$), L ($p=0.0001$; Median: $9.97 \times 10^3/\mu\text{l}$), I ($p=0.0001$; Median: $8.45 \times 10^3/\mu\text{l}$), S ($p=0.0001$; Median: $9.345 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Katzen der UL (Median: $6.51 \times 10^3/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant niedrigere Gesamtleukozytenzahlen im peripheren Blut im Vergleich zu den L ($p=0.0001$; Median: $9.97 \times 10^3/\mu\text{l}$) und I ($p=0.019$; Median: $8.45 \times 10^3/\mu\text{l}$) Patienten.

Das Referenzintervall liegt zwischen $6-18 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Stabkernige

Katzen der US (Median: $0.04/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten eine signifikant höhere Anzahl an Stabkernigen im peripheren Blut im Vergleich zu allen anderen Gruppen: UL ($p=0.0001$; Median: $0.01/\mu\text{l}$), L ($p=0.0001$; Median: $0.01/\mu\text{l}$), I ($p=0.0001$; Median: $0.01/\mu\text{l}$), S ($p=0.0001$; Median: $0.01/\mu\text{l}$).

Der Referenzwert liegt bei $<500/\mu\text{l}$.

Neutrophile

Feliden der I (Median: $8,36 \times 10^3/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Anzahl an Neutrophilen im peripheren Blut im Vergleich zu den UL ($p=0,0001$; Median: $4,53 \times 10^3/\mu\text{l}$), S ($p=0,0001$; Median: $7,28 \times 10^3/\mu\text{l}$), L ($p=0,0071$; Median: $7,975 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Ergebnisse der US (Median: $18,87 \times 10^3/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Anzahl an Neutrophilen im peripheren Blut im Vergleich zu den UL ($p=0,0031$; Median: $4,53 \times 10^3/\mu\text{l}$) sowie S ($p=0,0468$; Median: $7,28 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Das Referenzintervall liegt zwischen $3.6 - 12.75 \times 10^3/\mu\text{l}$.

Lymphozyten

Katzen der US (Median: $0,875 \times 10^3/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Anzahl an Lymphozyten im peripheren Blut im Vergleich zu allen anderen Gruppen: I ($p=0,0001$; Median: $0,48 \times 10^3/\mu\text{l}$), S ($p=0,0001$; Median: $0,755 \times 10^3/\mu\text{l}$), UL ($p=0,0001$; Median: $0,87 \times 10^3/\mu\text{l}$), L ($p=0,0001$; Median: $0,79 \times 10^3/\mu\text{l}$).

Das Referenzintervall liegt zwischen $0,9 - 5,1 \times 10^3/\mu\text{l}$

Monozyten

Katzen der UL (Median: $193/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant niedrigere Anzahl an Monozyten im peripheren Blut im Vergleich zu den anderen Gruppen: US ($p=0,006$; Median: $662,91/\mu\text{l}$), L ($p=0,0002$; Median: $408/\mu\text{l}$), S ($p=0,0013$; Median: $279,61/\mu\text{l}$)

Das Referenzintervall liegt bei $<500/\mu\text{l}$.

Eosinophile

Jene der UL (Median: $297,6/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Anzahl an Eosinophilen im peripheren Blut im Vergleich zu den anderen Gruppen: S ($p=0,0001$; Median: $56,24/\mu\text{l}$), I ($p=0,0001$; Median: $58,36/\mu\text{l}$), L ($p=0,0019$; Median: $156,57/\mu\text{l}$)

Das Referenzintervall liegt bei $<800/\mu\text{l}$.

MPXI

Katzen der I (Median: $25,5$) Gruppe zeigten einen signifikant höheren MPXI im peripheren Blut im Vergleich zu den anderen Gruppen: UL ($p=0,0001$; Median: $17,9$), L ($p=0,0002$; Median: $17,05$), S ($p=0,0043$; Median: $20,9$)

Katzen der US (Median: $26,8$) Gruppe zeigten einen signifikant höheren MPXI im peripheren Blut im Vergleich zu den anderen Gruppen: UL ($p=0,0141$; Median: $17,9$), L ($p=0,0487$; Median: $17,05$).

Lymphoblasten

Feliden der US (Median: $0,03/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Lymphoblasten im peripheren Blut im Vergleich zu allen anderen Gruppen: I ($p=0,0001$; Median: $0,01/\mu\text{l}$), S ($p=0,0001$; Median: $0,01/\mu\text{l}$), UL ($p=0,0001$; Median: $0,01/\mu\text{l}$), L ($p=0,0001$; Median: $0,01/\mu\text{l}$).

Katzen der I (Median: $0,01/\mu\text{l}$) Gruppe zeigten signifikant höhere Lymphoblasten im peripheren Blut im Vergleich zur UL Gruppe ($p=0,0004$; Median: $0,01/\mu\text{l}$).

Juvenile

Katzen der US (Median: 0,03/ μ l) Gruppe zeigten signifikant höhere Lymphoblasten im peripheren Blut im Vergleich zu den anderen Gruppen: UL ($p=0,0001$; Median: 0,01/ μ l), S ($p=0,0001$; Median: 0,01/ μ l), I ($p=0,0001$; Median: 0,01/ μ l), L ($p=0,0001$, Median: 0,01/ μ l)

Jene der I (Median: 0,01/ μ l) Gruppe zeigte signifikant höhere Lymphoblasten im peripheren Blut im Vergleich zu der Gruppe UL ($p=0,0026$; Median: 0,01/ μ l)

Bei den übrigen getesteten Werten Retikulozyten und Basophilen gab es keine statistisch signifikant unterschiedlichen Ergebnisse.

6) Diskussion:

Wie schon anfänglich erwähnt ist die Informationsbreite zu feline gastrointestinalen Lymphomen und deren hämatologische Veränderungen noch eher gering. Wir haben es uns jedoch zur Aufgabe gemacht trotz geringer Studiendichte, eigene Hypothesen und Möglichkeiten aufzustellen, welche die Veränderungen des Blutbildes erklären würden.

Die Blutparameter verhalten sich bei Lymphomkatzen je nach Subtyp, Überlebenszeiten oder Art des Lymphoms unterschiedlich.

In Bezug auf die Überlebenszeiten findet man die meisten signifikanten

Unterschiede im Blutbild, die im Folgenden anhand des roten und weißen Blutbildes sowie der Thrombozyten diskutiert werden.

6.1. Signifikante Unterschiede zwischen B und T-Zell Lymphomen:

Katzen mit B-Zell Lymphomen zeigten eine höhere Neutrophilenzahl als jene mit T-Zell Lymphomen. Beide Mediane lagen allerdings innerhalb des Referenzbereiches. Der statistische Unterschied ist, genauso wie bei den Eosinophilen Granulozyten, die ebenso bei B-Zell Lymphomen eine signifikant höhere Zahl zeigten, nicht eindeutig zu erklären. Klinisch erscheint das aber von wenig Relevanz, da der Referenzwert bei keinem der Werte überschritten wird.

Der MPXI ist bei den T-Zell Lymphomen signifikant höher als bei den B-Zell Lymphomen.

6.2. Signifikante Unterschiede zwischen den WHO Lymphom Entitäten:

Statistisch signifikante Unterschiede fanden wir bei Thrombozyten in den Subtypen der Lymphome untereinander. Auffällig war das EATL-II Patienten höhere Thrombozytenzahlen zeigten als alle anderen Subtypen. Dieses Ergebnis muss aber aufgrund der geringen Anzahl in dieser Entitätengruppe (n=2) mit Vorsicht gedeutet werden und erlaubt keine eindeutige Interpretation.

Leukozyten zeigten signifikante Unterschiede im Vergleich der WHO-Klassifizierten Subtypen zwischen EATL-II, PTCL sowie DLBCL. Die Gruppe der EATL-II Patienten wiesen

Werte oberhalb des Referenzintervalls auf. Wie schon bei den Thrombozyten wird hier ebenfalls auf die geringe Anzahl (n) der EATL-II hingewiesen und lässt somit nur wenig Aussagen zu. Prinzipiell kommen aber dennoch eine Entzündungsreaktion, oder eine Infiltration mit Lymphozyten von der Neoplasie stammend in Frage.

Signifikante Unterschiede der Lymphozyten gab es im Vergleich der Subtypen der T-Zell Lymphome. Die Medianwerte der EATL-I sowie der PTCL Gruppe lagen unter dem Referenzwert. Eine Lymphopenie lag vor, wobei die Lymphozytenzahl der EALT-I Patienten signifikant höher war. Chronische Entzündung, die aufgrund der GI Symptomatik sicher besteht, kommt als wahrscheinlichste Interpretation in Frage, da eine Lymphopenie ein Charakteristikum des Entzündungsleukogramms ist.

EATL-II Patienten zeigten eine Monozytose. Katzen mit diesem Subtypus zeigten dazu noch höhere Monozytenzahlen als jene vom Typus PTCL oder DLBCL.

Eine Monozytose ist oft bei Lymphomen ein häufiger hämatologischer Befund, aufgrund von Stressleukogramm sowie durch Nekrosen, welche durch eine Neoplasie verursacht werden können (7).

6.3. Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen nach Überlebenszeit:

In dieser Gruppe zeigten sich als Einzige statistisch signifikante Unterschiede im roten Blutbild.

Der Median der Erythrozyten der ultrashort Gruppe lag als Einziger unterhalb des unteren Referenzwertes. Eine Anämie lag vor. Diese kann eventuell eine Blutungsanämie sein, die während der operativen Entfernung des gastrointestinalen Lymphoms entstanden sein könnte. Wahrscheinlicher ist aber, dass aufgrund der chronischen GI-Symptome, welche durch das Lymphom hervorgerufen wurden, es zu chronischem Blutverlust gekommen ist oder eine Anämie aufgrund der chronischen Erkrankung vorlag.

Die Anzahl der Erythrozyten zeigte, dass sich mit steigender Überlebenszeit auch die Erythrozyten wieder in den Referenzbereich bewegten.

In Bezug auf den Hämoglobinwert zeigten keine der Gruppen Medianwerte außerhalb des Referenzintervalls. Es zeigte sich dennoch, dass die Gruppe der ultralong Überlebenden signifikant höhere Hgb Konzentrationen im peripheren Blut aufwiesen als alle anderen

Gruppen. Das gilt ebenso für den Hämatokrit. Somit zeigen diese lang überlebenden Katzen keine Anämie mehr. Das kann aufgrund der erfolgreichen Chemotherapie der Fall sein, wobei eine mögliche Dehydratation der Patienten natürlich in der Interpretation bei chronischer Erkrankung die Werte verschleiern kann.

Die Thrombozytenzahlen waren in der Gruppe der ultrashort oberhalb des Referenzintervalls. Die anfänglich erhöhte Anzahl der Thrombozyten im Vergleich zu den Gruppen mit einer höheren ÜLZ, könnte ihren Ursprung in der anfänglichen höheren Aktivität des Knochenmarks nehmen, welches aufgrund von Blutverlusten oder der chronischen Entzündung durch die Erkrankung aufgetreten sein könnte.

Die Thrombozyten bewegen sich in den anderen Überlebensgruppen innerhalb des Referenzbereiches. Minimum Werte dieser Gruppen bewegten sich allerdings bis zu einem Wert von $11 \times 10^3/\mu\text{l}$ und eine hochgradige Thrombozytopenie lag so vor.

Diese könnte erklärt werden durch Läsionen, die sich im Verlauf der Krankheit durch Rezidive im Magen-Darmtrakt bilden können, und so zu Blutungen und einem Verbrauch der Thrombozyten führen kann. Eine weitere und die wahrscheinlichste Ursache der Thrombopenie, ist der Einsatz von Zytostatikern bei einer Chemotherapie.

Thrombozytopenien können ebenfalls durch eine virale Infektion zu Stande kommen. Zum Beispiel durch die Infektion mit dem FeLV-Virus, welche in der Vergangenheit eine häufige Ursache für ein Lymphom bei Katzen waren. Gegenwärtig ist das aber aufgrund der Impfung gegen FeLV weniger von Relevanz. Auch in der vorliegenden Population waren 31/32 Katzen FeLV negativ.

Die Untersuchungen der Leukozyten ergab eine signifikant höhere Leukozytenzahl im Sinne einer Leukozytose bis zu $79.9 \times 10^3/\mu\text{l}$ der ultrashort überlebenden (< 10 Tage) Katzen im Vergleich zu allen anderen Überlebensgruppen. Dies kann daran liegen, dass durch akute Entzündungen, welche durch eine eventuelle postoperative entstandene Sepsis hervorgerufen wurde, die Leukozytenzahl drastisch angestiegen ist. Ebenso würden perforierte Darmteile sowie hochgradige Entzündungen zum Zeitpunkt der Vorstellung diese Werte erklären.

Eine durch das Lymphom hervorgerufene Beteiligung des Knochenmarks würde die abnehmenden Werte gleichermaßen erklären.

In keiner der Überlebensgruppen zeigte sich eine Linksverschiebung im Differenzialblutbild der Patienten. Bei Katzen der ultrashort Gruppe fanden wir dennoch eine höhere Anzahl Stabkerniger im Blut. Deshalb ist davon auszugehen, dass die Stabkernigen ebenfalls bei den Katzen mit einer Überlebenszeit von weniger als zehn Tagen so drastisch erhöht sind, da es eventuell postoperativ zu einer möglichen Nahtdehiszenz und so zu einer septischen Peritonitis gekommen ist, wodurch in der Peripherie Stabkernige zu sehen waren.

Zu der Lymphoblasten und Juvenilen Zellzahl ist zu sagen, dass diese gemeinsam mit dem MPXI in der Gruppe der kurzüberlebenden Patienten am signifikant höchsten waren. Das ist wiederum durch die akute Entzündung durch Lymphom oder septischen Entzündung postoperativ einerseits und durch eine schon bestehende mögliche periphere Lymphominfiltration andererseits zu erklären.

Die Neutrophilen lagen mit Ausnahme der ultrashort Überlebensgruppe, die eine Neutrophilie zeigte, innerhalb des Referenzintervalls.

Diese nur kurz überlebenden Patienten zeigten ein akutes Entzündungsleukogramm, das zu den vermehrten, oben beschriebenen Stabkernigen und zu einer möglichen Nahtdehiszenz sowie zu einer septischen Peritonitis passt. Je länger die Katzen überlebten, umso niedriger wurde die Neutrophilenzahl in der Peripherie. Eingesetzte Chemotherapeutika, sind sehr wahrscheinlich verantwortlich für diese Zahl der Neutrophilen.

Lymphozyten zeigten in allen Gruppen Medianwerte, welche eine Lymphopenie zeigen. Das passt wiederum zu dem oben beschriebenen Entzündungsleukogramm, das durch Neutrophilie, Lymphopenie und Monozytose definiert ist.

Katzen der ultrashort Gruppe wiesen als einzige Überlebensgruppe eine Monozytose auf.

Über die Dauer der Krankheit scheinen die Werte ebenfalls systematisch zu fallen, sodass Katzen vom ultralong Typ die geringsten Werte aufwiesen.

Eine Monozytose ist bei Lymphomen ein häufiger hämatologischer Befund. Grund für die Monozytose als Teil des Stress- oder Entzündungsleukogramms sind Entzündungen, Nekrosen oder paraneoplastische Syndrome, die durch die Neoplasie verursacht werden (7).

Eosinophile zeigten keine Werte außerhalb des Referenzintervalls an. Sie steigen in unseren Aufzeichnungen aber an, je länger die Patienten überleben.

Ursächlich für einen Anstieg der Eosinophilen Granulozyten im Blut können unter anderem chronische Entzündungen des Magen-Darm-Traktes sein, sowie Parasiten oder

paraneoplastische Syndrome. Da die lang überlebenden Patienten in fast allen Fällen an einem Lymphomrezidiv verstarben, oder euthanasiert wurden, ist Paraneoplasie in diesen Patienten der wahrscheinlichste Grund.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die gefundenen hämatologischen Veränderungen bei den untersuchten Katzen mit Lymphomen sich auf Veränderungen, die diese gastrointestinale Erkrankung mit sich bringt, stützen. Sie können Ausdruck auf Reaktionen des Körpers, wie chronisches Entzündungsgeschehen, Anämien, die gastrointestinalen Veränderungen oder Chemotherapeutikawirkungen sein.

Ein möglicher prognostisch relevanter Ansatz ist, dass das Auftreten von Stabkernigen, Lymphoblasten, Juvenilen und ein erhöhter MPXI, welche nur bei kurz überlebenden Patienten zu sehen waren sicherlich prognostisch negativ zu bewerten ist. Ebenso ist die steigende Eosinophilenzahl bei längerer Überlebensdauer, wenn auch nicht über dem Referenzwert, ein möglicher Ansatz, der in Zukunft zum Monitoren dienen könnte.

7.) Anhang

Tabelle 1 – Statistisch signifikante Unterschiede innerhalb der Untersuchungsgruppen Immunphänotyp (B-T-Zell), Entität (WHO-Klassifizierung: DLBCL, PTCL, EATL-I, EATLII) und der 5 Überlebenszeit-Gruppen (ultrashort, short, intermediate, long, ultralong) von Erythrozyten (RBC), Hämoglobin (Hgb), Hämatokrit (Hkt), absolute Retikulozytenzahl (Retic abs), Thrombozyten (PLT), Leukozyten (TWBC), Myeloperoxidaseindex (MPXI), Stabkernige (Band), Neutrophile (Neut), Lymphozyten (Lymph), Monozyten (Mono), Eosinophile (Eo), Basophile (Baso), Lymphoblasten (LB), Juvenile (Juv). Signifikanzniveau $p < 0.05$

significant p-Values			
	B-T-Zell	WHO-Klassifikation	ÜLZ
RBC	X	X	UL - US: 0,001 L - US: 0,0208 UL - S: 0,0001 UL - INTER: 0,0001
Hgb	X	X	UL - US: 0,0010 UL - S: 0,0001 UL - INTER: 0,0001 UL - L: 0,0001
Hkt	X	X	UL - US: 0,0027 UL - S: 0,0001 UL - INTER: 0,0001 UL - L: 0,0008
Retic abs	X	X	X
PLT	X	EATL2 - DLBCL: 0,0001 EATL2 - PTCL: 0,0003 EATL2 - EATL1: 0,0006	US - UL: 0,0026 US - L: 0,0371 S - UL: 0,0001 INTER - UL: 0,0009
TWBC	X	EATL2 - PTCL: 0,0037 EATL2 - DLBCL: 0,0401	US - UL: 0,0001 US - S: 0,0001 US - INTER: 0,0001 US - L: 0,0001 L - UL: 0,0121 INTER - UL: 0,019
MPXI	T- B: 0,0001	EATL1- DLBCL: 0,005	US - UL: 0,0141 US - L: 0,0487 INTER - UL: 0,0001 INTER - L: 0,0002 INTER - S: 0,0043
Band	X	X	US - UL: 0,0001 US - S: 0,0001 US - INTER: 0,0001 US - L: 0,0001
Neut	B - T: 0,0297	X	US - UL: 0,0031 INTER - UL: 0,0001 US - S: 0,0468 INTER - S: 0,0001 INTER - L: 0,0071
Lymph	X	EATL1- PTCL: 0,0431	US - INTER: 0,0001 US - S: 0,0001 US - UL: 0,0001 US - L: 0,0001
Mono	X	EATL2 - PTCL: 0,0119 EATL2 - DLBCL: 0,01	US - UL: 0,006 L - UL: 0,0002 S - UL: 0,0013
Eos	B - T: 0,0014	X	UL - S: 0,0001 UL - INTER: 0,0001 UL - L: 0,0019
Baso	X	X	X
LB	X	EATL2 - PTCL: 0,036	US - UL: 0,0001 US - S: 0,0001 US - L: 0,0002 US - INTER: 0,0002 INTER - UL: 0,0004
Juv	X	EATL2 - PTCL: 0,0062 EATL2 - DLBCL: 0,0494	US - UL: 0,0001 US - S: 0,0001 US - INTER: 0,0001 US - L: 0,0001 INTER - UL: 0,0026

Tabelle 2 – Auflistung aller 33 Patienten in Zusammenhang gesetzt mit Anzahl der Untersuchungen von der Diagnosestellung bis zum Zeitpunkt des Ablebens (ein Patient Nr 25 noch am Leben), der Einteilung nach Überlebenszeit in die 5 Gruppen sowie der Überlebenszeit in Tagen/Patient. Beschreibung der Überlebenszeitgruppen ultralong, long, intermediate, short und ultrashort nach Anzahl (n), Minimum (min), Maximum (max), Median und Mean der Anzahl der Untersuchungen und Überlebenszeit.

Katzen Nr	Unter- suchungen Anzahl	Überlebens- zeit Tage	Überlebens- zeit Tage
1	30	ultralong	499
2	16	intermediate	145
3	14	short	75
4	18	intermediate	115
5	12	intermediate	123
6	10	short	87
7	16	intermediate	128
8	5	ultrashort	10
9	15	short	100
10	15	short	89
11	8	intermediate	143
12	15	intermediate	136
13	10	short	53
14	3	ultrashort	4
15	13	short	58
16	29	ultralong	983
17	42	ultralong	1135
18	60	ultralong	1939
19	58	ultralong	1064
20	21	long	273
21	35	ultralong	957
22	3	ultrashort	5
23	26	ultralong	488
24	19	long	217
25	38	ultralong	lebt April 2024
26	3	ultrashort	3
27	11	short	65
28	1	ultrashort	1
29	8	short	43
30	35	ultralong	450
31	17	long	222
32	19	intermediate	114
33	12	short	58

ultralong (> 365 Tage) UL
long (180-365 Tage) L
intermediate (100-180 Tage) I
short (10-100 Tage) S
ultrashort(1-10 Tage) US

8.) Literaturverzeichnis

Literatur

1. Moore PF, Rodriguez-Bertos A, Kass PH. Feline gastrointestinal lymphoma: mucosal architecture, immunophenotype, and molecular clonality. *Vet Pathol* 2012; 49(4):658–68. doi: 10.1177/0300985811404712.
2. Guzera M, Cian F, Leo C, Winnicka A, Archer J. The use of flow cytometry for immunophenotyping lymphoproliferative disorders in cats: a retrospective study of 19 cases. *Vet Comp Oncol* 2016; 14 Suppl 1:40–51. doi: 10.1111/vco.12098.
3. Valli VE, San Myint M, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F et al. Classification of canine malignant lymphomas according to the World Health Organization criteria. *Vet Pathol* 2011; 48(1):198–211. doi: 10.1177/0300985810379428.
4. Wolfesberger B, Fuchs-Baumgartinger A, Greß V, Hammer SE, Gradner G, Knödl K et al. World Health Organisation Classification of Lymphoid Tumours in Veterinary and Human Medicine: a Comparative Evaluation of Gastrointestinal Lymphomas in 61 Cats. *J Comp Pathol* 2018; 159:1–10. doi: 10.1016/j.jcpa.2017.12.006.
5. Barbara C Rütgen, Birgitt Wolfesberger, Daniel Baumgartner, Sabine E Hammer, Sandra Groiss, Andrea Fuchs-Baumgartinger, Taryn Donovan, Ilse Schwendenwein. Flowcytometric data of intermediate-large cell gastrointestinal lymphoma presenting a gross mass in 32 cats - "let them glow in the flow". *Front Vet Sci* 2024 11:1378826. doi: 10.3389/fvets.2024.1378826. eCollection 2024.
6. Wolfesberger B, Skor O, Hammer SE, Flickinger I, Kleiter M, Rütgen BC et al. Does categorisation of lymphoma subtypes according to the World Health Organization classification predict clinical outcome in cats? *J Feline Med Surg* 2017; 19(8):897–906. doi: 10.1177/1098612X16666119.
7. Stockham SL, Scott MA, Hrsg. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2., Aufl. New York, NY: Wiley, J; 2008.

