

Radikal-chirurgische en-bloc Resektion feliner
injektionsassoziierter Sarkome: eine retrospektive
Analyse von 131 Fällen

von Nina Müller geb. Wimmer

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Radikal-chirurgische en-bloc Resektion feliner injektionsassoziierter
Sarkome: eine retrospektive Analyse von 131 Fällen

von Nina Müller

aus Würzburg

München 2020

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Angefertigt in der Tierklinik Hofheim

Mentor: Dr. Martin Kessler

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Johannes Hirschberger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Susanne Lauer

Tag der Promotion: 25.07.2020

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	2
1.	Feline injektionsassoziierte Fibrosarkome.....	2
1.1.	Epidemiologie	2
1.2.	Historie des Fibrosarkoms.....	3
1.3.	Ätiologie.....	3
1.3.1.	chronische Entzündungsreaktion	4
1.3.2.	genetische Prädisposition	5
1.3.3.	virale Ätiologie.....	6
1.4.	Erscheinungsbild und biologisches Verhalten	6
1.5.	Diagnose.....	8
1.5.1.	Histologische Diagnose.....	8
1.6.	Prävention und Impfpfhlung.....	9
2.	Therapie feliner injektionsassoziiertes Sarkome	11
2.1.	Chirurgie.....	11
2.2.	Strahlentherapie.....	17
2.3.	Chemotherapie	18
2.4.	Immuntherapie	20
III.	LETTER OF ACCEPTANCE	22
IV.	PUBLIKATION	23
V.	DISKUSSION	34
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	45
VII.	SUMMARY.....	47
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	49
IX.	DANKSAGUNG	61

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AST	Aspartat-Aminotransferase
AW	Abdomenwand
α -SMA	α -smooth-muscle-actin
BW	Brustwand
b-FGF	Fibroblastenwachstumsfaktor
CKD	chronic kidney disease
cm	Zentimeter
d	Tage
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DFI	disease free-intervall
EAID ₅₀	Elisa infectious doses 50%
FeIFN	felines Interferon
feGM-CSF	feliner Granulozyten-Makrophagen stimulierender Faktor
feIL	felines Interleukin
FeLV	felines Leukämievirus
FISS	feline injection site sarcoma
GM	Gliedmaße
huIL	humanes Interleukin
IE	internationale Einheit
IS	interskapular
KOF	Körperoberfläche
M	musculus
MHC	major histocompatibility complex
mm	Millimeter

Abkürzungsverzeichnis

Mo	Monate
n	Anzahl
NR	not reported
p53	Tumor Suppressorprotein
PDGF	Thrombozytenwachstumsfaktor
PCR	Polymerase-Kettenreaktionen
rFeIFN	rekombinantes felines Interferon
RR	recurrence rate
RT	radiation therapy
SD	Standardabweichung
ST	survival time
TGF- α	transformierender Wachstumsfaktor- α
TP	Therapie
VASTF	Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force
vs	versus

I. Einleitung

Seit Anfang der 90er Jahre werden bei Katzen Weichteilsarkome an typischen Injektionslokalisationen beschrieben (Hendrick et al., 1992). Diese werden im angloamerikanischen Sprachgebrauch als „feline Sarkome an Injektionslokalisationen“ (feline injection site sarcoma; FISS) bezeichnet (Tennant, 2000), wobei ihre genaue Ätiologie, Prophylaxe und optimale Therapie Gegenstand teilweise kontroverser Diskussionen sind.

Therapeutisch gilt die Chirurgie als Goldstandard und erreicht im Vergleich zu anderen Therapiemethoden die längsten rezidivfreien Intervalle und Überlebenszeiten. Die Rezidivraten können je nach Methode der Operation und adjuvanter Therapien bis auf unter 20% gesenkt werden.

In dieser Studie wurde eine große Anzahl an Patienten mit histologisch verifizierten Fibrosarkomen an typischen Impflokalisationen untersucht. Neben rezidivfreien Zeiten, Überlebenszeit und Rezidivrisiko wurden prognostische Parameter wie Tumorgöße und tumorzellfreie Resektionsränder untersucht.

Ziel der Untersuchung war es, eine große Patientenzahl und damit statistisch aussagekräftige Daten zu bekommen. Besonderes Augenmerk lag auf der Länge der postoperativen rezidivfreien Zeit, der Überlebenszeit und der Rezidivrate bei standardisierter Operationstechnik, um für betroffene Besitzer eine bessere Entscheidungsgrundlage für oder gegen eine chirurgische Behandlung zu bieten. Auch sollten die ermittelten Daten für zukünftige Studien als Vergleichsgrößen („historische Kontrollen“) verwendet werden können.

II. Literaturübersicht

1. Feline injektionsassoziierte Fibrosarkome

1.1. Epidemiologie

Feline injektionsassoziierte Fibrosarkome (FISS) gehören mit zu den häufigsten bei der Katze diagnostizierten Hauttumoren (Brown et al., 1978; Patnaik et al., 1975), wobei die Inzidenz mit 0,63/10.000-1/1.000 Katzen bzw. 1/1000 bis 0,32/10.000 Vakzinationen angegeben wird (Hendrick et al., 1991; Coyne et al., 1997; Kass et al., 1993; Hendrick & Brooks, 1994; Lester et al., 1996; Gobar & Kass, 2002; Wilcock et al., 2012).

In den frühen 90er Jahren wurde man in den USA nach Erlass einer Tollwutimpfpflicht bei Katzen auf einen signifikanten Anstieg der Inzidenz von Fibrosarkomen an typischen Impflokalisationen aufmerksam (Hendrick & Dunagan, 1991; Hendrick et al., 1992; Kass et al., 1993; Hendrick & Brooks, 1994). Zeitgleich wurden die Tollwutimpfstoffe von Lebendimpfstoffen auf inaktivierte Impfstoffe umgestellt (Morrison et al., 2001).

Die Tumoren treten der Literatur zufolge 3 Monate bis 3 Jahre nach Impfungen auf (Gobar & Kass, 2002; Seguin, 2002). In einer Auswertung der Fälle im Zeitraum von 1986-1989 stellten Fibrosarkome 14,7 % der Hauttumoren bei Katzen dar und wurden primär an den Gliedmaßen (37%) und im Kopfbereich (33%) beschrieben, erst an 3. Stelle traten mit 26% die Tumoren am Rumpf auf (Miller et al., 1991). Die Tumoren treten bei Tieren jeden Alters auf, jedoch sind meist Tiere zwischen dem 8. und 12. Lebensjahr betroffen (Hendrick et al., 1992; Doddy et al., 1996). Verglichen mit den Angaben aus dem Zeitraum von 1993-1996 konnte für den Auswertungszeitraum von 2009-2010 ein leichter Anstieg des Durchschnittsalters betroffener Katzen von 9,4 Jahre auf 10,5 Jahre verzeichnet werden, was keine inhärente Eigenschaft der Erkrankung selbst ist, sondern vielmehr mit der allgemein höheren Lebenserwartung der heutigen Katzenpopulation erklärt wird (Miller et al., 1991; Wilcock et al., 2012). Für FISS gibt es weder eine Rasse- noch Geschlechtsprädisposition (Miller et al., 1991; Hendrick et al., 1992; Doddy et al., 1996; Couto et al., 2002).

1.2. Historie des Fibrosarkoms

Nach dem Bekanntwerden des gehäuften Auftretens von Fibrosarkomen an typischen Impflokalisationen bei Katzen wurde in den USA eine „Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force“ (VASTF) gebildet, die es sich zur Aufgabe machte, kausale, therapeutische und prognostische Faktoren dieses Tumors zu untersuchen und Veterinärmediziner sowie die Öffentlichkeit aufzuklären. Auf Grundlage der gewonnenen Ergebnisse wurden seitens dieser Task Force Empfehlungen zur Behandlung und Abklärung sowie Prophylaxe der Tumoren gegeben (Morrison et al., 2001). Die Empfehlungen der Task Force beinhalteten eine Vermeidung von Injektionen in der Interskapularregion sowie eine Vakzinierung distal des Kniegelenks. In der Folgezeit wurde eine Abnahme der Häufigkeit des Auftretens von Fibrosarkomen in der interskapularen Region und eine zeitgleiche Zunahme im Bereich der Hintergliedmaßen distal des Kniegelenks festgestellt, eine allgemeine Verminderung der Prävalenz des Tumors hingegen konnte nicht festgestellt werden (Shaw et al., 2009). Auch Hendrick et al. verglichen die Lokalisation der Fibrosarkome nach Erlass der Impfbestimmungen und konnten einen signifikanten Anstieg der Häufigkeit des Auftretens an typischen Impflokalisationen wie Nacken, Brustkorb, Interskapularregion und Oberschenkel, bei gleichbleibender Anzahl der Fibrosarkome, an nicht typischen Injektionslokalisationen feststellen (Hendrick & Dunagan, 1991; Hendrick & Brooks, 1994).

1.3. Ätiologie

Die Ätiologie des Tumors ist nach wie vor noch nicht abschließend geklärt. Heute wird vermutet, dass bei der Tumorentstehung verschiedene Faktoren eine Rolle spielen.

Initial wurden attenuierte Impfstoffe gegen das feline Leukämievirus (FeLV) und Tollwut ursächlich für die Entstehung der Sarkome gesehen (Hendrick & Goldschmidt, 1991; Kass et al., 1993; Hendrick & Brooks, 1994; Hendrick et al., 1994; Macy & Hendrick, 1996). Kurz darauf wurden Berichte bekannt, nach denen Katzen, die nur Impfstoffe gegen Panleukopenie bzw. Katzenschnupfen, Injektionen mit anderen Präparaten oder Irritationen des Gewebes erfahren hatten, ebenfalls Sarkome

entwickelten (Lester et al., 1996, Coyne et al., 1997; Mc Entee & Page, 2001; Buracco et al., 2002; Gobar & Kass, 2002; De Man & Ducatelle, 2007).

Nachdem Aluminium in tumor-assoziierten Makrophagen nachgewiesen wurde, wurde dieses Adjuvans ebenso wie die periphere Entzündung um die Injektionsstelle als möglicher Auslöser der Kanzerogenese vermutet (Hendrick et al., 1992; Hendrick & Brooks, 1994; Madewell et al., 2001; Couto et al., 2002). Day et al. untersuchten die Entzündungsreaktion in der Subcutis nach Vakzinationen mit und ohne aluminiumhaltiges Adjuvans. Hierbei fiel auf, dass aluminiumhaltige Adjuvanzen eine stärkere und länger im Gewebe nachweisbare Entzündungsreaktion auslösten als aluminiumfreie Vakzinationen (Day et al., 2007). Aluminium wurde als alleiniger Auslöser der Tumorentstehung jedoch ausgeschlossen, nachdem auch Katzen nach aluminiumfreien Vakzinationen Sarkome entwickelten (Kass et al., 1993).

1.3.1. Chronische Entzündungsreaktion

Als sicher gilt, dass die durch die Impfung entstandene Entzündungsreaktion die tumoröse Entartung von Fibroblasten fördert (Hendrick et al., 1992; Doddy et al., 1996; Kidney et al., 2002). In einer Untersuchung zur Pathogenese der FISS konnten Übergangsstadien von granulomatöser Entzündungsreaktion zu Sarkomen nachgewiesen werden, was diese Theorie unterstützte (Hendrick, 1998). Eine retrospektive Studie bei 345 Katzen zeigte, dass das Risiko eines Sarkoms nach einmaliger Impfung in der Interskapularregion im Vergleich zu ungeimpften Tieren um 50% höher war, bei zweimaliger Impfung auf 127% und bei drei- oder viermaliger Impfung in derselben Region auf 175% anstieg (Kass et al., 1993).

Zur Pathogenese der injektionsassoziierten Fibrosarkome wird vermutet, dass es nach Injektionen lokal zu einer persistierenden Entzündungsreaktion kommt, die wiederum über Zytokine und Proliferation von Fibroblasten, Myofibroblasten und deren maligner Entartung zur Tumorenstehung führen kann (Hendrick et al., 1994; Macy & Hendrick, 1996; Hendrick, 1998; Mc Entee & Page 2001, Martano et al., 2011). Wachstumsfaktoren, deren Rezeptoren in tumor-assoziierten Lymphozyten und Makrophagen vermehrt nachgewiesen wurden, scheinen ebenfalls an der Kanzerogenese beteiligt zu sein (Hendrick, 1998; Mc Entee & Page, 2001). Hierzu gehören die Überexpression des Thrombozytenwachstumsfaktors PDGF (Hendrick et

al., 1994), des Fibroblastenwachstumsfaktors b-FGF und des transformierenden Wachstumsfaktors TGF- α (Nieto et al., 2003).

Der generelle Zusammenhang zwischen reaktiven Entzündungsreaktionen und Fibrosarkomen erklärt auch, weshalb die Tumoren gelegentlich auch nach Injektionen anderer Substanzen, wie beispielsweise Depotmedikamenten, auftreten können (Esplin et al., 1993; Srivastav et al., 2012). In Einzelfällen wurden sie auch im Zusammenhang mit der Injektion von Cisplatin (Martano et al., 2011) oder Meloxicam (Munday et al., 2011), nach Applikation eines Langzeitantiparasitikums (Esplin et al., 1993), sowie im Bereich eines Mikrochips (Carminato et al., 2011), intraabdominal um einen zurück gelassenen chirurgischen Tupfer (Haddad et al., 2010), im Bereich von verbliebenem chirurgischen Nahtmaterial (Buracco et al., 2002) und als posttraumatische intraokuläre Fibrosarkome (Dubielzig et al., 1990) beschrieben. In einer Untersuchung an 181 Katzen konnten Srivastav et al. ein signifikant höheres Risiko nach Impfungen (insbesondere adjuvanshaltige) im Vergleich zu anderen Injektionen bestätigen (Srivastav et al., 2012).

1.3.2. Genetische Prädisposition

Neben der reaktiven Entzündung nach Injektionen wird als Voraussetzung für die Tumorentstehung auch eine genetische Prädisposition vermutet (Madewell et al., 2004; Banerji et al., 2007). Es konnte bei miteinander verwandten Katzen ein häufigeres Vorkommen der Fibrosarkome beobachtet werden (Martano et al., 2005). Weiterhin fällt auf, dass einige Katzen wiederholt an verschiedenen Injektionsstellen Sarkome bzw. zusätzlich andere Tumoren entwickeln, was eine genetische Prädisposition nahe legt (Madewell et al., 2004).

Der Nachweis einer Überexpression des p53 Proteins bei injektionsassoziierten Fibrosarkomen lässt eine Beteiligung dieses Tumorsuppressorproteins in der Tumorentstehung vermuten (Nambiar et al., 2001; Nieto et al., 2003). p53 hat diverse Funktionen zur Regulation des Zellzyklus, unter anderem Stillstand des Zellzyklus zur Reparatur schadhafter DNA und Initiation der Apoptose bei starker oder irreparabler Schädigung der DNA (Levine, 1997). Mehrere Untersuchungen konzentrieren sich auf die Rolle des p53 Proteins in der Tumorentstehung. Nieto et al. untersuchten 50 Proben feliner injektionsassoziiertes Sarkome und konnten in 56% der Nuclei der Proben eine Überexpression des p53 nachweisen (Nieto et al., 2003). Banerji et al.

konnten eine Korrelation zwischen Sequenzvariationen des p53 Gens und dem Auftreten von FISS feststellen (Nambiar et al., 2001; Banjeri et al., 2007). Sie stellten in einer Untersuchung heraus, dass Katzen mit Defekt des p53 Gens früher Rezidive entwickeln und eine kürzere Überlebenszeit haben (Banjeri et al., 2007). Auch Hershey et al. untersuchten bei 80 Katzen mit FISS das Auftreten des p53 Proteins und konnten feststellen, dass Katzen, bei denen das p53 Protein im Zytoplasma nachgewiesen werden konnte, eine signifikant kürzere rezidivfreie Zeit hatten (Hershey et al., 2005). Somit scheint p53 zumindest als prognostischer Wert von Bedeutung zu sein.

1.3.3. Virale Ätiologie

Ein kausaler Zusammenhang zwischen FISS und einer viralen Ätiologie konnte weitestgehend ausgeschlossen werden. Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) bei Fibrosarkomen zeigten keinen Hinweis auf Virusgenom in den Tumoren (Kidney et al., 2000; Kidney et al., 2001; Kidney et al., 2002).

Somit erscheint die Tumorentstehung ein multifaktorielles Geschehen aus allgemeinen Noxen, die eine lokale Entzündungsreaktion hervorrufen, gemeinsam mit genetischen Faktoren und Promotoren wie Zytokinen und Wachstumsfaktoren zu sein (Hendrick et al., 1994; Nambiar et al., 2001; Seguin, 2002; Nieto et al., 2003; Banjeri et al., 2007).

1.4. Erscheinungsbild und biologisches Verhalten

Abhängig von der Injektionslokalisation liegen die Tumoren im deutschsprachigen Raum meist im interskapularen Bereich und im Bereich der seitlichen Brust-/bzw. Bauchwand (Haas, Dissertation, 2008). Deutlich seltener werden Fibrosarkome am Kopf, Schwanz und den Gliedmaßen gefunden (Hendrick et al., 1994; Doddy et al., 1996). Die Lokalisation im US-amerikanischen Raum differiert hier insofern, als zwischen 8 und 20 Prozent der Tumoren an den Gliedmaßen auftreten (Davidson et al., 1997; Cronin et al., 1998; Hershey et al., 2000; Kobayashi et al., 2002; Phelps et al., 2011).

Je nach Injektionsverfahren liegen die Tumoren intramuskulär oder subcutan (Hendrick & Dunagan, 1991; Hendrick et al., 1992). Der Tumor ist knotig-derb und

wächst stark infiltrativ, obwohl er initial palpatorisch oft gut abgrenzbar erscheint (Couto et al., 2002). Bei sehr großen Sarkomen kann es zur Ulzeration der bedeckenden Cutis kommen, wobei sich häufig bräunliches Sekret entleert (Couto et al., 2002; Kempf, Dissertation, 2005).

Fibrosarkome bilden lange Tumorausläufer, die sich weit ins gesunde Gewebe erstrecken, ohne makroskopisch erkennbar zu sein. Computertomographische Untersuchungen zeigen, dass die tatsächliche Ausdehnung des Tumors unterschätzt wird. In der bildgebenden Untersuchung erwies sich der Tumor häufig doppelt so groß als vorher ausgemessen (Mc Entee, 2000). Mit zunehmender Größe des Tumors kommt es durch makroskopische Infiltration zur Verwachsung mit den tiefer liegenden Gewebeschichten sowie zu Veränderungen der den Tumor bedeckenden Haut, einhergehend mit Hautausdünnung, Fellverlust und Ulzeration. Neben soliden Anteilen finden sich intratumoral auch mit Flüssigkeit gefüllte Kavitäten und nekrotische Areale. Letztere werden als Zeichen schnellen Tumorwachstums gedeutet (Couto et al., 2002).

Die Metastasierungsrate wurde initial mit 5-10% angegeben. Neuere Untersuchungen zeigen, dass die Metastasierungsrate mit längerer Dauer der Erkrankung und höherer Rezidivierungshäufigkeit mit 10-28% jedoch deutlich höher ist (Hershey et al., 2000; Macy & Couto, 2001). Weiterhin scheint das Risiko einer Metastasierung mit der Verbesserung der Therapieverfahren und damit der Überlebenszeit betroffener Patienten zu steigen (Wilcock et al., 2012). Metastasen entstehen primär in der Lunge sowie in den Lymphknoten, können aber auch in anderen Lokalisationen, wie beispielsweise intraabdominal auftreten (Rudmann et al., 1996; Briscoe et al., 1998; Kobayashi et al., 2002; Davis et al., 2007; Kamenica et al., 2008; Mowat et al., 2012). Bedingt durch ihr lokal invasives Wachstum haben die Tumoren auch nach weiter Resektion eine hohe Rezidivneigung von bis zu 68% (Hendrick et al., 1992; Hendrick & Brooks, 1994; Rudman et al., 1996; Cronin et al., 1998; Kobayashi et al., 2002).

1.5. Diagnose

Laut den Empfehlungen der VASTF gilt jede Umfangsvermehrung an einer typischen Impflokalisation als potentiell Fibrosarkom und soll mit einer Biopsie weiter abgeklärt werden. Eine Impfreaktion, die länger als 3 Monate nach Injektion bestehen bleibt,

größer als 2 cm im Durchmesser ist und/oder 1 Monat nach Injektion eine Größenzunahme zeigt, sollte nach vorheriger Biopsie entfernt werden (Morrison et al., 2001). Hierbei empfiehlt sich eine Stanzbiopsie oder chirurgische Biopsie eher als eine Feinnadelbiopsie, da diese als unverlässliche diagnostische Maßnahme angesehen wird (Morrison et al., 2001). Die Biopsie sollte so entnommen werden, dass der Biopsiekanal bei positivem Befund chirurgisch mit entfernt wird, da in diesen bei der Biopsieentnahme Tumorzellen verschleppt worden sein können (Seguin, 2002). Bei positivem Befund der Biopsie sind weitere präoperative staging Schritte sinnvoll. Hierzu zählen röntgenologische oder computertomographische Untersuchungen des Thorax zum Ausschluss von Lungenmetastasen und eine sonographische Untersuchung des Abdomens zum Ausschluss von intraabdominalen Metastasen. Weiterhin sind präoperativ eine hämatologische sowie klinisch-chemische Blutuntersuchung zu empfehlen (Morrison et al., 2001). Einige Autoren empfehlen eine computertomographische Untersuchung des Tumorbereiches, um die Tumorausdehnung besser darzustellen, was als hilfreich für die Operationsplanung angesehen wird (Martano et al., 2005; Giudice et al., 2010; Zabielska-Koczywas, 2018).

1.5.1. Histologische Diagnose

Die Tumoren bestehen aus spindelförmigen oder pleomorphen fibroblastischen Zellen, die in Bündeln angeordnet sind und dünne Ausdehnungen ins kollagene Interstitium aufweisen. Die Nuclei sind längsoval, kegelförmig oder irregulär mit viel Euchromatin und prominenten Nucleoli. Das endoplasmatische Reticulum ist oft erweitert und enthält fibrogranuläres Material. Vereinzelt werden primitive Zellverbindungen nachgewiesen. Häufig sind runde bis polygonale histiozytäre Zellen mit reichlich Mitochondrien, unterschiedliche Menge an rauem endoplasmatischen Retikulum und zahlreichen Lysosomen, sowie mehrkernige, vakuolierte Riesenzellen, Myofibroblasten und pleomorphe histiozytäre Zellen mit Atypien nachweisbar (Madewell et al., 2001). Anisozytose und Anisokaryose können ebenfalls häufig nachgewiesen werden (Hendrick & Brooks, 1994; Madewell, 2001). In den Tumor-assoziierten Makrophagen findet sich teilweise phagozytiertes blau-graues Material, welches mikroanalytisch als Aluminium identifiziert werden konnte (Hendrick et al., 1992, Hendrick & Brooks, 1994).

Couto et al. (2002) unterteilten die Fibrosarkome analog der Einteilung für Weichteilsarkome des Hundes. Dieses Schema teilt die Tumoren aufgrund des Differenzierungsgrades der Zellen, dem Maß der Nekrose und des Mitoseindex in 3 Grade. Hierbei stellte diese Forschungsgruppe eine Korrelation zwischen Tumorgrad und Vorkommen der mehrkernigen Riesenzellen her. So wiesen sie bei 75% der Fibrosarkome vom Grad 3, bei 69,1% der Fibrosarkome vom Grad 2, aber in keinem Fibrosarkom vom Grad 1 mehrkernige Riesenzellen nach (Couto et al., 2002).

Myofibroblasten sind mesenchymale Zellen, die in einigen Fällen Kollagen produzieren und eine Pseudokapsel um den Tumor bilden können (Hendrick & Brooks, 1994; Madewell et al., 2001; Couto et al., 2002). Zytoskeletale Filamente und α -smooth-muscle-actin (α -SMA) befähigen diese Zellen zur Kontraktion. Die gebildete Pseudokapsel verhindert, dass T-Lymphozyten in den Tumor eindringen (Couto et al., 2002). In der Peripherie des Tumors ist eine reaktive Zone mit Infiltration von Makrophagen und einer variablen Anzahl von Lymphozyten, Plasmazellen und eosinophilen Granulozyten charakteristisch (Hendrick et al., 1991; Hendrick et al., 1994; Doddy, 1996; Madewell, 2001; Couto et al., 2002). Die follikulären Lymphozytenaggregate sind bei nicht injektions-assoziierten Fibrosarkomen nicht nachweisbar (Doddy et al., 1996). Couto et al. wiesen nach, dass es sich hierbei um T-Lymphozyten handelt, was bisher nur bei B-Lymphozyten bekannt war (Couto et al., 2002).

Als Zeichen schnellen Tumorwachstums können sich zentral im Tumor Nekrosen ausbilden. Häufig entstehen dann im Zentrum des Tumors makro- oder mikroskopische, mit klarer Flüssigkeit gefüllte Kavitäten, die von nekrotischem Material umgeben und klinisch als fluktuierende Masse auffällig sind (Couto et al., 2002). Möglicherweise entstehen diese Kavitäten infolge einer vaccine-induzierten nekrotisierenden Pannikulitis (Couto et al., 2002).

1.6. Prävention und Impfpfempfehlung

Von der VASTF wurden folgende Empfehlungen zur Prävention von FISS formuliert (Morrison et al., 2001):

Die Empfehlung des Impfstoffherstellers in Bezug auf Applikationsfrequenz ist die offizielle Grundlage für die Durchführung einer Impfung.

Alternative Impfmöglichkeiten (z.B. nasal, topisch) sollten möglichst in Betracht gezogen werden.

Die Verwendung von Vakzinen in "single dose" Ampullen soll präferiert werden.

Impfung ist eine medizinische Maßnahme. Es soll unter Berücksichtigung der medizinischen Notwendigkeit und des zoonotischen Potentials infektiöser Ursachen sowie des Infektionsdrucks ein individuell dem Patienten angepasstes Impfprotokoll entwickelt werden.

Jegliche vakzine-assoziierten Sarkome und Nebenwirkungen sollen dem Impfstoffhersteller gemeldet werden.

Zur weiteren Aufklärung der Beziehung zwischen Impfung und Sarkomentwicklung werden folgende Richtlinien empfohlen:

Tierärzte sollen die Applikation standardisieren und Impflokalisation, Präparat und Seriennummer im Impfausweis dokumentieren.

Folgende Impflokalisationen werden empfohlen:

Panleukopenie, Herpesvirus Typ-1, Calicivirus an der rechten Schulter.

Tollwut (mit oder ohne anderen Antigenen) an der rechten Hintergliedmaße soweit distal wie möglich.

FeLV (mit oder ohne anderen Antigenen, außer Tollwut) an der linken Hintergliedmaße soweit distal wie möglich.

2. Therapie feliner injektionsassoziierter Sarkome

Die Therapieoptionen feliner injektionsassoziierter Sarkome sind Gegenstand einiger Untersuchungen. Ziel ist es, die optimale Therapie und Kombinationen verschiedener Therapieoptionen zu erforschen, da Überlebenszeiten oft noch kurz und Rezidive häufig sind. Die chirurgische Therapie ist nach wie vor die Therapie der ersten Wahl und wird als alleinige Therapie oder in Kombination mit anderen adjuvanten Therapieoptionen praktiziert. Chemotherapie, Strahlentherapie und Immuntherapie wurden in Kombination mit radikal chirurgischer Therapie oder bei inoperablen Patienten als alleinige Therapieformen untersucht.

2.1. Chirurgie

Die radikale chirurgische Resektion des Tumors ist allgemein als der Goldstandard akzeptiert und weist im Vergleich zu konservativen Resektionstechniken und anderen Therapieformen die beste Prognose auf. Der Einfluss der Resektionsweite auf die Überlebenszeit und rezidivfreie Zeit wird deutlich, wenn man wie bei Hershey et al. die Überlebenszeiten bei Katzen, die eine Gliedmaßenamputation erhielten, mit anderen Operationsmethoden vergleicht. Hier wurde nachgewiesen, dass Tiere mit Gliedmaßenamputationen längere rezidivfreie Zeiten hatten (Hershey et al., 2000). In derselben Studie waren 5 der insgesamt 61 Katzen Langzeitüberlebende mit über 1300 Tagen post operativer Überlebenszeit. Bei vier dieser fünf Katzen wurde eine Gliedmaßenamputation durchgeführt (Hershey et al., 2000).

Sofern eine mikroskopisch komplette Exzision erreicht werden kann, ist die Chirurgie die einzige Therapieform, mit der potentiell eine Heilung des Patienten erzielt werden kann. In früheren Studien wurde bei konservativen Resektionstechniken Rezidivraten bis zu 70% beschrieben (Briscoe et al., 1998). "Aggressive" en bloc Resektionstechniken mit einem lateralen Resektionsrand von mindestens 3 cm zum palpablen Tumorrund und in der Tiefe unter Einbeziehung mindestens einer kompletten Faszienebene werden als Minimalforderung angesehen (Davidson et al., 1997; Dernell et al., 1998). Sollte der Tumor angrenzende knöcherne Strukturen wie Proc. spinosi, Skapula oder Beckenknochen einbeziehen, müssen diese mit entfernt werden (Seguin, 2002). Neuere Studien empfehlen die lateralen Resektionsränder auf 5 cm und den tiefen Resektionsrand auf mindestens 2 Faszienebenen auszudehnen (Phelps et al., 2011). Phelps et al. untersuchten 91 Patienten mit einem medianen

Tumordurchmesser von 4 cm, die mit einer radikalen en bloc Resektion (5 cm lateralem Abstand zum palpablen Tumor und in der Tiefe Entnahme von 2 Faszienebenen sowie ggf. Resektion von Rippen oder Procc. spinosi) behandelt wurden. Die mediane postoperative Überlebenszeit lag bei 901 Tagen (rezidivfreie Patienten: 1461 Tage) bei einem medianen tumorfreien Intervall von 309 Tagen. Bei 14% der Patienten trat ein Rezidiv auf und 20% zeigten Hinweise auf Lungenmetastasen. Das Patientengut beinhaltete 37 Patienten mit Tumoren der Abdomen- bzw. Brustwand und 30 Patienten mit interskapularen Sarkomen. Eine Brustwandresektion wurde bei 2 Patienten durchgeführt, bei einem der beiden Patienten traten keine Rezidive oder Metastasen auf, für den 2. Patienten lagen keine Verlaufsergebnisse vor. In der Gruppe der Patienten mit Tumoren der Bauchwand wurde bei 7 Patienten eine Bauchwandresektion durchgeführt, wobei in der Verlaufskontrolle, die bei 4 der 7 Patienten durchgeführt werden konnte, 1 Patient Metastasen aufwies. Bei den 30 Patienten mit interskapularen Tumoren konnte bei 20 Patienten eine Verlaufskontrolle erfolgen, hier traten 4 Rezidive und bei 6 Patienten Metastasen auf (Phelps et al., 2011).

Auch in einer Fallserie mit 6 Katzen blieben die Patienten nach radikaler Abdomenwandresektion über einen durchschnittlichen postoperativen Kontrollzeitraum von 17,2 Monaten rezidivfrei (Lidbetter et al., 2002).

Die rezidivfreie Zeit wird vom chirurgischen Ergebnis beeinflusst. Bei histologisch „sauberen“ Resektionsrändern ist die Rezidivrate deutlich geringer als bei „unsauberen“ Schnittgrenzen oder naher Schnittführung am Tumor. Bei allen Hauttumoren wird eine follow up Zeit von mindestens 2 Jahren mit regelmäßigen klinischen Kontrollen empfohlen (Davidson et al., 1997; Scarpa et al., 2012). Bei „unsauberen“ Resektionsrändern tritt ca. 10-mal häufiger ein Rezidiv auf als bei sauberen Tumorgrenzen (Giudice et al., 2010). Auch eine weitere Studie bestätigte die bessere Prognose von Patienten mit tumorfreien Resektionsrändern (mediane Überlebenszeit 16 Monate versus 4 Monate bei inkompletter Resektion) (Davidson et al., 1997).

Cronin et al. verglichen Patienten, bei denen nach chirurgischer Tumorresektion histologisch saubere Resektionsränder erzielt werden konnten, mit Patienten, bei denen Tumorzellen am Resektionsrand nachgewiesen wurden. Beide Gruppen erhielten neoadjuvant eine Bestrahlungstherapie. Die Gruppe mit sauberen Resektionsrändern hatte eine signifikant längere mediane Überlebenszeit (700 Tage)

im Vergleich zur Gruppe mit unsauberem Resektionsrändern (median 112 Tage). Tumorgöße und Anzahl der vorangegangenen Tumoroperationen beeinflussten die rezidivfreie Zeit nicht (Cronin et al., 1998). Dagegen stellten Rossi et al. einen signifikanten Zusammenhang zwischen Anzahl der vorangegangenen Operationen und progressionsfreiem Intervall dar (Rossi et al., 2019).

Bei Kombinationstherapie von Operation und Bestrahlung konnte in einer anderen Studie bei Patienten, deren Tumor mit 1 cm Sicherheitsabstand bzw. sauberen aber knappen Resektionsrändern operiert wurde, eine mediane Überlebenszeit bzw. ein tumorfreies Intervall von 43 bzw. 37 Monaten erreicht werden. Im Gegensatz hierzu hatten Patienten mit inkompletter Resektion eine mediane Überlebenszeit von 24 Monaten bzw. ein tumorfreies Intervall von 10 Monaten (Eckstein et al., 2009).

Primäre, radikale Operationen scheinen geringere Rezidivraten zu haben: Eine Auswertung von 48 Patienten, deren nicht voroperierte Tumoren radikal reseziert wurden, erzielte eine Rezidivrate von 35%. Es wurde eine radikale Operation mit einem Sicherheitsabstand von 3 cm zum palpablen Tumor durchgeführt und je nach Lokalisation die komplette Brustwand, Bauchwand oder Muskulatur des Schultergürtels reseziert. Die Lokalisation der 48 Tumoren verteilte sich auf 22 interskapulare Tumoren, 14 Brustwandtumoren, 9 Tumoren der Flanke und 3 lumbal gelegene Tumoren (Giudice et al., 2010). Eine neuere Studie berichtet über einen medianen Überwachungszeitraum von 1072 Tage von einer Rezidivrate von 14% nach kompartmentaler (kompletter) Exzision des jeweils mitbetroffenen Muskels (M. trapezius- oder M. latissimus dorsi- und M. trapeziusresektion). Alle Patienten erhielten neoadjuvant eine Chemotherapie (Epirubicin) (Bray & Polton, 2016). Im Gegensatz dazu erzielten Hershey et al. bei 61 Patienten (davon 22 Tumoren der Flanke und 18 interskapulare Tumoren) bei marginaler Resektion (80% der Patienten) ein tumorfreies Intervall von nur 66 Tagen (Hershey et al., 2000).

In vielen Studien in der Literatur fehlen Angaben zur Tumorlokalisation, Tumorgöße, Operationsmethode, Resektionsweite, Resektionsrandqualität, sowie Dauer der postoperativen Überwachung der Patienten. Die Angaben der Literatur sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Literaturübersicht: Operationsmethoden und Resektionsweite feliner injektions-assoziiertes Fibrosarkome

Quelle	n Patienten	Überlebenszeit	Anzahl Rezidive n (%)/ rezidivfreie Zeit	Operationsmethode und Resektionsweite	Lokalisation
1. Bray & Polton, 2016	n=21	Nicht bestimmt	n=3 (14%)/ Nicht bestimmt	Resektion des kompletten betroffenen Muskels: Trapeziusresektion; Latissimus dorsi Resektion, kombinierte Trapezius-Latissimus dorsi Resektion	IS
2. Phelps et al., 2011	n=91	901 d (29,6 Mo)	n=13 (14%)/ 309 d	1 Chirurg, 2 Muskellagen, 5 cm Abstand zum Tumor, in der Tiefe 2 Muskellagen oder bis zur knöchernen Grundlage. Partielle Skapulektomie, Proc. spinosus Ablation, Rippenresektion Amputation, n=20(22%) reine Weichteiloperation	n=7(8%) AW n=2(2%) BW n=33(36%) IS n=18(19%) GM
3. Giudice et al., 2010	n=48	unbekannt	n=17 (35%)/ unbekannt	≥ 3cm zum Tumor incl. 1 tumorfreien Faszie, ggf mit Skapulektomie, Rippenresektion, Brustwandresektion. 1 Chirurg	n=22 IS n=14 BW n=9 Flanke n=3 lumbal
4. Eckstein et al., 2009	n=73	Sauber 43 Mo; unsauber 24 Mo	Nicht genannt/ 10-37 Mo	Unbekannt Operationsmethode. Komplette Resektion n=33/46 (davon n=22 weit; n=11 clean but close). Inkomplette Resektion n=6/46. Unbekannte Resektionsweite n=5/46.	-Nacken/ Skapula/IS 59% -BW/AW 23% -Flanke/ lumbal 18%

II. Literaturübersicht

Quelle	n Patienten	Überlebenszeit	Anzahl Rezidive n (%)/ rezidivfreie Zeit	Operationemethode und Resektionsweite	Lokalisation
5. Martano et al., 2005	n=69	Nach 2 Jahren 73% lebend (71% bei adj. TP)	n=28 (40,8%)/ nach 2 Jahren 53% rezidivfrei	En bloc Resektion, ggf. mit Hautflap, 7 Procc. spinosi Ablation, 2 partielle Skapulektomie, 4 Rippenresektionen, 1 Amputation. Unbekannte Resektionsweite	IS 11 AW
6. Kobayashi et al., 2002	n=92	Zeit bis Rezidiv, Metastase oder Exitus 584 d (19,2Mo); inkomplett reseziert 292 d, komplett 986 d	n=25 (42%)/ nicht genannt	Versch. Chirurgen, 37 reine Weichteiloperationen; 3 Weichteiloperation + Skapulektomie; 21 Weichteiloperation + Proc. Spinosus Ablation, 4 Brustwand-/Abdomenwandresektion, 12 Amputationen, 4 unbekante Operationen. Resektionsweite unbekannt	6 HG 58 IS 19 Flanke 9 BW
7. Lidbetter et al., 2002	n=6	unbekannt	unbekannt	Alle Patienten bereits voroperiert mit Rezidiven. Volle Bauchwandresektion mit mind. 3 cm Rand, bei 3 Patienten Rippenresektion von 3 Rippen, Polypropylnetz, caudal spf. Epigastricusflap; Resektionsweite unbekannt	Bauchwand, bei 1 Patienten zusätzlich Hintergliedmaßen- amputation
8. Bregazzi et al., 2001	n=25	710 d (23,3 Mo)	Unbekannt/ 661 d	Unbekante Operationemethode, Resektionsweite 2-3cm	Typ. FISS Lokalisation, keine Differenzierung

II. Literaturübersicht

Quelle	n Patienten	Überlebenszeit	Anzahl Rezidive n (%)/ rezidivfreie Zeit	Operationsmethode und Resektionsweite	Lokalisation
9. Cohen et al., 2001	n=76	730 d (24 Mo) bei Rezidiv 625 d	n=32 (41%)/ 405 d (13,3 Mo)	Versch. Chirurgen. Weite Resektion: 3 cm, sauber aber nahe Resektion, unbekannte Resektionsweite	23 IS, 16 AW, 13 über Skapula, 12 lumbal, 10 Flanke, 3 thorako- lumbal, 1 HG
10. Hershey et al., 2000	n=61	Bei marginaler Resektion n=47/49 (95,9%) 79 d. Bei weiter Resektion 2/4 (50%) 576 d (18,9 Mo)	94 d (3,0 Mo)	Verschiedene Chirurgen Marginale Resektion: <3cm Weite Resektion: ≥-3cm radikal: Amputation, Skapulektomie, Proc. spinosus Ablation	22 Flanke 18 IS 16 Lumbal 11 GM
11. Cronin et al., 1998	n=33	600 d (19,7 Mo)	n=15 (48, 5%) 398 d (13,0 Mo)	Operation in 1 Institut, gesamtes Bestrahlungsfeld reseziert, 1 Muskelschicht in die Tiefe oder Gliedermaßenamputation	5 HG, 1 VG, 14 IS, 2 Schulter, 5 BW, 5 lumbal, 1 Ohrgrund
12. Davidson et al., 1997	n=35	11,5 Mo	n=9 (25,7%) 10 Mo	Unbekannt	24 IS, 3 Flanke, 1 Pinna, 7 Gliedmaße

Abk.: AW=Abdomenwand, BW=Brustwand, d=Tage, GM=Gliedmaße, HG=Hintergliedmaße, IS=interskapulär, Mo=Monate, n=Anzahl, TP=Therapie, VG=Vordergliedmaße

2.2. Strahlentherapie

Eine Strahlentherapie kann sowohl neoadjuvant als auch adjuvant insbesondere bei "unsauberen" Resektionsrändern des Tumors angewendet werden (Cronin et al., 1998; Cohen et al., 2001; Kobayashi et al., 2002).

Bei einer Bestrahlungstherapie mit 48 Gy bzw. 45 Gy (12*4 Gy 4-mal pro Woche oder 9*5 Gy 3-mal pro Woche) post operationem wurden mediane Überlebenszeiten von 43 Monaten, mit rezidivfreien Zeiten von median 37 Monaten erreicht (Eckstein et al., 2009).

Eine fraktionierte Bestrahlung mit 4*8 Gy ein Mal pro Woche bei Patienten mit nicht resezierbaren Tumoren konnte eine mittlere Überlebenszeit von 24 Monaten und ein progressionsfreies Intervall von 10 Monaten erzielen (Eckstein et al., 2009). In einer weiteren Studie wurden 92 Patienten mit Fibrosarkomen neoadjuvant mit 16*3 Gy bestrahlt und eine chirurgische Resektion des Tumorbereiches durchgeführt. Es wurde hierdurch eine mediane rezidivfreie Zeit von 584 Tagen bei sauberen Resektionsrändern und 292 Tagen bei inkompletter Resektion erzielt (Kobayashi et al., 2002). Auch Cronin et al untersuchten Überlebenszeit und rezidivfreies Intervall bei 33 Katzen mit injektionsassoziierten Sarkomen, die eine neoadjuvante Strahlentherapie mit Operation 3-4 Wochen nach Beendigung der Bestrahlung erhielten. Die mediane Überlebenszeit betrug 600 Tage und das rezidivfreie Intervall 398 Tage. 45% der Patienten entwickelten Rezidive, die laut der Autoren in direkter Nachbarschaft des Operationsbereiches bzw. des Bestrahlungsfeldes auftraten (Cronin et al., 1998).

Cohen et al. untersuchten in einer retrospektiven Studie die Effekte der Strahlentherapie bei 76 Katzen mit 78 Tumoren. Von diesen 76 Katzen wurden 45 Tumoren einmal und 33 mehrfach operiert und anschließend bestrahlt. Sie erreichten eine mediane Überlebenszeit von 730 Tagen und ein medianes rezidivfreies Intervall von 405 Tagen. Allerdings lag die Rezidivrate bei 41%. Signifikante Unterschiede bei Überlebenszeit und tumorfreiem Intervall konnten in Abhängigkeit zum Beginn der Bestrahlungstherapie festgestellt werden. Sie stellten heraus, dass ein früher Beginn der Strahlentherapie signifikant positive Auswirkung auf Überlebenszeit und rezidivfreies Intervall hat (Cohen et al., 2001). Eine weitere retrospektive Untersuchung verglich die Ergebnisse von 79 Patienten mit kurativer postoperativer Bestrahlungstherapie mit Patienten, bei denen eine präoperative Bestrahlung durchgeführt wurde. Die postoperative Bestrahlungstherapie erscheint laut dieser

Studie effektiver im Vergleich zu neoadjuvanter Bestrahlung (mediane Überlebenszeit 705 vs 301 Tage) (Mayer et al., 2009). Rossi et al. konnten in einer Untersuchung feststellen, dass die Anzahl der vorangegangenen Operationen sich auf das progressionsfreie Intervall nach Bestrahlungstherapie auswirkt. Einen signifikanten Unterschied zwischen den unterschiedlichen Bestrahlungsprotokollen konnten sie nicht feststellen (Rossi et al., 2019).

Eine weitere Möglichkeit der Strahlentherapie untersuchten Nolan et al. in einer retrospektiven Studie an 11 Katzen mit injektionsassoziierten Sarkomen. Die Tiere wurden operiert und erhielten eine stereotaktische Radiotherapie in 3-5 Sitzungen. Bei 8 der 11 Katzen konnte eine computertomographisch oder klinisch messbare Reaktion des Tumors oder stabile Tumorgöße festgestellt werden. Die Autoren propagieren, dass dies eine Option als palliative Therapie sein könnte (Nolan et al., 2013).

2.3. Chemotherapie

Die Wirksamkeit einer chemotherapeutischen Behandlung von FISS ist umstritten. Spezialisten empfehlen Chemotherapie bei injektionsassoziierten Fibrosarkomen nicht als Monotherapie. Es wurden bereits mehrere Untersuchungen durchgeführt, bei denen Chemotherapeutika als adjuvante oder neoadjuvante Therapie eingesetzt wurden.

Zu den bislang bei injektionsassoziierten Fibrosarkomen eingesetzten zytostatischen Medikamenten gehören Doxorubicin (Barber et al., 2000; Bregazzi et al., 2001; Kobayashi et al., 2002; Poirier et al., 2002; Martano et al., 2005), Epirubicin (Bray & Polton, 2016), Ifosfamid (Rassnick et al., 2006), Lomustin (Saba et al., 2012), Cisplatin (Spugnini et al., 2011) und Carboplatin (Kobayashi et al., 2002).

In einer Untersuchung zeigte die Hälfte der Katzen mit inoperablen Tumoren nach Doxorubicintherapie eine Größenabnahme des Tumors um mehr als 50%. Bei Ansprechen auf die Chemotherapie zeigte sich eine deutlich längere Überlebenszeit (median 242 Tage) als wenn keine Remission auftrat (median 83 Tage) (Barber et al., 2000).

Poirier et al. untersuchten die Wirkung von Doxorubicin bzw. Liposomen verkapseltes Doxorubicin mit einer (historischen) Gruppe, die lediglich operiert wurde. Sie konnten

feststellen, dass die mit Doxorubicin behandelten Tiere ein längeres progressionsfreies Intervall erreichten (388 vs 93 Tage) (Poirier et al., 2002).

Dagegen konnte in einer Studie mit 25 Katzen, bei denen eine Gruppe chirurgisch, mit Bestrahlung und Doxorubicin, eine weitere Gruppe nur chirurgisch und mit Bestrahlung behandelt wurde, kein signifikanter Unterschied der Überlebenszeit und rezidivfreien Zeit festgestellt werden (Bregazzi et al., 2001). Auch eine Forschungsgruppe um Martano konnte keine Unterschiede bei Überlebenszeit, progressionsfreiem Intervall und Rezidivrate bei Tieren feststellen, die adjuvant mit Doxorubicin behandelt wurden (Martano et al., 2005).

Bray und Polton behandelten 21 Katzen vor und nach radikaler Exstirpation des Tumors mit Epirubicin und konnten damit eine Rezidivrate von nur 14% erreichen (Bray & Polton, 2016).

Kobayashi et al. werteten in einer retrospektiven Untersuchung die Effekte verschiedener Chemotherapeutika (Doxorubicin, Carboplatin, Vincristin und Cyclophosphamid) als adjuvante Therapien zur Chirurgie aus. Sie konnten lediglich bei der Gruppe, die mit Carboplatin behandelt wurde (n=19), etwas längere Überlebenszeiten und rezidivfreie Intervalle feststellen. Allerdings war die Anzahl der chemotherapierten Patienten sehr gering (Kobayashi et al., 2002).

Ifosfamid (900 mg/m² KOF) wurde in einer Studie bei 27 Katzen mit FISS angewandt und erzielte bei einer Katze eine komplette Remission und bei n=10/27 Tieren ein partielles Ansprechen des Tumors. Allerdings traten unter der Therapie häufig Neutropenie und gastrointestinale Nebenwirkungen auf (Rassnick et al., 2006).

Weiterhin wurde die Wirkung von Lomustin auf Fibrosarkome untersucht. Bei einer Dosis von 38-60 mg/m² KOF oral alle 3 Wochen sprachen ein Viertel (n=7/28) der Tumoren mit einer Verkleinerung bzw. in einem Fall mit kompletter Remission an. Das progressionsfreie Intervall lag aber nur bei median 60,5 Tagen. Auch musste die Dosis aufgrund hämatologischer Toxizität häufig reduziert oder die Applikation verschoben werden (Saba et al., 2012).

Eine weitere vielversprechende adjuvante Therapieform, insbesondere bei inkompletter Resektion, könnte die Elektrochemotherapie darstellen, die die lokale Applikation eines Chemotherapeutikums mit biphasischen elektrischen Impulsen kombiniert. Bei 64 Katzen mit inkomplett resezierten Fibrosarkomen konnte durch Elektrochemotherapie mit Cisplatin eine durchschnittliche Remission von 666 Tagen im Vergleich zu 180 bei der nur chirurgisch behandelten Kontrollgruppe erreicht werden (Spugnini et al., 2011).

2.4. Immuntherapie

Schon seit 1995 werden in der Therapie der felines Fibrosarkome immuntherapeutische Ansätze verfolgt.

In einer Untersuchung wurden fünf Katzen mit dem unspezifischen Immunstimulanz Acemannan neoadjuvant behandelt. Es handelte sich dabei um Patienten, deren Tumoren nach chirurgischer Therapie rezidierten. Acemannan bewirkt die Ausschüttung verschiedener Zytokine wie Interleukin-1, Interleukin-6, Tumor-Nekrose-Faktor- α und Interferon- γ durch Stimulation von Makrophagen. Das mediane progressionsfreie Intervall lag bei den behandelten Tieren mit 356 Tagen deutlich höher als bei der Kontrollgruppe (86 Tage) (King et al., 1995).

Gentherapeutische Ansätze unter Verwendung viraler Vektoren untersuchten Jourdir et al. (2003). Sie nutzten einen Canaripoxvirusvektor (ALVAC) und einen genetisch attenuierten Vacciniavirusvektor (NYVAC), die humanes bzw. felines Interleukin 2 exprimieren. Es wurden 54 Katzen in drei Gruppen eingeteilt. Die Kontrollgruppe wurde chirurgisch mit anschließender Radiotherapie behandelt, 18 weitere Katzen erhielten adjuvant sieben Injektionen humanes Interleukin 2 (huIL-2) und die dritte Gruppe erhielt statt dessen eine Gentherapie mit felinem Interleukin 2 (feIL-2). Es konnte ein signifikanter Unterschied der Rezidivraten festgestellt werden. In der Kontrollgruppe traten innerhalb eines Jahres bei 61% der Patienten Rezidive auf, während bei den beiden anderen Gruppen 39% bzw. 28% Rezidive festgestellt wurden (Jourdir et al., 2003).

Im Jahr 2015 wurde die dosisabhängige Wirkung von ALVAC in einer kontrollierten, randomisierten Studie bei 71 Katzen mit nicht vorbehandelten Fibrosarkomen untersucht. Die 23 Tiere der Kontrollgruppe wurden nur chirurgisch und mit

Brachytherapie behandelt, eine 2. Gruppe, bestehend aus 25 Tieren, erhielt zusätzlich adjuvant ALVAC IL-2 in einer niedrigen Dosis ($10^{6,5}$ EAID₅₀ (Elisa infectious doses 50%)) und einer hohen Dosis ($10^{8,3}$ EAID₅₀) in sechs wöchentlich applizierten, subkutanen Injektionen im Operationsbereich. Es konnte ein signifikant längeres rezidivfreies Intervall der Kontrollgruppe (median 287 Tage) im Vergleich zu der niedrig dosierten Behandlungsgruppe (730 Tage) und ein signifikant geringeres Rezidivrisiko bei der niedrig dosierten Behandlungsgruppe mit 56% Rezidiven im Vergleich zur Kontrollgruppe mit 65% Rezidiven festgestellt werden (Jas et al., 2015).

Rekombinantes felines Interferon- ω (rFeIFN- ω) wurde in einer Phase- I -Studie hinsichtlich seiner Sicherheit und Einsetzbarkeit bei felinen Fibrosarkomen untersucht und als nebenwirkungsarm eingestuft (Hampel et al., 2007).

In einer Phase- I -Studie zu intratumoral immunstimulierenden Therapien wurde die Verträglichkeit von huIL-2 und feIFN- γ untersucht. Als Vektor diente ein Adenovirus. Interleukin steigert die unspezifische Immunantwort und Interferon vermittelt über die Expression von MHC-Molekülen die Antigenpräsentation. Es wurden postoperativ Injektionen im Bereich des Tumorbetts appliziert. Als Nebenwirkung konnte lediglich eine Erhöhung der Körpertemperatur und der Aspartat-Aminotransferase (AST) beobachtet werden (Wieland, Dissertation, 2002). In einer weiteren Phase- I -Studie wurde die maximal tolerierbare Dosis von Interleukin-2 und Interferon- γ untersucht. Es wurden präoperative Applikation vorgenommen und die Höchstdosis mit $1 \cdot 10^8$ IE festgelegt. Bei höheren Dosen traten starke Nebenwirkungen wie Gewichtsverlust, Thrombozytopenie, Leukozytopenie, Abnahme des Hämatokrits und Verminderung des Allgemeinbefindens auf (Wiedmann, Dissertation, 2005).

In einer weiteren Untersuchung zur Dosisfindung wurden als Vektoren Plasmide eingesetzt, die mittels Kollagenschwamm ins Tumorbett implantiert wurden. Die Plasmide kodieren für feIL-2, feIFN- γ und feliner Granulozyten-Makrophagen stimulierender Faktor (feGM-CSF). Die maximal tolerierte Dosis wird mit 600 μ g je Zytokin-Plasmid festgesetzt (Kempf, Dissertation, 2005).

III. Letter of Acceptance

From: editor@jfms.com

Subject: Journal of Feline Medicine and Surgery - Decision on Manuscript ID JFMS-17-0027.R2

Dear Miss Müller:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Curative-intent radical en bloc resection using a minimum of 3 cm margin in feline injection-site sarcoma (FISS) – a retrospective analysis of 131 cases" in its current form for publication in Journal of Feline Medicine and Surgery. The further comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript, where provided, are included at the foot of this letter.

Thank you for your valuable contribution. On behalf of the Editors of Journal of Feline Medicine and Surgery, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,

Dr. Andy Sparkes

Editor, Journal of Feline Medicine and Surgery

editor@jfms.com

Date Sent: 01-Jun-2017



Curative-intent radical en bloc resection using a minimum of a 3 cm margin in feline injection-site sarcomas: a retrospective analysis of 131 cases

Journal of Feline Medicine and Surgery
1–11

© The Author(s) 2017

Reprints and permissions:

sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

DOI: 10.1177/1098612X17717882

journals.sagepub.com/home/jfms

This paper was handled and processed by the European Editorial Office (ISFM) for publication in *JFMS*



Nina Müller and Martin Kessler

Abstract

Objectives Owing to its highly infiltrative growth, feline injection-site sarcoma (FISS) carries a significant risk of local tumour recurrence. Parameters of possible prognostic significance (eg, tumour size and location, resection of de novo vs recurrent tumours, and achievement of tumour-free surgical margins) were examined with regard to their influence on recurrence rate (RR), disease-free interval (DFI) and survival time (ST).

Methods This was a retrospective analysis of cats with FISSs located on the chest or abdominal wall or the interscapular region treated in a single institution using a standardised radical resection technique with 3 cm lateral margins and full-thickness body wall resection (tumours over chest/abdominal wall) or a minimum of two fascial planes (interscapular tumours).

Results Median postoperative DFI and ST of 131 cats with FISSs was 21 and 24 months, respectively. Patients operated on for recurrent tumours were significantly more likely to die from tumour-related reasons compared with patients with de novo tumours ($P < 0.001$). RR and DFI in the different tumour locations were comparable ($P = 0.544$ and $P = 0.17$, respectively). Local tumour recurrence occurred in 38.1% of the cats. Cats operated on for tumour recurrences had a significantly higher chance of another recurrence (RR 55.5% vs 33.3%; $P = 0.005$). Completeness of excision was determined by taking tumour bed biopsies. Tumour bed biopsies that did not contain tumour cells were associated with a significantly lower RR compared with those with tumour cells (30.5% vs 76.2%).

Conclusions and relevance Depending on prognostic factors such as surgery for primary vs recurrent tumour, tumour-free resection margins and tumour location, the RR in FISS ranges from 33–55%, despite curative intent radical surgery. This study may help in identifying patients at risk for recurrence.

Accepted: 1 June 2017

Introduction

Feline injection-site sarcomas (FISSs) are among the most commonly diagnosed malignant skin neoplasms in the cat,^{1–3} and a tumour incidence between 0.63/10,000 and 1/1000 injected cats has been reported.^{3–9} The most accepted hypothesis concerning the aetiology and pathogenesis of these tumours suggests that in genetically susceptible cats the local inflammatory reaction that occurs after vaccinations or other injections induces a stepwise malignant transformation of connective tissue cells into a sarcoma.^{4,10–12} Histologically, these tumours are mostly fibrosarcomas, but other sarcoma subtypes have also been described.¹³ The histological features of FISS differ from those of fibrosarcomas of non-vaccination sites and

are typically characterised by peri-tumoral perivascular infiltration of lymphocytes, intra-tumoral giant cells and/or macrophages, necrotic foci and a high tendency of local infiltration.^{13–16} In addition, many cats have a history of previous injections at the site of the tumour. FISSs are highly invasive tumours, and microscopic tumour

Hofheim Small Animal Clinic, Hofheim, Germany

Corresponding author:

Martin Kessler, Hofheim Small Animal Clinic, Katharina-Kemmler Str 7, 65719 Hofheim am Taunus, Germany
Email: m.kessler@tierklinik-hofheim.de

extensions and satellites may be found several centimetres distant from the palpable borders of the mass. The rate of metastasis appears to be low and reportedly ranges only between 10% and 28%.^{10,17,18}

Early and radical surgery currently remains the first-choice therapy. Additional therapies such as radiation, chemotherapy and immunotherapy have been utilised using various protocols. Adjuvant and neoadjuvant radiotherapy reportedly prolongs the time to tumour recurrence in cases with incomplete resections.^{19–22} Recently, immunotherapy using local injections of a transfected canarypox virus, locally expressing interleukin-2, has been shown to significantly improve the disease-free interval (DFI) in cats when combined with surgery and radiation therapy.^{23–25} Although the efficacy of chemotherapy has not been fully proven, its use has commonly been reported.^{9,26–29}

Owing to the highly invasive growth of FISS, incomplete resections are common, and patients carry a high risk of local recurrence.^{17,19,20,30–35} In earlier studies using conservative resection techniques recurrence rates (RRs) of up to 70% were reported.^{6,13,32,36,37} Radical en bloc resections with at least 3 cm lateral margins and at least two fascial planes for deep margins have been advocated as the gold standard of treatment.^{8,9,31,38,39} With 'radical surgery', RRs ranging between 14% and 40% have been reported; however, many studies lack details on tumour size, tumour location, width and depth of resection, number of primary vs recurrent tumours, method of evaluation of resection margins, and duration of postoperative follow-up. Furthermore, some studies include adjuvant therapies such as radiation and chemotherapy.^{17,19,20,26,31,32,34,35,37,39}

The goal of the present study was to determine the RR in a large series of cats with a FISS located exclusively on the chest, abdominal wall or the interscapular region, treated in a single institution using a standardised radical resection technique. Parameters of presumed prognostic significance such as tumour size and location, resection of a primary vs recurrent tumour, and the presence of tumour cells at the surgical margins were evaluated statistically.

Materials and methods

Cats with a FISS treated surgically at Hofheim Small Animal Clinic (Germany) between 1998 and 2012 were evaluated retrospectively. Inclusion criteria were cats with a FISS of either the chest or abdominal wall or the interscapular region in which a radical surgery with curative intent was deemed possible, based on subjective clinical evaluation (palpation) of the tumour by the surgeon. Cats were not included if they had inadequate preoperative data on the size and location of their tumours, less than 12 months of follow-up, radiographic signs of metastasis or were not operated on with curative

intention. All patients were operated on by the same surgeon (MK).

The diagnosis of a FISS was based on the documentation of a soft tissue sarcoma in a location commonly used for injections with typical histological characteristics, such as presence of peri-tumoral inflammation dominated by lymphocytes, intra-tumoral macrophages and multinucleated giant cells, marked cellular pleomorphism, central necrosis and highly infiltrative growth.

The cats were divided into four groups according to anatomical location of the FISS and whether they had a de novo tumour (not previously operated on, primary tumour), or a local recurrence after a previous surgical resection at a first opinion practice. Group 1 were de novo chest and abdominal tumours, group 2 de novo interscapular tumours, group 3 recurrent chest and abdominal tumours, and group 4 recurrent interscapular tumours.

All patients underwent standard diagnostic and staging procedures prior to surgery, including fine-needle aspiration biopsy of the mass, two-view thoracic radiographs (right and left lateral projections), as well as haematology and clinical chemistry evaluation. Tumours were divided into three size groups (largest diameter <2 cm, diameter 2–4 cm and diameter >4 cm).

Tumours of the chest or abdominal wall were excised en bloc with a lateral margin of at least 3 cm to the palpable tumour, including the overlying skin. The deep resection margin included a full-thickness chest or abdominal wall resection. If tumours partially overlapped with the long dorsal musculature, a resection of the lumbar fascia entering deep into the long lumbar musculature was performed. In cases presenting with recurrent tumours, the palpable tumour mass and the entire scar of previous surgeries were included in the resection using the same margins. Interscapular tumours were resected with a 3 cm minimum lateral margin and at least two fascial planes deep, including interscapular musculature, dorsal spinous processes or, if necessary, dorsal parts of the scapulae. Defect closure was performed by either direct apposition of neighbouring tissue using muscle flaps (mainly M latissimus dorsi, M obliquus externus or M sartorius muscle flaps), or by surgical mesh in cases where muscle flaps could not be performed.

Completeness of tumour excision was determined by sampling 10–12 small (5 mm × 5 mm up to 10 mm × 10 mm) biopsies from the in vivo tissue adjacent to the excised specimen. In body wall tumours this was the border of the resection defect. In interscapular tumours samples were taken from both the lateral margins and the deep tumour bed of the resection site. The samples were taken immediately after tumour resection, prior to defect closure and preferably from locations deemed by the surgeon to carry the highest risk for residual tumour (eg, subcutaneous tissue closest to the tumour, fascial

interfaces, the area between the scapula and the axial musculature, musculature between dorsal spinous processes). If any one of the tumour bed biopsies contained tumour cells on histopathology the resection was considered incomplete.

Clinical re-evaluation including physical examination and palpation of the resection site, as well as thoracic radiographs at 3 month intervals, was recommended for all patients following surgery, but was subject to the owners' compliance. Local recurrence was suspected in any case when a firm mass was palpated in the surgical field. Depending on the owners' compliance, suspected recurrences were confirmed cytologically or histologically. Additional follow-up was performed by clinical examination at Hofheim Small Animal Clinic and/or telephone investigation with the owner or referring veterinarian. Only patients with a minimal follow-up time of 12 months were included in the study.

The DFI was defined as the time between the definitive surgery and any suspected or confirmed local tumour recurrence and was calculated only for those patients that actually experienced a recurrence. The survival time (ST) was defined as the time between the definitive surgery and death. Cats that were alive at the end of the study or died of non-tumour-related reasons were excluded from analysis at the time of study closure, or at time of death, respectively. Cause of death was classified as tumour-related, non-tumour-related, postoperative complication and unknown.

Statistical analysis

Descriptive statistic data are reported as median \pm SD or average size (range minimum–maximum size). Kaplan–Meier survival analysis was performed using the Gehan–Breslow statistic for calculation of median ST and DFI. A 95% confidence interval was used for the median DFI and ST, and the level of significance for all analyses was set at $P < 0.05$.

Comparison of ST and DFI between the different groups was carried out using the Mann–Whitney U-test; the Kruskal–Wallis and ANOVA tests were performed for comparison of the DFI and tumour size in different tumour locations. The probability of tumour recurrence with remaining tumour cells in the tumour bed and the dependence of a positive tumour bed on the tumour location were tested by Pearson's χ^2 test. The influence of tumour size on ST, DFI and positive tumour bed was evaluated using the Kruskal–Wallis test. Distribution of cause of death and RR was assessed by Pearson's χ^2 test. Cats that were lost to follow-up and alive at the end of the study were excluded from analysis at the time of their last recheck. Cats that died from postoperative complications while in the clinic were excluded from analysis of DFI.

Results

Epidemiology and tumour characteristics

A total of 131 cats met the inclusion criteria. There was an equal sex distribution (64 male castrated, 67 female spayed). The mean \pm SD age at time of presentation to Hofheim Veterinary Clinic was 9.7 ± 2.99 years (range 4–19 years). There were 123 domestic shorthair cats (93.9%), three Maine Coons (2.3%) and one each (0.8%) of Persian, Norwegian Forest Cat, Siamese, British Shorthair and Russian Blue.

Seventy-six cats (group 1) had a primary (de novo) tumour on the lateral chest or abdominal wall ($n = 40$ and $n = 36$, respectively). In cats where the resection field included (parts of) the chest wall, an average of 3.5 ribs (range 1–5 ribs) were resected en bloc with the tumour. In this group the median tumour size (largest diameter) of the chest and abdominal wall tumours was 3.0 cm (range 1–6 cm) and 2.0 cm (range 0.5–6 cm), respectively.

Twenty-eight cats had a primary (de novo) interscapular tumour (group 2). In this group of cats the median tumour size was 2.4 cm (range 0.3–6 cm). There was no significant difference in tumour size between cats from group 1 and 2 ($P = 0.217$).

Nineteen cats were presented with a recurrence of a tumour previously excised from the chest or abdominal wall at a first-opinion practice (group 3). Of these, 17 presented for the first recurrence; two had already been operated on twice. At presentation, the median diameter of the palpable mass of the recurrent tumour was 1 cm (range 1–4 cm) for recurrences of chest wall tumours and 2 cm (range 1–7 cm) for those of the abdominal wall. Eight patients had involvement of the chest wall and were treated with a chest wall resection with an average of 4.4 ribs resected (range 2–7 ribs).

Eight patients were presented with a recurrent interscapular tumour previously excised at a first-opinion practice (group 4). The median tumour size at presentation was 1 cm (range 0.5–6 cm). Five patients were presented at time of first recurrence, three had already had two previous excisions.

Defect closure

In 29/95 patients with chest or abdominal wall tumours (groups 1 and 3), a primary closure of the defect by re-adaptation of the local musculature was possible. One or more muscle flaps were used in 58 patients. In eight cats (three abdomen, five chest) a Prolene mesh had to be utilised to cover the defect. In all patients with interscapular tumours, primary defect closure was possible after undermining the skin and subcutis adjacent to the resection defect. When necessary, a re-adaptation of the scapula was performed using PDS suture (USP 2-0). All cats with interscapular tumours were released from the clinic and were fully ambulatory within 2–4 weeks.

Table 1 Cause of death in 131 cats with feline injection-site sarcoma

Cause of death	n (%)	Recurrent tumour (n=27)	De novo tumour (n=104)
Postoperative complication	5 (3.8)	0 (0)	5 (4.8)
Tumour-related disease	38 (29)	13 (48.1)	25 (24)
Non-tumour-related disease (n)	40 (30.5)	6 (22.2)	34 (32.7)
CKD	8	1	7
Cardiac disease	8	0	8
Senile decay	6	2	4
Car accident	4	1	3
Seizure activity of unknown aetiology	3	0	3
Unrelated neoplastic disease	3	1	2
Death following surgery for non-tumour-related disease	2	1	1
Chronic dermatological disorder	2	0	2
Orthopaedic problems	1	0	1
Myiasis	1	0	1
Respiratory disease	1	0	1
Bite injury	1	0	1
Cause of death unknown	3 (2.3)	3 (11.1)	0 (0)
Alive	45 (34.4)	5 (18.5)	40 (38.5)

Data within brackets are %. There was a significant chance of dying of tumour-related reasons if the animal was operated on for a recurrent tumour ($P < 0.001$) CKD = chronic kidney disease

Survival times and cause of death

Five cats with a primary resection died during hospitalisation in the postoperative phase from complications, four with a chest tumour and one with an abdominal wall tumour. In all cases with chest wall tumours four ribs had been resected and death occurred 2, 3, 3, and 4 days postoperatively, respectively. The cat with the abdominal wall resection died 3 days postoperatively. All cats had been closely monitored during hospitalisation. Cardiorespiratory arrest was the presumed cause of death in all cases. In two cases pulmonary infiltrates suggestive of pulmonary oedema were present on thoracic radiographs, although these cats had no clinical evidence of pre-existing cardiac disease. Unfortunately, none of these cases were released for necropsy by the owners.

Thirty-eight cats died for tumour-related reasons (tumour recurrence). Forty cats were euthanased or died from non-tumour-related diseases (chronic kidney disease $n=8$; cardiac disease $n=8$; senile decay $n=6$; car accident $n=4$; seizure activity of unknown aetiology $n=3$; unrelated neoplastic disease $n=3$; death following surgery for non-tumour-related disease $n=2$; chronic dermatological disorder $n=2$; myiasis $n=1$; orthopaedic problems $n=1$; respiratory disease $n=1$; bite injury $n=1$). In three cats the cause of death was unknown.

Median \pm SD follow-up time for the remaining 126 cats was 25.5 ± 24.35 months (range 2–129 months). Eighty-six cats had died by the end of the study and 45 were alive at the end of the study after a median \pm SD follow-up time of 34 months (range 13–82 months).

The overall median \pm SD postoperative ST was 24 ± 25.3 months (range 0–>129 months). Cats with tumours of the abdominal wall (median \pm SD 32 ± 23.87 months; $P=0.012$) and interscapular tumours (median \pm SD 24.5 ± 33.24 months; $P=0.014$) had a significantly longer ST compared with cats with chest wall tumours (median \pm SD ST 18 ± 17.1 months).

When only the 126 cats released from the clinic were evaluated, the median \pm SD ST was 25.5 ± 24.3 months (range 2–>129 months). There was no significant difference in ST between cats presenting with a recurrent tumour ($n=27$, groups 3 and 4; median \pm SD ST 24 ± 19.95 months) and cats that were operated on for the first time ($n=99$; groups 1 and 2; median \pm SD ST 28 ± 25.31 months) ($P=0.560$). However, cats operated on for recurrent tumours (groups 3 and 4) were significantly more likely to die from tumour-related reasons compared with patients with primary tumours ($P < 0.001$) (Table 1). All cats that experienced a recurrence had a significantly shorter ST compared with cats that developed no recurrence (Figure 1).

Cats without residual tumour cells in the tumour bed ($n=105$) had a significantly longer median ST compared with those with the presence of tumour cells in the tumour bed ($n=21$) (median \pm SD ST 28 ± 26.19 months vs 16.0 ± 13.47 months; $P=0.026$) (Figure 2). Tumour size did not significantly affect the median ST.

Disease-free interval

The median \pm SD DFI of all 126 cats released from the clinic was 21 ± 24.5 months (range 1–>123 months).

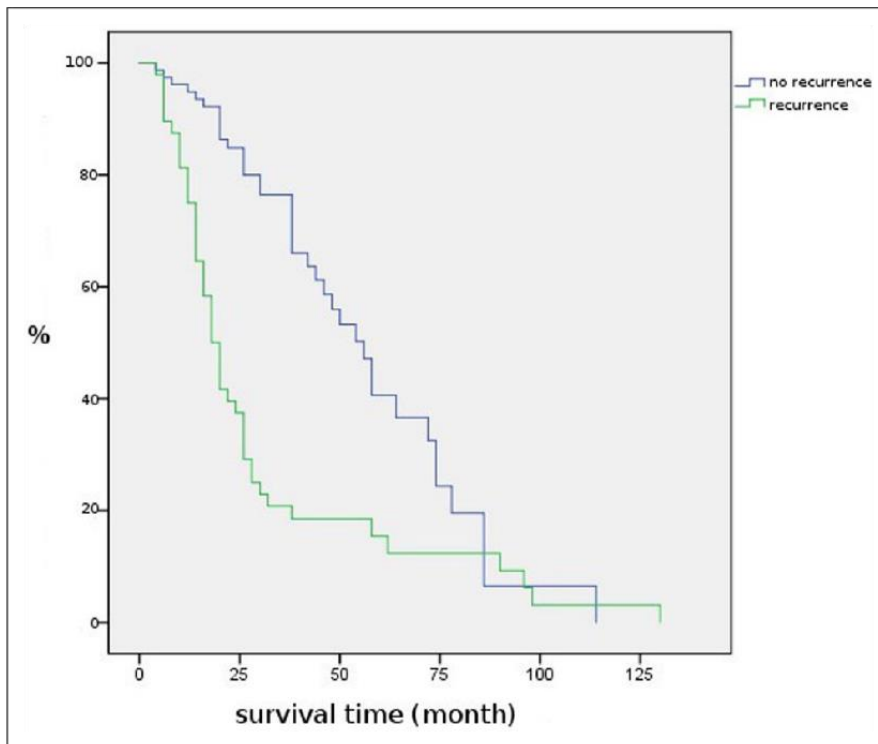


Figure 1 Kaplan–Meier plot depicting survival time (ST) in all 126 cats released from the hospital. There was a significant difference in ST in cats that experienced a recurrence compared with those that remained free of disease ($P < 0.001$)

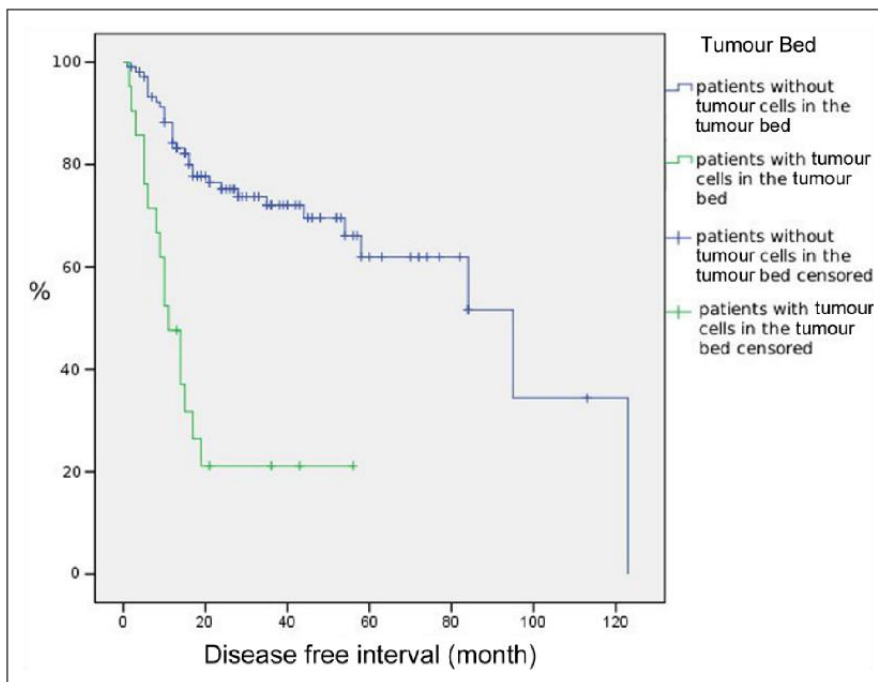


Figure 2 Kaplan–Meier plot depicting the disease-free interval of cats with ($n = 21$; green line) and without ($n = 105$, blue line) tumour cells detected in the tumour bed biopsies ($P = 0.026$)

Table 2 Survival time (ST) and disease-free interval (DFI) in relation to tumour location in the 99 cats with de novo tumours (groups 1 and 2)

Tumour location (n)	ST (months)	DFI (months) all 99 cats	DFI (months) in the 33 cats with recurrences
Chest wall (36)	21 ± 13.6	19.5 ± 14.4	10 ± 8.1
Abdominal wall (35)	36 ± 22.6	35 ± 21.3	13 ± 25.4
Interscapular (28)	26.5 ± 35.5	24.5 ± 35.8	10.5 ± 43.5
Total (99)	25.5 ± 24.3	21 ± 25.1	12 ± 28.1

Data are median ± SD

There was no significant difference when comparing the DFI between different tumour locations (abdominal wall 29.5 ± 22 months; chest wall 20.5 ± 15.8 months; interscapular 16 ± 33.8 months; ANOVA $P=0.105$, Kruskal-Wallis test $P=0.17$). In addition, when only cats with de novo tumours (groups 1 and 2; $n=99$) were analysed, there was also no association between tumour location and DFI (Table 2).

Forty-eight of the 126 (38.1%) cats that survived the postoperative period experienced local tumour recurrence. Thirty-three of these 48 cats belonged to groups 1 and 2 (surgery for a primary tumour) and reached a median ± SD DFI of 12 ± 28.1 months (range 1–123 months). The median ± SD DFI of the 15 cats that had recurrence after surgery for a recurrent tumour (groups 3 and 4) was 11 ± 15.1 months (range 3–>58 months), which was not significantly different ($P=0.96$) compared with the 33 cats from groups 1 and 2. In these cats, the median time to recurrence after having received the initial surgery at a first-opinion practice was 7 months (range 2–13 months), which was significantly shorter compared with cats with recurrences from groups 1 and 2 that had received radical surgery in a practice specialised in cancer treatment ($P=0.018$).

Recurrence rate

In 21/131 (16%) cats the tumour bed biopsies contained tumour cells and resection was therefore considered incomplete. Eight of 76 cats (10%) in group 1, 4/28 (14%) in group 2, 4/19 (21%) in group 3 and 5/8 (62%) in group 4 had tumour cells in tumour bed biopsies. As 5/76 patients in group 1 died perioperatively, only 126 cats could be evaluated for the rate and time of tumour recurrence. Sixteen of the 21 patients (76.2%) with positive tumour bed biopsies and 32/105 patients (30.5%) with negative tumour bed biopsies experienced a tumour recurrence. The median follow-up time for cats with and without recurrence was 17.1 and 32.5 months, respectively. The probability of tumour recurrence with positive tumour bed was significantly higher compared with negative tumour bed biopsies ($P < 0.001$). The relative risk of developing a recurrence with a positive tumour bed was 2.6 (odds ratio [OR] 7.8). Cats presenting with recurrent tumours (groups 3 and 4) had a significantly

higher risk of residual tumour cells in the tumour bed compared with patients from groups 1 and 2 (OR 3.833; $P=0.006$).

According to this, cats in groups 3 and 4 had a significantly higher chance of recurrence (RR 55.5%; $n=15/27$) compared with patients with primary tumours (RR 33.3%; $n=33/99$) ($P=0.005$). The relative risk of a previously operated on cat of developing another recurrence was 1.8 (OR 2.7). Receiver operating (ROC) analysis (ROC area 0.739) resulted in a 65% probability of a recurrence after 10 months, 21% after 20 months and 15% after 30 months.

There was a trend towards a higher likelihood of a presence of tumour cells in the tumour bed in interscapular tumours ($n=9/36$) compared with chest ($n=6/48$) and abdominal wall tumours ($n=6/47$) ($P=0.085$), but the RR in the different tumour locations was not statistically different ($P=0.544$).

There was no significant association between the tumour diameter and the location of the tumour. On multivariate analysis the likelihood of the tumour bed biopsies to contain tumour cells was not associated with tumour size ($P=0.726$). In addition, tumour size did not significantly affect the RR; however, there was a trend towards higher recurrence rates with increasing tumour size ($P=0.084$) (Table 3).

Discussion

This study confirms previously reported US,^{17,19,20,27,31,39,40} New Zealand²⁶ and European^{21,28,34,35} data concerning age, breed and sex distribution of cats affected by FISSs. In US reports, a significant proportion of FISSs affecting the (hind)limbs have been reported in addition to chest/abdominal wall and interscapular locations.^{17,19,20,31,32,40} It is noteworthy that in contrast to reports from the USA, FISSs on the limbs is virtually non-existent in the German cat population,^{10,41} which most likely reflects different preferences for injection/vaccination sites. Therefore, in the present study, only tumours on the chest or abdominal wall and in the interscapular location were included.

The study population included a higher number of chest/abdominal wall tumours than interscapular ones, but this may represent a selection bias, because only tumours considered operable with a curative intent were

Table 3 Recurrence rate of tumours and survival times (STs) dependent on size of tumour at presentation in the 99 patients with de novo tumours (group 1 and 2, median follow-up 24 months)

Tumour size (cm)		No recurrence	Recurrence	Median ST (months)	Total (n)
<2	n	32	9	29	41
	%	78.0	22.0		
2–4	n	25	15	27	40
	%	62.5	37.5		
>4	n	9	9	24.5	18
	%	50.0	50.0		
Total	n	66	33	28	99
	%	66.6	33.3		

included in the study. In a previous study by one of the authors in >2000 cases of FISSs in Germany, an equal distribution was reported between interscapular and body wall locations.⁴² Similarly, no conclusions on the rate of metastasis at time of diagnosis can be drawn from this study, as cats with radiographic lesions suggestive of pulmonary metastasis were not considered candidates for curative resections and therefore not included in the study.

In most studies, the histopathological subtypes of FISS influenced neither the biological behaviour of the tumours nor the treatment outcome.^{28,35} Therefore, for the purpose of this study, all histological variants of FISS were treated in the same manner. Histological grading of FISS into three malignancy grades has been performed by some authors using various canine soft tissue sarcoma grading systems, which are based on cellular differentiation, presence of necrosis and mitotic activity.^{16,21,28,35,40,43} Tumour grade did not prove to have prognostic significance in any of these studies and owing to the lack of a universally accepted grading system, the tumours in the present case series were not graded.

Most published studies on FISSs either include tumours of various locations^{17,19,20,31,32,40} or do not specify the tumour locations.^{21,27} Few studies give details on ST and DFI in regard to tumour location. In the study by Davidson et al,³¹ cats with tumours on the limbs had a higher median ST and DFI than patients with tumours on the trunk (limb: median ST and DFI of 15 months; trunk: median DFI and ST of 9 and 11 months, respectively). This was confirmed by Hershey et al,¹⁷ who showed that appendicular tumours treated with limb amputation were associated with a significantly longer DFI in comparison with other tumour locations (DFI median 325 days vs 66 days; $P=0.007$). Kobayashi et al included six cats with tumours in the hindlimb in a series of 92 cats.¹⁹ They reported that tumour location did not have a significant influence on ST or DFI. No further details were given, but considering that their study was designed to evaluate the effects of radiation on recurrence, it could be

assumed that these cats had received limb-sparing operations and were treated for residual disease. As cats with appendicular FISSs can frequently be treated curatively by amputation, it is conceivable that an appendicular tumour location influences DFI and ST.³¹

In most previous studies no further information is given on the prognosis (recurrences or STs) of patients with body wall vs interscapular tumours. Only Romanelli et al reported no significant association between prognosis and anatomical tumour location in a series of 57 cases.²⁸ However, almost half of the patients included in their study had been operated on for recurrent tumours and 15 had received adjuvant radiation in addition to surgery, which may limit the interpretation of their data. According to the present study, cats with tumours of the abdominal wall had a significantly longer ST compared with patients with chest wall tumours. Abdominal tumours tended to be smaller than chest wall and interscapular tumours (median diameter 2.0 cm vs 3.0 cm vs 2.4 cm, respectively). In addition, there was a significantly higher proportion of unclean resections in interscapular vs body wall tumours (25% vs 12.6%). These factors combined with the relative ease of resection compared with other locations may have contributed to the longer DFI of abdominal wall tumours (median DFI 29.5 months vs chest wall 20.5 months vs interscapular 16.0 months) and, as a result, may have led to improved STs of tumours in this location.

Most previous reports do not give details on the width of resection^{19,31,32,34} and/or include various adjuvant therapies, which may affect the outcome.^{17,19–21,26,31,32,34} Therefore, most studies are not comparable with the present study in which a standardised surgical approach was used with only one surgeon involved. Giudice et al reported on 48 cases with chest/abdominal or interscapular FISSs treated by surgery alone with resection margins of at least 3 cm.³⁵ Seventeen of the 48 cats (35.4%) in their study experienced a tumour recurrence; however, follow-up in some cases was only 6 months and no information

was given on median ST or DFI. Romanelli et al²⁸ reported a 36% RR in 42 cats treated with surgery alone, using 4–5 cm lateral margins and one facial plane deep ‘where possible’. Phelps et al reported radical en bloc resections of primary or recurrent tumours with 5 cm margins in 91 patients with tumours in various locations, including limbs.⁴⁰ With this approach the authors achieved a 14% RR with a median recurrence-free interval of 309 days. However, in their study 32/91 cats (35%) were lost to follow-up, including 4/10 cases with chest or abdominal wall resections. In addition, the postoperative follow-up time was as low as 80 days with no further details provided in the study.

After a median follow-up time of 34 months, 86 cats in our study had died, and in all 38 tumour-related deaths massive local tumour recurrence was documented. Forty cats died of non-tumour-related diseases (Table 1). Euthanasia in almost all cases was performed at the referring veterinarian’s practice and no systematic restaging and/or necropsy was performed at this time. Therefore, owing to the retrospective nature of the study, it remains unknown how many of the cats developed metastasis during the course of the disease. It is possible that, especially in cases of death classified as non-tumour-related, undiagnosed tumour metastasis may have contributed to the condition of the animal thus leading to the decision to euthanase the cat.

According to our study, >20% of the cats developed a recurrence >20 months after surgery. Several other authors reported recurrences of the tumours after long time intervals (1 to several years).^{26,35,40} Studies using a more conservative (marginal) surgical approach demonstrated a significantly shorter DFI compared with a radical surgery.¹⁷ This was confirmed in the 15 cats of groups 3 and 4 in our study, which had significantly shorter median DFI after the initial surgery compared with the DFI after a more radical approach (DFI 7 months vs 12 months, respectively; $P=0.018$). Some of the studies in the literature report fairly short follow-up times, which may affect the RR (Davidson et al:³¹ 60 days, RR 25.6%; Romanelli et al:²⁸ 129 days, RR 30–48%; Phelps et al:⁴⁰ 80 days, RR 14%). Martano et al,³⁴ who followed all 20 cats until death, reported an RR of 35%. The reason for the sometimes surprisingly long time interval between radical resection and tumour recurrence remains unclear. Cancer dormancy is a poorly understood phenomenon, and various mechanisms have been reported, including angiogenic dormancy, cellular dormancy and immune system surveillance.^{44,45} However, surgical stress may actually promote the transition of dormant tumour cells into active proliferation.⁴⁶ Therefore, it may also be speculated that the new tumour formation ≥ 2 years after the first surgery may not be a true recurrence originating from residual tumour cells but actually may represent a new and independent tumour formation originating

from fibroblasts that experienced malignant transformation in the inflammatory, pro-angiogenic and therefore tumor permissive microenvironment of the postoperative field.^{45,46} The sometimes long time intervals between the surgery and the ‘recurrence’ makes it desirable for future studies to extend the follow-up time beyond 1 or even 2 years.

According to our results, cats presenting with a recurrent tumour had a significantly higher risk of another recurrence compared with cats with tumours that had not previously been operated on (RR 55.5% vs 31.7%; $P=0.004$). Almost identical results were achieved by Cohen et al,³² who reported a 55% vs 31% RR in recurrent vs not previously operated patients. In another study including 41 cats, 68% of the cats experienced tumour recurrence within 2 years of surgery, but cats that had surgery for recurrent tumours had a significantly shorter tumour-free period.³⁷ Phelps et al reported the lowest RR of all studies.⁴⁰ However, 72 (79%) of their 91 cats had primary tumours removed, and only 19 (21%) recurrent tumours removed, which, among other variables, could have positively influenced the results of their study.

The histopathological assessment of surgical margins is considered one of the best determinants of adequate surgical treatment and for many cancers has been proven to be a strong predictor of treatment outcome.^{47,48} Unfortunately, until today, there have been no universally accepted standards regarding the evaluation and reporting of surgical margins in both human and veterinary oncology.^{48,49} It was not until recently that a large panel of veterinary pathologists published recommendations in an attempt to standardise the processing of submitted tumour tissues and the reporting of margins in resection specimens in veterinary patients.⁵⁰ Several methods such as the assessment of the surgical margin on two perpendicular cross sections, by serial lamellar sectioning, by tangential sectioning (shave biopsies) and by taking tumour bed biopsies have been reported.^{48,50} Inking of the cut surface or ‘critical areas’ by the surgeon has been used to aid the pathologist in identifying areas of interest on the submitted specimen.^{48,50,51} All techniques have inherent advantages and disadvantages, and, regardless of method used, there are limitations in sensitivity.^{48,52} In addition, post-removal (artefactual) changes in the dimensions of a sample, sliding of tissue planes and insufficient fixation, especially in large tissue blocks, may affect the processing and interpretation of a sample.^{52–54}

For FISSs, several studies have proven the value of margin determination in predicting DFI and ST. Studies discriminating ‘positive’ (containing tumour cells; ‘dirty’) from ‘negative’ (no tumour cells; ‘clean’) margins consistently found a prognostic significance, regardless of histopathological sampling technique used (Table 4). With the tumour bed biopsy technique

Table 4 Literature review regarding the influence of completeness of excision on recurrence rate and prognosis in feline injection-site sarcoma

Reference	Number of patients (adjuvant therapy)	Evaluation of margins	Incomplete, n (%)	Recurrence rate/prognosis in relation to cleanness of excision	Follow-up time
Present study	131	Tumour bed/resection margin biopsies	21 (16)	Recurrence unclean 76.2%, clean 30.5%, median ST unclean 26.5 months, clean 16 months	Median 25.5 months
Phelps et al ⁴⁰	91	Inking	3 (3)	Recurrence unclean 1/3, total 13/91 (14%)	Median 535 days
Giudice et al ³⁵	48	Shave biopsy (strip 3–4 mm thick from surgical margin)	16 (33)	Recurrence unclean (69%), clean (19%)	Minimum 6 months
Eckstein et al ²¹	73 (all RT)	Entire bloc submitted excision 'incomplete', <1 cm, >1 cm	13/46 (28%)	NR	Median 21 months
Kamenica et al ³⁷	41	NR	NR	68% within 1 year	Minimum 12 months
Romanelli et al ²⁸	57 (9 RT; 3 RT and tx; 3 tx)	Inking	3 (5)	NR	12 months
Kobayashi et al ¹⁹	92 (all RT)	Inking	28/87 (32)	First event: clean 986 days, unclean 292 days	First event (local failure, death, metastasis) follow-up 584 days
Cronin et al ²⁰	33 (all RT)	Presence of neoplastic cells extending to the cut surface	5/31 (16)	Median DFI: unclean 112 days, clean 700 days	NR
Davidson et al ³¹	35 (17 RT)	Resection margin biopsies	19/35 (54)	Median ST unclean 274.5 days, clean >488 days Median DFI unclean 122 days, clean 536 days	NR

If reported, method of margin evaluation is given; the follow-up time for each study is included

ST = survival time; RT = radiation therapy; NR = not reported; tx = chemotherapy (four cats carboplatin; two cats doxorubicin)

used in the present study, any identification of neoplastic cells in sections of the biopsies is considered consistent with an incomplete surgical excision.⁵⁰ Besides higher costs, the potential disadvantage of this technique is that it is dependent on the surgeon taking the appropriate tissue samples and no objective margin measurement can be performed. However, considering the lack of standardisation in veterinary pathology, taking multiple samples and specifically sampling 'critical areas' of the resection bed by the surgeon may increase the sensitivity of margin evaluation. To our knowledge systematic studies concerning the techniques of margin assessment are lacking in veterinary medicine. In the

present study cats without tumour cells in tumour bed biopsies had a significantly lower RR compared with cats in which the tumour bed biopsies contained tumour cells (30.5 vs 76.2%; $P < 0.001$). Our study demonstrated a significantly higher risk of finding tumour cells in the tumour bed in surgeries for recurrent tumours ($P = 0.006$) and a trend towards a higher proportion of tumour-containing tumour bed biopsies in interscapular vs body wall tumours (25% vs 12.6%; $P = 0.085$).

In the study by Dillon et al,⁵⁵ cats with tumours <2 cm in diameter had significantly better STs.⁵⁵ Such a correlation could not be demonstrated in the present study. However, when correlating tumour diameter with rate

of recurrence, a trend was demonstrated towards lower recurrence rates in relation to tumour size.

A 4.6% perioperative mortality rate was reported in a study including 153 cats,⁵⁶ which is similar to the rate of 3.8% (n=5/131) in the present study. Considering the extent of the surgical intervention, many pet owners may find the fatal complication rate acceptable in the context of treating an otherwise terminal disease.

Conclusions

Radical surgical excision of FISSs can be curative or at least lead to durable remissions but still results in recurrence rates ranging from 30–>50%, dependent primarily on factors such as surgery for primary vs recurrent tumour, complete excision with the absence of tumour cells in the tumour bed and tumour location. The results of this study may help in identifying cats at risk of recurrence.

Conflict of interest The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

References

- 1 Miller MA, Nelson SL, Turk JR, et al. **Cutaneous neoplasia in 340 cats.** *Vet Pathol* 1991; 28: 389–395.
- 2 Tennant B. **Feline injection-site fibrosarcomas: results of a BSAVA survey.** *J Small Anim Pract* 2000; 41: 181–182.
- 3 Wilcock B, Wilcock A and Bottoms K. **Feline postvaccinal sarcoma: 20 years later.** *Can Vet J* 2012; 53: 430–434.
- 4 Hendrick MJ, Goldschmidt MH, Shofer FS, et al. **Postvaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum.** *Cancer Res* 1992; 52: 5391–5394.
- 5 Coyne MJ, Reeves NC and Rosen DK. **Estimated prevalence of injection-site sarcomas in cats during 1992.** *J Am Vet Med Assoc* 1997; 210: 249–251.
- 6 McEntee MC and Page RL. **Feline vaccine-associated sarcomas.** *J Vet Intern Med* 2001; 15: 176–182.
- 7 Gobar GM and Kass PH. **World wide web-based survey of vaccination practices, postvaccinal reactions and vaccine site-associated sarcomas in cats.** *J Am Vet Med Assoc* 2002; 220: 1477–1482.
- 8 Séguin B. **Injection site sarcomas in cats.** *Clin Tech Small Anim Pract* 2002; 17: 168–173.
- 9 Martano M, Morello E and Buracco P. **Feline injection-site sarcoma: past, present and future perspectives.** *Vet J* 2011; 188: 136–141.
- 10 Hartmann K, Day MJ, Thiry E, et al. **Feline injection-site sarcoma: ABCD guidelines on prevention and management.** *J Feline Med Surg* 2015; 17: 606–613.
- 11 Doddy FD, Glickman LT, Glickman NW, et al. **Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites.** *J Comp Pathol* 1996; 114: 165–174.
- 12 Kidney BA, Haines DM, Ellis JA, et al. **Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from feline vaccine site-associated sarcomas for feline foamy virus DNA.** *Am J Vet Res* 2002; 63: 60–63.
- 13 Hendrick MJ and Brooks JJ. **Postvaccinal sarcomas in the cat: histology and immunohistochemistry.** *Vet Pathol* 1994; 31: 126–129.
- 14 Dubielzig RR, Hawkins KL and Miller PE. **Myofibroblastic sarcoma originating at the site of rabies vaccination in a cat.** *J Vet Diagn Invest* 1993; 5: 637–638.
- 15 Kliczkowska K, Jankowska U, Jagielski D, et al. **Epidemiological and morphological analysis of feline injection site sarcomas.** *J Vet Sci* 2015; 2: 313–322.
- 16 Couto SS, Griffey MS, Duarte PC, et al. **Feline vaccine-associated fibrosarcoma: morphologic distinctions.** *Vet Pathol* 2002; 39: 33–41.
- 17 Hershey AE, Sorenmo KU, Hendrick MJ, et al. **Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision: 61 cases (1986–1996).** *J Am Vet Med Assoc* 2000; 216: 58–61.
- 18 Couto CG and Macy DW. **Review of treatment options for vaccine-associated feline sarcoma.** *J Am Vet Med Assoc* 1998; 213: 1426–1427.
- 19 Kobayashi T, Hauck ML, Dodge R, et al. **Preoperative radiotherapy for vaccine associated sarcoma in 92 cats.** *Vet Radiol Ultrasound* 2002; 43: 473–479.
- 20 Cronin K, Page RL, Spodnick G, et al. **Radiation therapy and surgery for fibrosarcoma in 33 cats.** *Vet Radiol Ultrasound* 1998; 39: 51–56.
- 21 Eckstein C, Guscetti F, Roos M, et al. **A retrospective analysis of radiation therapy for the treatment of feline vaccine-associated sarcoma.** *Vet Comp Oncol* 2009; 7: 54–68.
- 22 Mayer MN, Treuil PL and La Rue SM. **Radiotherapy and surgery for feline soft tissue sarcoma.** *Vet Radiol Ultrasound* 2009; 50: 669–672.
- 23 Jas D, Soyer C, De Fornel-Thibaud P, et al. **Adjuvant immunotherapy of feline injection-site sarcomas with the recombinant canarypox virus expressing feline interleukine-2 evaluated in a controlled monocentric clinical trial when used in association with surgery and brachytherapy.** *Trials Vaccinol* 2015; 4: 1–8.
- 24 Ladlow J. **Injection site-associated sarcoma in the cat: treatment recommendations and results to date.** *J Feline Med Surg* 2013; 15: 409–418.
- 25 Hampel V, Schwarz B, Kempf C, et al. **Adjuvant immunotherapy of feline fibrosarcoma with recombinant feline interferon-omega.** *J Vet Intern Med* 2007; 21: 1340–1346.
- 26 Bray J and Polton G. **Neo-adjuvant and adjuvant chemotherapy combined with anatomical resection of feline injection-site sarcoma: results in 21 cats.** *Vet Comp Oncol* 2016; 14: 147–160.
- 27 Bregazzi VS, LaRue SM, McNiel E, et al. **Treatment with a combination of doxorubicin, surgery, and radiation versus surgery and radiation alone for cats with vaccine-associated sarcomas: 25 cases (1995–2000).** *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 547–550.
- 28 Romanelli G, Marconato L, Olivero D, et al. **Analysis of prognostic factors associated with injection-site sarcomas in cats: 57 cases (2001–2007).** *J Am Vet Med Assoc* 2008; 232: 1193–1199.
- 29 Rasnick KM, Rodriguez CO, Jr, Khanna C, et al. **Results of a phase 2 clinical trial on the use of ifosfamide for**

- treatment of cats with vaccine-associated sarcomas. *Am J Vet Res* 2006; 67: 517–523.
- 30 Rudmann DG, Van Alstine G, Doddy F, et al. **Pulmonary and mediastinal metastases of a vaccination-site sarcoma in a cat.** *Vet Pathol* 1996; 33: 466–469.
- 31 Davidson EB, Gregory CR and Kass PH. **Surgical excision of soft tissue fibrosarcomas in cats.** *Vet Surg* 1997; 26: 265–269.
- 32 Cohen M, Wright JC, Brawner WR, Jr, et al. **Use of surgery and electron beam irradiation, with or without chemotherapy, for treatment of vaccine-associated sarcomas in cats: 78 cases (1996–2000).** *J Am Vet Med Assoc* 2001; 219: 1582–1589.
- 33 Morrison WB, Starr RM and the Vaccine-Associated Feline Sarcoma Task Force. **Vaccine-associated feline sarcomas.** *J Am Vet Med Assoc* 2001; 218: 697–702.
- 34 Martano M, Morello E, Ughetto M, et al. **Surgery alone versus surgery and doxorubicin for the treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases.** *Vet J* 2005; 170: 84–90.
- 35 Giudice C, Stefanello D, Sala M, et al. **Feline injection-site sarcoma: recurrence, tumour grading and surgical margin status evaluated using the three-dimensional histological technique.** *Vet J* 2010; 186: 84–88.
- 36 Bostock DE and Dye MT. **Prognosis after surgical excision of fibrosarcomas in cats.** *J Am Vet Med Assoc* 1979; 175: 727–728.
- 37 Kamenica K, Brill T, Hirschberger J, et al. **Vakzineassoziierte feline Fibrosarkome: histopathologische Befunde und Prognose.** *Tierärztliche Praxis* 2008; 36: 127–134.
- 38 Dernell WS, Withrow SJ, Kuntz CA, et al. **Principles of treatment for soft tissue sarcoma.** *Clin Tech Small Anim Pract* 1998; 13: 59–64.
- 39 Lidbetter DA, Williams FA, Jr, Krahwinkel DJ, et al. **Radical lateral body-wall resection for fibrosarcoma with reconstruction using polypropylene mesh and a caudal superficial epigastric axial pattern flap: a prospective clinical study of the technique and results in 6 cats.** *Vet Surg* 2002; 31: 57–64.
- 40 Phelps HA, Kuntz CA, Milner RJ, et al. **Radical excision with five-centimeter margins for treatment of feline injection-site sarcomas: 91 cases (1998–2002).** *J Am Vet Med Assoc* 2011; 239: 97–106.
- 41 Haas J. **Klinik, Labordiagnostik und verwendete Impfstoffe bei Katzen mit einem Fibrosarkom: eine Übersicht über die Patienten der Medizinischen Tierklinik 1999–2007.** Dissertation thesis, Ludwig Maximilian University, 2009.
- 42 Kessler M. **Studies on the epidemiology of feline vaccine-associated fibrosarcomas in Germany.** Proceedings 7. FECAVA & 47. Annual Congress of the FK-DVG; 2001 Oct 25–28; Berlin, Germany. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2001.
- 43 Kuntz CA, Dernell WS, Powers BE, et al. **Prognostic factors for surgical treatment of soft tissue sarcomas in dogs: 75 cases (1986–1996).** *J Am Vet Med Assoc* 1997; 211: 1147–1151.
- 44 Almog C. **Molecular mechanisms underlying tumor dormancy.** *Cancer Lett* 2010; 294: 139–146.
- 45 Moserle L, Amadori A and Indraccolo S. **The angiogenic switch: implications in the regulation of tumor dormancy.** *Curr Mol Med* 2009; 9: 935–941.
- 46 Kadosawa T and Watabe A. **The effects of surgery-induced immunosuppression and angiogenesis on tumour growth.** *Vet J* 2015; 205: 175–179.
- 47 Scarpa F, Sabbatini S, Marconato L, et al. **Use of histologic margin evaluation to predict recurrence of cutaneous malignant tumors in dogs and cats after surgical excision.** *J Am Vet Med Assoc* 2012; 240: 1181–1187.
- 48 Milovancev M and Russell DS. **Surgical margins in the veterinary cancer patient.** *Vet Comp Oncol*. Epub ahead of print 14 February 2017. DOI: 10.1111/vco.12284.
- 49 Zhang P and Brooks JS. **Modern pathological evaluation of soft tissue sarcoma specimens and its potential role in soft tissue sarcoma research.** *Curr Treat Options Oncol* 2004; 5: 441–450.
- 50 Kamstock DA, Ehrhart EJ, Getzy DM, et al. **Recommended guidelines for submission, trimming, margin evaluation and reporting of tumor biopsy specimens.** *Vet Pathol* 2011; 48: 19–31.
- 51 Milovancev M, Löhr CV, Bildfell RJ, et al. **A comparison of microscopic ink characteristics of 35 commercially available surgical margin inks.** *Vet Surg* 2013; 42: 901–908.
- 52 Batsakis JG. **Surgical excision margins: a pathologist's perspective.** *Adv Anat Pathol* 1999; 6: 140–148.
- 53 Kerns MJ, Darst MA, Olsen TG, et al. **Shrinkage of cutaneous specimens: formalin or other factors involved?** *J Cutan Pathol* 2008; 35: 1093–1096.
- 54 Reimer SB, Seguin B, DeCock HE, et al. **Evaluation of the effect of routine histologic processing on the size of skin samples obtained from dogs.** *Am J Vet* 2005; 66: 500–505.
- 55 Dillon CJ, Mauldin GN and Baer KE. **Outcome following surgical removal of nonvisceral soft tissue sarcomas in cats: 42 cases (1992–2000).** *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 1955–1957.
- 56 Davis KM, Hardie EM, Martin FR, et al. **Correlation between perioperative factors and successful outcome in fibrosarcoma resection in cats.** *Vet Rec* 2007; 161: 199–200.

V. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, eine größere Anzahl von Katzen mit injektionsassoziierten Sarkomen hinsichtlich ihrer Prognose nach radikal-chirurgischer Resektion des Tumors zu untersuchen. Das Hauptaugenmerk bei der Datenauswertung lag auf der rezidivfreien Zeit, Rezidivrate und Überlebenszeit. Es wurden retrospektiv Daten von 131 Patienten ausgewertet, die aufgrund eines vermutlich injektionsassoziierten Fibrosarkoms vorgestellt wurden und deren Besitzer sich für eine radikale Operation entschieden hatten. Dabei wurden lediglich Tiere in die Auswertung eingeschlossen, die Tumoren an typischen Impflokalisationen wie Brust- oder Bauchwand oder interskapular aufwiesen. Patienten, deren Tumorgöße eine kurativ intentionierte radikale Entfernung nicht zuließen, wurden von der Studie ausgeschlossen. Es erscheint wenig sinnvoll, eine heterogene Gruppe zu bilden, in der radikal und nicht radikal resezierbare Tumoren gemeinsam ausgewertet werden, da marginale Tumorresektionen ein weitaus höheres Rezidivrisiko aufweisen und die Tiere folglich kürzere Überlebenszeiten haben (Cronin et al., 1998; Hershey et al., 2000).

Im Gegensatz zu vielen anderen Studien wurden die Patienten der vorliegenden Untersuchung alle von ein und demselben Chirurgen und mit einer einheitlichen Operationsmethode operiert. In anderen Studien standen bei gleicher Fragestellung häufig nur geringe Patientenzahlen zur Verfügung oder aber es wurden Tiere mit ausgewertet, die mit unterschiedlich weiten bzw. radikalen Resektionstechniken behandelt wurden oder aufgrund der Tumorlokalisierung an einer Gliedmaße eine Amputation erhielten (Cronin et al., 1998; Hershey et al., 2000; Cohen et al., 2001; Kobayashi et al., 2002; Lidbetter et al., 2002; Phelps et al., 2011). Ein FISS im Bereich der Gliedmaßen spiegelt allerdings nicht die in Deutschland typische Lokalisation der Fibrosarkome wider (Haas, Dissertation, 2008), und aufgrund der völlig anderen Resektionsmöglichkeiten (Gliedmaßenamputation) bei einer Tumorlokalisierung an den Gliedmaßen wurden in der vorliegenden Studie diese Patienten nicht mit einbezogen.

In der vorliegenden Studie wurde ein Mindestabstand von 3 cm zum palpablen Tumor eingehalten. Bisweilen wird auf Basis einer Studie von Phelps et al. (2005) ein Sicherheitsabstand von 5 cm propagiert. Da der Durchmesser der Tumoren in unserer Studie bei bis zu 7 cm lag, wäre ein Sicherheitsabstand zum palpablen Tumorrand von 5 cm mit einem nicht mehr zu deckenden Gewebeverlust einhergegangen. Es ist

anzumerken, dass in der Studie von Phelps et al. der Tumor bei 18 von 91 Patienten im Bereich der Gliedmaßen lokalisiert war, so dass hier durch eine Gliedmaßenamputation der Sicherheitsabstand zum palpablen Tumor großzügig bemessen werden konnte. Auch lässt sich der Studie von Phelps et al. bei der Beschreibung von Material und Methodik entnehmen, dass der 5 cm Abstand nur dann eingehalten wurde, wenn dieses „möglich“ erschien, allerdings werden keine Angaben darüber gemacht, bei wie vielen Patienten dieser Abstand tatsächlich eingehalten werden konnte. In einer jüngeren Studie aus dem Jahr 2014 wurde ebenfalls ein Resektionsrand von 3 cm um den palpablen Tumor bzw. um die Narbe der vorangegangenen Operation und damit eine Rezidivrate von nur 14% erreicht (Bray & Polton, 2014).

Nicht ausreichend radikale bzw. marginale Operationstechniken gehen bei einem FISS mit einer sehr hohen Rezidivrate einher (Hershey et al., 2000; Eckstein et al., 2009). Die Chance, bei einem rezidierten Tumor mit einer zweiten, radikale(re)n Operation noch ein kuratives Ergebnis zu erzielen, ist im Vergleich zur Operation eines nicht voroperierten Tumors geringer (Cohen et al., 2001). Um zu untersuchen, in wieweit die Resektion eines Primärtumors im Vergleich zur Operation eines bereits rezidierten Tumors Einfluss auf das Langzeitergebnis hat, wurden die Katzen in Abhängigkeit der Tumorlokalisation zusätzlich in Gruppen mit Primärtumoren und Rezidiven unterteilt. In der vorliegenden Studie lag die Gefahr eines Rezidivs bei voroperierten Tieren mit 55% signifikant höher verglichen mit Tieren, die mit einem Primärtumor vorgestellt wurden ($p=0,005$). Zwar besteht die Möglichkeit, dass Besitzer Rezidive früher ertasten, da bereits eine Sensibilität für die Erkrankung besteht, dies scheint jedoch keine Auswirkung auf das Ergebnis zu haben. Vielmehr muss bei einem Rezidiv davon ausgegangen werden, dass die bei der Erstoperation im Gewebe verbliebenen Tumorzellen das Tumorgebiet bis zum Auftreten des palpablen Rezidivs weiträumig infiltriert haben, was bei einer erneuten Operation noch radikalere chirurgische Methoden verlangen würde. Letztere sind oft anatomisch nicht möglich, was die Prognose verschlechtert. Studien aus der Humanmedizin zeigen, dass im Falle von wiederholt rezidivierenden Weichteilsarkomen von einem zunehmend aggressiveren Wachstum ausgegangen werden muss (Daigeler et al., 2014).

Bei Diagnose der Erkrankung müssen die Therapieoptionen seitens des Arztes abgewogen werden. Dabei muss anhand der Tumorlokalisation und anderer prognostischer Faktoren individuell entschieden werden, ob eine radikal chirurgische

Therapie in Frage kommt. Wichtig ist hierbei die Aufklärung des Patientenbesitzers über das Ausmaß des chirurgischen Eingriffs welcher das bestmögliche Ergebnis erzielt. Die vorliegende Studie bietet hierfür eine gute Basis und liefert Daten zur postoperativen Überlebenszeit und Rezidivgefahr. Bei nicht kurativen Operationen ist aufgrund des hohen Rezidivrisikos stets eine adjuvante Therapie erforderlich. Es ist jedoch zu beachten, dass auch diese nicht als kurativ anzusehen ist, da die Rezidivgefahr auch nach adjuvanter Therapie hoch ist (McEntee & Page, 2001). Selbst nach kurativ intentionierten Eingriffen stellt sich aufgrund des Rezidivrisikos die Frage, ob grundsätzlich oder zumindest bei Vorliegen negativ prognostischer Faktoren eine Adjuvanttherapie empfohlen werden sollte. Hierzu gehören neben der Strahlentherapie die zytotoxische Chemotherapie, der Einsatz von Tyrosinkinaseinhibitoren, die Immuntherapie und andere, bislang experimentelle Therapieformen. Die beste adjuvante Therapie oder Therapiekombination konnte bislang nicht gefunden werden. Daher wird auf dem Gebiet der adjuvanten Therapie der injektionsassoziierten Fibrosarkome nach wie vor rege geforscht. Für die Auswertung der Erfolge von Adjuvanttherapien ist eine historische Vergleichsbasis standardisiert chirurgisch therapierter Patienten von großer Wichtigkeit. Aufgrund der heterogenen Datenlage in der veterinärmedizinischen Literatur ist eine solche Vergleichspopulation bislang nur bedingt verfügbar (vgl. Tabelle 1). Auch hier bietet die vorliegende Studie als historische Kontrolle eine wertvolle Ergänzung der Literatur und eine gute Basis für die Einschätzung der Erfolge einer adjuvanten Therapie.

Selektion der Patienten und Patientengut

In die Studie eingeschlossen wurden alle Katzen mit einem histologisch diagnostizierten Fibrosarkom, welches an einer typischen Impflokalisation lag. Da für den deutschsprachigen Raum Brustwand, Bauchwand und interskapuläre Region zu den Impflokalisationen zählen (Haas, Dissertation, 2008), wurden alle Patienten mit Fibrosarkomen an anderen Lokalisationen ausgeschlossen. Auch Katzen mit Fibrosarkomen der Gliedmaße wurden nicht in die Auswertung einbezogen, da sich die Empfehlungen der Vaccine-Associated Sarcoma Task Force (VASTF), Impfungen an den distalen Gliedmaßen durchzuführen, in Deutschland bislang nicht durchgesetzt haben und folglich diese Lokalisation keine Prädilektionsstelle darstellt (Morrison et al., 2001; Haas, Dissertation, 2008; Hartmann et al., 2015). Patienten, bei denen lediglich

eine marginale Entfernung des Tumors durchgeführt werden durfte oder konnte, wurden nicht in die Studie eingeschlossen.

Die in die Studie eingeschlossene Patientenpopulation ist als repräsentativ anzusehen. Sowohl die Altersverteilung wie auch Rasse- und Geschlechtsverteilung der Tiere stimmen mit denen in der Literatur überein. Erwartungsgemäß zeigte sich beim Patientengut keine Geschlechts- oder Rasseprädisposition. Die Geschlechterverteilung ist in den Angaben der Literatur unterschiedlich. In einzelnen Studien waren prozentual mehr weibliche Tiere (Hendrick et al., 1992; Doddy et al., 1996; Kass et al. 2003), etwas häufiger zählten geringfügig mehr männliche Tiere zum Patientengut (Hershey et al., 2000; Cohen et al., 2001; Couto et al., 2002).

Nur in einer Studie war das Geschlechterverhältnis exakt gleich (Kobayashi et al., 2002). Das mediane Alter der 131 Katzen der vorliegenden Studie betrug 9,7 Jahre. Die Altersangaben in der Literatur bewegen sich zwischen 8 und 10 Jahren (Miller et al., 1991; Hendrick & Brooks, 1994; Doddy et al., 1996; Couto et al., 2002; Banerji et al., 2007; Wilcock et al., 2012). Auch die Rasseverteilung entspricht den in der Literatur gefundenen Angaben. Der Großteil des Patientengutes waren Europäisch Kurzhaar Katzen und vereinzelt traten Rassekatzen auf (Hershey et al., 2000; Kobayashi et al., 2002; Kass et al., 2003; Phelps et al., 2011).

Tumorlokalisation und Tumorparameter

Entgegen der Ergebnisse anderer Studien wurden in der vorliegenden Studie weniger Patienten mit Tumoren in der Interskapularregion inkludiert. Von den 104 Primärtumoren lagen mit 41% die meisten Tumoren an der Brustwand, wo hingegen die Interskapularregion nur zu 29,1% betroffen war. In der Literatur wurde bisher die Interskapularregion als häufigste Lokalisation angegeben (Doddy et al., 1996; Haas, Dissertation, 2008). Die Anzahl der interskapularen Fibrosarkome gingen nach Veröffentlichung der Impfeempfehlungen der VASTF kaum zurück (Hartmann et al., 2015). Ob die vorliegenden Ergebnisse für eine Sensibilisierung der Tierärzteschaft, andere Injektionslokalisationen zu präferieren, sprechen, bleibt unklar. Da in die Studie nur Tiere inkludiert wurden, die einen mit kurativem Therapieziel operablen Tumor aufwiesen, könnte die in dieser Hinsicht vermeintlich ungünstigere Interskapularregion zum überproportionalen Ausschluss von Katzen mit Tumoren in dieser Lokalisation geführt haben. In der vorliegenden Studie zeigten die Patienten mit interskapularen

Tumoren mit $16 \pm 33,8$ Monaten das kürzeste rezidivfreie Intervall im Vergleich zu den Tumoren an Brust- oder Bauchwand, allerdings mit einer sehr weiten Streubreite. Am wahrscheinlichsten erklärt sich das durch die Schwierigkeit, in dieser Lokalisation ausreichend Gewebe zu entfernen und einen sauberen Resektionsrand zu erzielen. Dies scheint plausibel, wenn man die Anzahl der Patienten mit unsauberem Tumorbett zwischen den verschiedenen Lokalisationen vergleicht. Hier lag bei der Gruppe mit interskapularen Tumoren die Anzahl der Patienten mit unsauberem Tumorbett ($n=9/36$) höher als bei den Brust- bzw Bauchwandtumoren. Somit sollte einerseits verstärkt darauf geachtet werden, die Interskapularregion grundsätzlich als Injektionslokalisierung zu vermeiden, andererseits stellt sich die Frage, ob Patienten mit interskapularen Tumoren postoperativ grundsätzlich einer adjuvanten Therapie unterzogen werden sollten.

Die Tumorgröße, gemessen mittels Messschieber am größten Diameter, lag zwischen 1-3 cm. Der statistischen Analyse zufolge zeigte die Tumorgröße keinen Einfluss auf die rezidivfreie Zeit und Überlebenszeit. Dieselben Ergebnisse erhielten Romanelli et al. (Romanelli et al., 2008). Cohen et al. dagegen nutzten eine zweidimensionale Messung der Tumorgröße und konnten einen signifikanten Zusammenhang zwischen Tumorgröße und Überlebenszeit feststellen (Cohen et al., 2001). Möglicherweise ist eine eindimensionale Größenmessung des Tumors nicht aussagefähig genug. Wie Untersuchungen mittels Computertomographie zeigen, ist der Tumor in der Regel deutlich größer als palpatorisch angenommen (McEntee & Page, 2001). Dies ist möglicherweise auf die typischen, nicht palpierbaren, aber computertomographisch teilweise darstellbaren Ausläufer des Tumors zurück zu führen (Ferrari et al., 2017). Mit zunehmender Tumorgröße nimmt die Diskrepanz zwischen palpatorisch und computertomographisch gemessener Tumorausdehnung tendenziell zu (Ferrari et al., 2017). Weiteren Untersuchungen zufolge empfehlen sich dynamische computertomographische Untersuchungen. Travetti et al. führten bei interskapular lokalisierten Fibrosarkomen zusätzlich zum Standardprotokoll mit cranial gelagerten Gliedmaßen eine Untersuchung mit nach caudal entlang des Körpers gelagerten Gliedmaßen durch und stellten fest, dass der Tumorbereich bei gestreckten Gliedmaßen 2,09 Muskeln umfasste, im Vergleich zu 1,95 bei gebeugten Gliedmaßen (Travetti et al., 2013). Auch Longo et al. empfehlen eine derartige „dynamische“ computertomographische Untersuchung des Tumorbereichs (Longo et al., 2018).

Auch in dieser Untersuchung wurden in der gestreckten Position mehr Muskeln (1,9 bzw. 1,89) infiltriert als in der gebeugten Lagerung (1,84 bzw. 1,85). Zusätzlich wurde empfohlen, bei interskapular gelegenen Tumoren die Messung des Abstandes zu angrenzenden skelettalen Strukturen (Proc. spinosus des Wirbelkörpers und Skapula) in beiden Lagerungen durchzuführen, da diese sich in gebeugter und gestreckter Haltung signifikant unterschieden und somit die Operationsplanung beeinflussten (Longo et al., 2018). Ob eine computertomographische Operationsplanung die postoperativen Ergebnisse verbessern bzw. die Rezidivwahrscheinlichkeit beeinflussen, ist noch nicht wissenschaftlich geklärt. Die vorliegende Studie wurde ohne computertomographische Operationsplanung durchgeführt. Sie könnte demnach als Vergleichspopulation für eine Nachfolgeuntersuchung dienen, die bei gleicher Patientenselektion und Operationstechnik den zusätzlichen Einsatz der computertomographischen Planung untersucht.

Todesursache

Von den 131 Katzen verstarben fünf Katzen innerhalb der ersten 5 postoperativen Tage. Da bei keiner der verstorbenen Katzen eine Sektion durchgeführt wurde, kann die Todesursache nicht sicher bestimmt werden. Möglich sind neben okkulten Herzerkrankungen auch die Tatsache, dass trotz intensiver postoperativer Betreuung der substanzielle Gewebeverlust oder bei Brustwandresektion eine Kompromittierung der Atmung todesursächlich sein könnten. Auch in der Literatur sind unmittelbar postoperative Todesfälle beschrieben. Bei Romanelli et al. verstarben 5 von 57 Katzen im unmittelbaren postoperativen Zeitraum und in der Studie von Kobayashi 3 von 92 Katzen innerhalb der ersten Woche (Kobayashi et al., 2002; Romanelli et al., 2008). Hinsichtlich der Größe des vorgenommenen Eingriffes, den damit verbundenen möglichen Komplikationen und dem fortgeschrittenen Alter, in dem die Patienten in der Regel operiert werden, erscheint die 3,8%ige Todesrate der vorliegenden Studie tolerierbar.

Für die 126 Katzen ergab sich eine mediane follow up Zeit von 25,5 (2-129) Monaten. In diesem Zeitraum verstarben 38 Katzen aus tumor-assoziierten Gründen (Tumorrezidive) und 40 Katzen aus nicht tumor-assoziierten Gründen. Bei der Gruppe der Katzen, die aus tumor-assoziierten Gründen verstarb, war ein Großteil (n=25/38) bereits voroperiert; nur 13 Katzen der primär operierten Patienten verstarben aus

tumor-assoziierten Gründen. Dies bestätigt die Annahme, dass eine radikale Operation von Primärtumoren insbesondere hinsichtlich der Rezidivrate von Vorteil ist. Auch Cohen et al. bestätigen eine fast gleich hohe Rezidivrate bei bereits voroperierten Patienten (55% Rezidivrate) im Vergleich zu primär operierten (31% Rezidivrate).

Die **mediane Überlebenszeit** aller 126 Katzen lag bei $25,5 \pm 24,3$ Monaten ohne einen signifikanten Unterschied zwischen primär resezierten Tumoren und Operationen an Rezidiven. In der Literatur finden sich kaum vergleichende Angaben über die Überlebenszeit von primären und rezidierten Tumoren. Nur Cronin et al. bestätigen die Ergebnisse in dieser Studie und konnten ebenfalls keinen Unterschied der Überlebenszeit in Abhängigkeit zur Anzahl der Operationen feststellen (Cronin et al., 1998). Dies ist eine interessante Beobachtung, da zwar aufgezeigt werden konnte, dass Patienten nach der Operation von Tumorrezidiven ein höheres Risiko für ein erneutes Rezidiv haben, dies scheint aber im Gesamtverlauf keinen Einfluss auf die Überlebenszeit zu nehmen.

Die Überlebenszeit wurde allerdings signifikant von der Lokalisation des Tumors und des Ergebnisses des chirurgischen Eingriffs beeinflusst. So zeigten Katzen mit tumorzell-freiem, also „sauberem“ Tumorbett mit $28 \pm 26,19$ Monaten eine signifikant längere Überlebenszeit im Vergleich zur Gruppe mit Tumorzellen im Tumorbett ($16 \pm 13,47$ Monate). Auch Cronin et al. hatten in ihrer Patientengruppe mit 700 Tagen eine signifikant längere Überlebenszeit bei tumorzellfreien Resektionsrändern. Die Gruppe mit unsauberem Tumorbett zeigte mit median 112 Tagen eine noch kürzere Überlebenszeit (Cronin et al., 1998). Die Evaluation „sauberer“ Schnittränder des Tumors ist aufgrund fehlender Standards in der Histopathologie im Hinblick auf die Untersuchung dieses Parameters schwierig. Dennoch ist dies ein prognostisch wichtiger Faktor wie auch andere Studien belegen (Kobayashi et al., 2002). Phelps et al. erzielten bei 88 von 91 Patienten mit einem Resektionsrand von 5 cm tumorzellfreie Resektionsränder und senkten die Rezidivrate damit auf nur 14 Prozent (Phelps et al., 2011). In dieser Studie zeigten die Patienten mit Rezidiv mit 499 Tagen eine deutlich kürzere Überlebenszeit als Patienten ohne Rezidiv (1461 Tage).

Die **rezidivfreie Zeit** lag mit $21 \pm 24,5$ Monaten über den 309 Tagen rezidivfreier Zeit, die in einer ähnlichen Studie erzielt wurden (Phelps et al., 2011). Beide Studien sind jedoch nicht direkt vergleichbar. Einerseits wurden in der Studie von Phelps et al. 19% der Patienten aufgrund der Tumorlokalisierung im Gliedmaßenbereich mit einer Amputation behandelt, andererseits waren die Tumoren größer (mediane Tumorgöße 4 cm). Dies hatte möglicherweise einen negativen Einfluss auf das chirurgische Ergebnis.

Die Tumorlokalisierung scheint keinen Einfluss auf die rezidivfreie Zeit zu haben. In anderen Studien fehlt weitestgehend die Korrelation zwischen Tumorlokalisierung und rezidivfreier Zeit. Kobayashi et al. stellten fest, dass bei Operationen, bei denen Knochen entfernt werden mussten, der Zeitraum zwischen Operation und „first event“ (Rezidiv, Tod, Euthanasie oder Auftreten von Metastasen) signifikant kürzer als bei reinen Weichteiloperationen war (Kobayashi et al., 2002). Auch Hershey et al. stellten fest, dass Patienten mit appendikularen Tumoren signifikant längere tumorfreie Intervalle zeigen als die Gruppe mit Tumoren anderer Lokalisationen (Hershey et al., 2000). Da Amputationen aber weitaus radikaler und mit einem größeren Sicherheitsabstand durchgeführt werden können als Operationen an den in dieser Studie ausgewerteten Tumorlokalisierungen, sind die Ergebnisse nur bedingt vergleichbar.

Vergleicht man das tumorfreie Intervall zwischen einer Erstoperation durch einen nicht chirurgisch spezialisierten Tierarzt mit dem in einer spezialisierten Klinik bei Operationen durch einen Tumorchirurgen erreichbaren Ergebnis, lässt sich ein signifikanter Unterschied feststellen ($7 \pm 3,43$ Monate vs $25,5 \pm 24,3$ Monate; $p=0,018$). Es zeigt sich, dass zwar ein signifikanter Anteil der Patienten trotz radikalchirurgischer Maßnahmen ein Tumorrezidiv erfährt, aufgrund des weitaus längeren tumorfreien Intervalls dies jedoch nicht zu signifikanten Unterschieden im Hinblick auf die postoperative Gesamtüberlebenszeit zwischen Patienten mit oder ohne Rezidiv führt. Dies ist eine interessante Beobachtung, da schlussendlich nicht die Frage nach der Rezidivwahrscheinlichkeit, sondern vielmehr die Frage nach der zu erwartenden Überlebenszeit entscheidend für die Wahl der Therapie und die Besitzerberatung sein sollte.

Die **Rezidivrate** wird maßgeblich von dem chirurgischen Ergebnis beeinflusst. Tumorzellfreie Resektionsränder haben eine geringere Rezidivrate zur Folge. In der

vorliegenden Studie rezidierten 21% der Tumoren mit „sauberen“ Resektionsrändern und 62% der Tumoren, bei denen Tumorzellen am Resektionsrand nachweisbar waren. In einer Studie mit 91 Katzen, die mit einer Resektionsweite von 5 cm operiert wurden, waren 3 Resektionen inkomplett (Phelps et al., 2011). Dabei war die Technik der Überprüfung eines sauberen Schnittrandes in den einzelnen Studien unterschiedlich bzw. sogar vielfach nicht oder nur unzureichend dokumentiert (vgl. Tab. 1). Tumorbettbiopsien, wie in der vorliegenden Untersuchung, wurden in keiner der vergleichbaren Studien genommen. In einigen Studien wurden die exzidierten Tumoren pathologisch hinsichtlich ihrer Tumorzellfreiheit am Schnittrand des Exzidatblocks beurteilt (Kobayashi et al., 2002; Lidbetter et al., 2002; Eckstein et al., 2009; Giudice et al., 2010; Phelps et al., 2011). Giudice et al. untersuchten die Tumorgrenzen mit einer dreidimensionalen histologischen Technik aus der Humanmedizin. Sie stellten fest, dass die Rezidivrate bei tumorzellfreien Resektionsrändern nur bei 19% lag, im Vergleich zu 69% bei infiltrierten Tumorrändern. Leider wurde in dieser Untersuchung kein Zusammenhang zur Überlebenszeit oder rezidivfreien Zeit gezogen (Giudice et al., 2010). In vielen anderen Studien wurde keine Untersuchung hinsichtlich verbliebener Tumorzellen im Tumorbett durchgeführt (Hershey et al., 2000; Bregazzi et al., 2001; Cohen et al., 2001; Martano et al., 2005), was einen Vergleich mit der Literatur erschwert.

Neben dem chirurgischen Ergebnis beeinflusste die Anzahl der Voroperationen das Rezidivrisiko. Patienten, die mit voroperierten Tumoren vorgestellt wurden, hatten ein deutlich höheres Risiko, erneut ein Rezidiv zu bilden und ein signifikant höheres Risiko, dass bei erneuter Operation Tumorzellen im Tumorbett verblieben ($p=0,006$). Bei einmaliger Operation lag das Rezidivrisiko in einer vergleichbaren Studie bei 31%. Tumoren, die mehr als einmal operiert wurden, rezidierten zu 55%. Allerdings fokussiert sich diese Studie auf die adjuvante Bestrahlungstherapie und die Operationen waren nicht alle gleich radikal und standardisiert (Cohen et al., 2001).

Die Pathogenese des Tumors und der Zusammenhang mit Vakzination und anderen Injektionen erfordert einen sensiblen Umgang mit diesem Thema und eine belastbare Datenbasis, um sensibilisierte Tierhalter aufklären zu können. Impfungen sind notwendige und sinnvolle prophylaktische Maßnahmen. Sie sind im Verhältnis zur Prävalenz des Fibrosarkoms als verhältnismäßig sicher anzusehen. Allerdings muss abgewogen werden, welche Impfungen für eine individuelle Katze sinnvoll bzw.

erforderlich sind. Auch die Impfpfehlungen der VAFSTF sind zu beachten. Allerdings kann man an der Verteilung der injektionsassoziierten Sarkome ablesen, dass die Bereitschaft, in die distalen Gliedmaßenbereiche zu injizieren, gering ist. Sicherlich erscheint eine Injektion unter die „mobilere“ Haut sowohl für Tierarzt als auch Tierbesitzer einfacher zu sein, dennoch sollte man als praktizierender Tierarzt immer wieder auch im Gespräch mit den Besitzern die vernünftigen Gründe für eine andere Injektionslokalisation abwägen.

Einschränkungen der Studie

Die retrospektive Vorgehensweise der Studie ist mit den inhärenten Einschränkungen aller Retrospektivuntersuchungen verbunden. Hierzu gehören die möglicherweise uneinheitliche Dokumentation von klinischen Parametern wie Tumorgröße und –verschieblichkeit, die nicht standardisierten Verlaufsuntersuchungen und die Abhängigkeit von Aufzeichnungen der überweisenden Tierärzte in Bezug auf den Zeitpunkt des Auftretens von Rezidiven und der Überlebenszeit. Die lediglich manuelle Messung der Tumorgröße ist in der vorliegenden Studie eine Einschränkung und lässt im Vergleich zu computertomographisch gestützter Messung und Operationsplanung möglicherweise weniger prognostische Aussagen zu. Weiterhin wäre eine pathologische Untersuchung der verstorbenen Katzen interessant gewesen, um zu klären, ob mehr Rezidive oder Metastasen auftraten, als mit der Information von Besitzern und betreuenden Tierärzten zu erheben war.

Nach der medianen follow up Zeit von 34 Monaten waren noch 45 Katzen am Leben. Alle Patienten wurden mindestens 12 Monate nach Operation beobachtet. Eine follow up Zeit bis zum Tod aller in die Studie eingeschlossenen Tiere hätte eventuell geringfügig andere Ergebnisse bezüglich Rezidivrate und Überlebenszeit ergeben. Es ist auffällig, dass in der vorliegenden Studie Rezidive häufig erst nach langer Zeit auftraten. So lässt sich eine Gruppe von Patienten finden, bei denen es innerhalb von einigen Monaten zum Rezidiv kam, während eine weitere Gruppe zum Teil erst nach Jahren ein Rezidiv erfuhr. Hier stellt sich die Frage, welche Faktoren zu einem derart langen tumorfreien Intervall führen. Nach den Erkenntnissen der modernen Onkologie stellt die Tumoroperation selbst einen tumorbegünstigenden Faktor dar. Dies erklärt sich multifaktoriell durch eine Kombination aus veränderter Gefäßversorgung (und damit Oxygenierung des Wundheilungsgebiets), der Immunkompromittierung durch

den Eingriff selbst, der postoperativen Entzündungsreaktion, die im Zusammenhang mit den im Rahmen der Wundheilung freigesetzten Wachstumsfaktoren und Transmitterstoffen steht, sowie der resorptiven Entzündung im Zusammenhang mit dem Abbau toten Gewebes und der Resorption von Nahtmaterial (Hofer et al., 1999; Coffey et al., 2003; Goldstein et al., 2011; Lejeune, 2012; Ceelen et al., 2014). Eine mögliche Erklärung für lange tumorfreie Intervalle wird häufig mit dem Phänomen der "tumor dormancy" erklärt. Bei einer Tumor Dormancy kommt es zur Tumorkontrolle unter anderem durch das Immunsystem, möglicherweise aber auch noch durch unbekannte Faktoren, die dazu führen, dass ein Tumorgeschehen über einen längeren Zeitraum in einem Ruhezustand verbleibt (Moserle et al., 2009; Almog, 2010). Andererseits ist jedoch auch davon auszugehen, dass jede Katze, die ein Fibrosarkom erfährt, eine genetische Prädisposition hierfür aufweist. Eine solche genetische Prädisposition für injektionsassoziierte Sarkome wurde bereits in der Literatur diskutiert (Banerji et al., 2007; Madewell et al., 2004). Insofern ist ebenfalls denkbar, dass Katzen, deren Rezidiv erst nach langer tumorfreier Zeit auftritt, nicht ein Rezidiv des vormals operierten Tumors, sondern vielmehr eine de novo Entstehung eines neuen Tumors im tumorbegünstigenden Milieu der Operationslokalisation erfahren. Sofern diese Theorie zutrifft, würden solche Patienten von einer nach der Operation des ersten Tumors durchgeführten adjuvanten Therapie kaum profitieren.

VI. Zusammenfassung

Zielsetzung:

Aufgrund ihres stark infiltrativen Wachstums haben feline injektions-assoziierte Sarkome (FISS) ein signifikantes Rezidivrisiko. Ziel der Studie war es, Parameter mit möglicher prognostischer Signifikanz (z.B. Tumorgröße und Tumorlokalisation, Resektion von de novo versus rezidivierten Tumoren, histologisch tumorfreie Resektionsränder) hinsichtlich ihres Einflusses auf die Rezidivrate (RR), das tumorfreie Intervall (DFI) und die Überlebenszeit (ST) zu untersuchen.

Methoden:

Retrospektive Auswertung von Katzen mit an der Brust-/Bauchwand oder interskapular lokalisierten FISS, die in ein und derselben Institution mit einer standardisierten radikalen Resektionstechnik mit 3 cm seitlichem Abstand und „volle Dicke“ (Brust-/Bauchwandtumoren) bzw. minimal zwei Faszienebenen (interskapulare Tumoren) operiert wurden.

Ergebnisse:

Das mediane postoperative DFI und ST aller 131 Katzen betrug 21 bzw. 24 Monate. Patienten, die an einem bereits rezidivierten Tumor operiert wurden, starben signifikant häufiger aus tumor-assoziierten Gründen, verglichen mit Patienten mit de novo Tumoren ($p < 0,001$). RR und DFI in den verschiedenen Tumorlokalisationen waren vergleichbar ($p = 0,544$ und $p = 0,17$). Ein lokales Tumorrezidiv trat bei 38,1% der Katzen auf. Katzen, die an einem bereits rezidivierten Tumor operiert wurden, hatten ein signifikant höheres Risiko für ein erneutes Rezidiv (RR 55,5 % vs 33,3 %; $p = 0,005$ %). Die Vollständigkeit der Exzision wurde durch Tumorbettbiopsien überprüft. Tumorzellfreie Resektionsrandbiopsien gingen mit einer signifikant geringeren Rezidivrate einher (30,5% versus 76,2% bei positiven Resektionsrandbiopsien).

Schlussfolgerung und Relevanz:

Bei feline injektions-assoziierten Sarkomen liegt die Rezidivrate trotz kurativ intentionierter radikaler Resektion mit 3 cm peripherem Abstand und volle Dicke (Brust-/ Bauchwandtumoren) bzw. minimal zwei Faszienebenen (interskapulare Tumoren) zwischen 33-55%. Sie ist abhängig von prognostischen Faktoren wie die Operation primärer versus rezidivierter Tumoren, Tumorzellfreiheit der Resektionsränder und der Tumorlokalisierung. Die vorliegende Studie kann helfen, Patienten mit Rezidivrisiko zu erkennen.

VII. Summary

Objectives:

Due to its highly infiltrative growth, feline injection site sarcoma (FISS) carries a significant risk of local tumor recurrence. Parameters of possible prognostic significance (eg. tumor size and location, resection of de novo versus recurrent tumors, and achievement of tumor free „surgical margins“) were examined in regards to their influence on recurrence rate (RR), disease free interval (DFI), and survival time (ST).

Methods:

Retrospective analysis of cats with FISS located on the chest or abdominal wall or the interscapular region treated in a single institution using a standardized radical resection technique with 3 cm lateral margins and full-thickness body wall resection (tumors over chest/abdominal wall) or a minimum of two fascial planes (interscapular tumors).

Results:

Median postoperative DFI and ST of 131 cats with FISS was 21 and 24 months, respectively. Patients operated on for recurrent tumors were significantly more likely to die from tumor related reasons compared to patients with de novo tumors ($p < 0.001$). RR and DFI in the different tumor locations were comparable ($p = 0.544$ and $p = 0.17$, respectively). Local tumor recurrence occurred in 38.1 % of the cats. Cats operated on for tumor recurrences had a significantly higher chance for another recurrence (RR 55.5 % vs 33.3 %; $p = 0.005$ %). Completeness of excision was determined by taking tumor bed biopsies. Tumor bed biopsies that did not contain tumor cells were associated with a significantly lower recurrence rate compared to those with tumor cells (30.5 versus 76.2 %).

Conclusions and relevance:

Depending on prognostic factors such as surgery for primary versus recurrent tumor, tumor free resection margins, and tumor location, the RR in FISS ranges from 33 % to 55 %, despite curative intent radical surgery. This study may help in identifying patients at risk for recurrence.

VIII. Literaturverzeichnis

[1]Almog C. Molecular mechanisms underlying tumor dormancy. *Cancer Lett.* 2010; 294: 139-146.

[2]Banerji N, Kapur V, Kanjilal S. Association of germ-line polymorphisms in the feline p53 gene with genetic predisposition to vaccine-associated feline sarcoma. *J Hered.* 2007; 98: 421-427.

[3]Barber LG, Sorenmo KU, Cronin KL, Shofer FS. Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2000; 36: 416-421.

[4]Bray J, Polton G. Neo-adjuvant chemotherapy and anatomical resection of feline injection site sarcoma: results in 21 cats. *Vet Comp Oncol.* 2016; 14: 147-160.

[5]Bregazzi VS, LaRue SM, McNiel E, Macy DW, Dernel WS, Powers BE, Withrow SJ. Treatment with a combination of doxorubicin, surgery, and radiation versus surgery and radiation alone for cats with vaccine-associated sarcomas: 25 cases (1995-2000). *J Am Vet Med Assoc.* 2001; 218: 547-550.

[6]Briscoe CM, Lipscomb TP, McKinney L. Pulmonary metastasis of a feline vaccination-site fibrosarcoma. *J Vet Diagn Invest.* 1998; 10: 79–82.

[7]Brown NO, Patnaik AK, Mooney S, Hayes A, Harvey HJ, Mac Ewen EG. Soft tissue sarcomas in the cat. *J Am Vet Med Assoc.* 1978; 173: 744-749.

[8]Buracco P, Martano M, Morello E, Ratto A. Vaccine-associated-like fibrosarcoma at the site of a deep nonabsorbable suture in a cat. *Vet J.* 2002; 163: 105-107.

[9]Carminato A, Vascellari M, Marchioro W, Melchiotti E, Mutinelli F. Microchip-associated fibrosarcoma in a cat. *Vet Derm.* 2011; 22: 565–569.

[10]Ceelen W, Pattyn P, Mareel M. Surgery, wound healing, and metastasis: recent insights and clinical implications. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014; 89:16-26.

[11]Coffey JC, Wang JH, Smith MJ, Bouchier-Hayes D, Cotter TG, Redmond HP. Excisional surgery for cancer cure: therapy at a cost. *Lancet Oncol.* 2003; 4: 760-768.

[12]Cohen M, Wright JC, Brawner WR, Smith AN, Henderson R, Behrend EN. Use of surgery and electron beam irradiation, with or without chemotherapy, for treatment of vaccine-associated sarcomas in cats: 78 cases (1996-2000). *J Am Vet Med Assoc.* 2001; 219: 1582-1589.

[13]Couto SS, Griffey SM, Duarte PC, Madewell BR. Feline vaccine-associated fibrosarcoma: morphologic distinctions. *Vet Pathol.* 2002; 39: 33-41.

[14]Coyne MJ, Reeves NC, Rosen DK. Estimated prevalence of injection-site sarcomas in cats during 1992. *J Am Vet Med Assoc.* 1997; 210: 249-251.

[15]Cronin K, Page RL, Spodnick G, Dodge R, Hardie EN, Price GS, Ruslander D, Thrall DE. Radiation therapy and surgery for fibrosarcoma in 33 cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 1998; 39: 51-56.

[16]Daigeler A, Zmarsly I, Hirsch T, Goertz O, Steinau H-U, Lehnhardt M, Harati K. Long-term outcome after local recurrence of soft tissue sarcoma: a retrospective analysis of factors predictive of survival in 135 patients with locally recurrent soft tissue sarcoma. *Brit J Cancer.* 2014; 110:1456-1464.

[17]Davidson EB, Gregory CR, Kass PH. Surgical excision of soft tissue fibrosarcomas in cats. *Vet Surg.* 1997; 26: 265-269.

[18]Davis KM, Hardie EM, Martin FR, Zhu J, Brownie C. Correlation between perioperative factors and successful outcome in fibrosarcoma resection in cats. *Vet Rec.* 2007; 161: 199-200.

[19]Day MJ, Schoon HA, Magnol JP, Saik J, Devachelle P, Truyen U, Gruffydd-Jones TJ, Cozette V, Jas D, Pouet H, Pollmeier M, Thibault JC. A kinetic study of histopathological changes in the subcutis of cats injected with non-adjuvanted and adjuvanted multi-component vaccines. *Vaccine* 2007; 25: 4073-4084.

[20]De Man MM, Ducatelle RV. Bilateral subcutaneous fibrosarcomas in a cat following feline parvo-, herpes- and calicivirus vaccination. *J Feline Med Surg.* 2007; 9: 432-434.

[21]Dernell WS, Withrow SJ, Kuntz CA, Powers BE. Principles of treatment for soft tissue sarcoma. *Clin Tech Small Anim Pract.* 1998; 13: 59-64.

[22]Doddy FD, Glickman LT, Glickman NW, Janovitz EB. Feline fibrosarcomas at vaccination sites and non-vaccination sites. *J Comp Pathol.* 1996; 114: 165-174.

[23]Dubielzig RR, Everitt J, Shaddock JA, Albert DM. Clinical and morphologic features of post-traumatic ocular sarcomas in cats. *Vet Pathol.* 1990; 27: 62-65.

[24]Eckstein C, Guscelli F, Roos M, Martin de las Mulas J, Kaser-Hotz B, Rohrer Bley C. A retrospective analysis of radiation therapy for the treatment of feline vaccine-associated sarcoma. *Vet Comp Oncol.* 2009; 7: 54-68.

[25]Esplin DG, McGill LD, Meininger AC, Wilson SR. Postvaccination sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 202: 1245-1247.

[26]Ferrari R, Di Giancamillo M, Stefanello D, Giudice C, Grieco V, Longo M, Ravasio G, Boracchi P. Clinical and computed tomography tumour dimension assessments for planning wide excision of injection site sarcomas in cats: how strong is the agreement? *Vet Comp Oncol.* 2017; 15: 374-382.

[27]Giudice C, Stefanello D, Sala M, Cantatore M, Russo F, Romussi S, Travetti O, Di Giancamillo M, Grieco V. Feline injection-site sarcoma: recurrence, tumour grading and surgical margin status evaluated using the threedimensional histological technique. *Vet J.* 2010; 186: 84-88.

[28]Gobar GM, Kass PH. World Wide Web-based survey of vaccination practices, postvaccinal reactions, and vaccine site-associated sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2002; 220: 1477-1482.

[29]Goldstein MR, Mascitelli L. Surgery and cancer promotion: are we trading beauty for cancer? *QJM.* 2011; 104: 811-815.

[30]Haas J. Klinik, Labordiagnostik und verwendete Impfstoffe bei Katzen mit einem Fibrosarkom - Eine Übersicht über die Patienten der Medizinischen Kleintierklinik 1999 – 2007. Dissertation vet med., München: Ludwig-Maximilian-Universität, 2008.

[31]Haddad JL, Goldschmidt MH, Patel RT. Fibrosarcoma arising at the site of a retained surgical sponge in a cat. *Vet Clin Pathol.* 2010; 39: 241–246.

[32]Hampel V. Adjuvante Immuntherapie des felinen Fibrosarkoms mit rekombinantem felinen Interferon- ω . Dissertation vet med., München: Ludwig-Maximilian-Universität, 2007.

[33]Hartmann K, Day MJ, Thiry E, Lloret A, Frymus T, Addie D, Boucraut-Baralone C, Egberink H, Gruffydd-Jones T, Horzinek MC, Hosie MJ, Lutz H, Marsilio F, Pennisi MG, Radford AD, Truyen U, Möstl K. Feline injection site sarcoma ABCD Guidelines on prevention and management. *J Fel Med and Surg.* 2015; 17: 606-613.

[34]Hendrick MJ, Dunagan CA. Focal necrotizing granulomatous panniculitis associated with subcutaneous injection of rabies vaccine in cats and dogs: 10 cases (1988–1989). J Am Vet Med Assoc. 1991; 198: 304–305.

[35]Hendrick MJ, Goldschmidt MH. Do injection site reactions induce fibrosarcomas in cats? J Am Vet Med Assoc. 1991; 199: 968.

[36]Hendrick MJ, Goldschmidt MH, Shofer FS, Wang YY, Somlyo AP. Postvaccinal sarcomas in the cat: epidemiology and electron probe microanalytical identification of aluminum. Cancer Res. 1992; 52: 5391-5394.

[37]Hendrick MJ, Brooks JJ. Postvaccinal sarcomas in the cat: histology and immunohistochemistry. Vet Pathol. 1994; 31: 126-129.

[38]Hendrick MJ, Shofer FS, Goldschmidt MH, Haviland JC, Schelling SH, Engler SJ, Gliatto JM. Comparison of fibrosarcomas that developed at vaccination sites and at nonvaccination sites in cats: 239 cases (1991-1992). J AmVet Med Assoc. 1994; 205: 1425-1429.

[39]Hendrick MJ. Feline vaccine-associated sarcomas: current studies on pathogenesis. J Am Vet Med Assoc. 1998; 213: 1425-1426.

[40]Hershey AE, Dubielzig RR, Padilla ML, Helfand SC. Aberrant p53 expression in feline vaccine-associated sarcomas and correlation with prognosis. Vet Pathol. 2005; 42: 805-811.

[41]Hershey AE, Sorenmo KU, Hendrick MJ, Shofer FS, Vail DM. Prognosis for presumed feline vaccine-associated sarcoma after excision: 61 cases (1986-1996). J Am Vet Med Assoc. 2000; 216: 58-61.

[42]Hofer SO, Molema G, Hermens RA, Wanebo HJ, Reichner JS, Hoekstra HJ. The effect of surgical wounding on tumour development. *Eur J Surg Oncol.* 1999; 25: 231-243.

[43]Jas D, Soyer C, De Fornel-Thibaud P, Oberli F, Vernes D, Guigal PM, Poulet H. Adjuvant immunotherapy of feline injection-site sarcomas with the recombinant canarypox virus expressing feline interleukine-2 evaluated in a controlled monocentric clinical trial when used in association with surgery and brachytherapy. *Trials Vaccinol.* 2015; 4: 1–8.

[44]Jourdier TM, Moste C, Bonnet MC, Delisle F, Tafani JP, Devauchelle P, Tartaglia J, Moingeon P. Local immunotherapy of spontaneous feline fibrosarcomas using recombinant poxviruses expressing interleukin 2 (IL2). *Gene Ther.* 2003; 10: 2126-2132.

[45]Kamenica K, Brill Th, Hirschberger J, Köstlin R, Hermanns W. Vakzineassoziierte feline Fibrosarkome: histopathologische Befunde und Prognose. *Tierärztl Prax.* 2008; 36: 127–134.

[46]Kass PH, Barnes WG Jr, Spangler WL, Chomel BB, Culbertson MR. Epidemiologic evidence for a causal relation between vaccination and fibrosarcoma tumorigenesis in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 1993; 203: 396-405.

[47]Kass PH, Spangler WL, Hendrick MJ, McGill LD, Esplin DG, Lester S, Slater M, Meyer EK, Boucher F, Peters EM, Gobar GG, Htoo T, Decile K. Multicenter case-control study of risk factors associated with development of vaccine-associated sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2003; 223: 1283-1292.

[48]Kempf C. Nonviraler Gentransfer der feline Zytokin-Gene IL-2, IFN- γ und GM-CSF als adjuvante Immuntherapie beim Fibrosarkom der Katze. Eine klinische Phase I-Studie. Dissertation vet med., München: Ludwig-Maximilian-Universität, 2005.

[49]Kidney BA, Ellis JA, Haines DM, Jackson ML. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues obtained from vaccine site-associated sarcomas of cats for DNA of feline immunodeficiency virus. *Am J Vet Res.* 2000; 61: 1037-1041.

[50]Kidney BA, Ellis JA, Haines DM, Jackson ML. Comparison of endogenous feline leukemia virus RNA content in feline vaccine and nonvaccine site-associated sarcomas. *Am J Vet Res.* 2001; 62: 1990-1994.

[51]Kidney BA, Haines DM, Ellis JA, Burnham ML, Jackson ML. Evaluation of formalin-fixed paraffin-embedded tissues from feline vaccine site associated sarcomas for feline foamy virus DNA. *Am J Vet Res.* 2002; 63: 60-63.

[52]King GK, Yates KM, Greenlee PG, Pierce KR, Ford CR, McAnalley BH, Tizard IR. The effect of Acemannan Immunostimulant in combination with surgery and radiation therapy on spontaneous canine and feline fibrosarcomas. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1995; 3: 439-447.

[53]Kobayashi T, Hauck ML, Dodge R, Page RL, Price GS, Williams LE, Hardie EM, Mathews KG, Thrall DE. Preoperative radiotherapy for vaccine associated sarcoma in 92 cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 2002; 43: 473-479.

[54]Lester S, Clemett T, Burt A. Vaccine site-associated sarcomas in cats: clinical experience and a laboratory review (1982-1993). *J Am Anim Hosp Assoc.* 1996; 32: 91-95.

[55]Lejeune FJ. Is surgical trauma prometastatic? *Anticancer Res.* 2012; 32: 947-951.

[56]Levine PA. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell.* 1997; 88: 323–331.

[57]Lidbetter DA, Williams FA Jr, Krahwinkel DJ, Adams WH. Radical lateral body-wall resection for fibrosarcoma with reconstruction using polypropylene mesh and a caudal superficial epigastric axial pattern flap: a prospective clinical study of the technique and results in 6 cats. *Vet Surg.* 2002; 31: 57-64.

[58]Longo M, Zani DD, Ferrari R, Bassi J, Andreis ME, Stefanello D, Giudice C, Grieco V, Liuti T, Handel I, Di Giancamillo M. Dynamic tomographic studies of interscapular feline injection-site sarcoma: essential or useless practice? *J Fel Med and Surg.* 2018; 20: 502-508.

[59]Macy DW, Hendrick MJ. The potential role of inflammation in the development of postvaccinal sarcomas in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1996; 26: 103-109.

[60]Macy DW, Couto CG. Prevention and treatment of feline injection-site sarcomas. *J Fel Med and Surg.* 2001; 3: 169-170.

[61]Madewell BR, Griffey SM, McEntee MC, Leppert VJ, Munn RJ. Feline vaccine-associated fibrosarcoma: an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999). *Vet Pathol.* 2001; 38: 196-202.

[62]Madewell BR, Gieger TL, Pesavento PA, Kent MS. Vaccine site-associated sarcoma and malignant lymphoma in cats: a report of six cases (1997-2002). *J Am Anim Hosp Assoc.* 2004, 40: 47-50.

[63]Martano M, Morello E, Buracco P. Feline injection-site sarcoma: past, present and future perspectives. *Vet J.* 2011; 188: 136-41.

[64]Martano M, Morello E, Ughetto M, Iussich S, Petterino C, Cascio P, Buracco P. Surgery alone versus surgery and doxorubicin for the treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases. *Vet J.* 2005; 170: 84-90.

[65]Mayer MN, Treuil PL, LaRue SM. Radiotherapy and surgery for feline soft tissue sarcoma. *Vet Radiol and Ultrasound*. 2009; 50: 669-672.

[66]McEntee MC, Page RL. Feline vaccine-associated sarcomas. *J Vet Intern Med*. 2001; 15: 176-182.

[67]Miller MA, Nelson SL, Turk JR, Pace LW, Brown TP, Shaw DP, Fischer JR, Gosser HS. Cutaneous neoplasia in 340 cats. *Vet Pathol*. 1991; 28: 389-395.

[68]Morrison WB, Starr RM. Vaccine-associated feline sarcomas. *J Am Vet Med Assoc*. 2001; 218: 697-702.

[69]Moserle L, Amadori A, Indraccolo S. The angiogenic switch: implications in the regulation of tumor dormancy. *Curr Mol Med*. 2009; 9:935-941.

[70]Mowat FM, Langohr IM, Bilyk O, Koterbay A, Pierce KE, Peterson-Jones SM. Bilateral uveal metastasis of a subcutaneous fibrosarcoma in a cat. *Vet Ophthalmol*. 2012; 15: 391-397.

[71]Munday JS, Banyay K, Berdein D, French AF. Development of an injection site sarcoma shortly after meloxicam injection in an unvaccinated cat. *J Feline Med Surg*. 2011; 13: 988-991.

[72]Nambiar PR, Jackson ML, Ellis JA, Chelack BJ, Kidney BA, Haines DM. Immunohistochemical detection of tumor suppressor gene p53 protein in feline injection site-associated sarcomas. *Vet Pathol*. 2001; 38: 236-238.

[73]Nieto A, Sanchez MA, Martinez E, Rollane E. Immunohistochemical expression of p53, fibroblast growth factor-b, and transforming growth factor- α in feline vaccine-associated sarcomas. *Vet Pathol*. 2003; 40: 651-658.

[74]Nolan MW, Griffin LR, Custis JT, La Rue SM. Stereotactic body radiation therapy for treatment of injection-site sarcomas in cats: 11 cases (2008–2012). *J Am Vet Med Assoc.* 2013; 243: 526-531.

[75]Patnaik AK, Liu SK, Hurvitz AI, Mc Clelland AJ. Nonhematopoietic neoplasms in cats. *J Natl Cancer Inst.* 1975; 54: 855-860.

[76]Phelps HA, Kuntz CA, Milner RJ, Powers BE, Bacon NJ. Radical excision with five-centimeter margins for treatment of feline injection-site sarcomas: 91 cases (1998-2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2011; 239: 97-106.

[77]Poirier VJ, Thamm DH, Kurzman ID, Jeglum KA, Chun R, Obradovich JE, O'Brien M, Fred RM, Phillips BS, Vail DM. Liposom-encapsulated doxorubicin (Doxil) and doxorubicin in the treatment of vaccine-associated sarcoma in cats. *J Vet Intern Med.* 2002; 16: 726-731.

[78]Rassnick KM, Rodriguez CO, Khanna C, Rosenberg MP, Kristal O, Chaffin K, Page RL. Results of a phase II clinical trial on the use of ifosfamide for treatment of cats with vaccine-associated sarcomas. *Am J Vet Res.* 2006; 67: 517-523.

[79]Romanelli G, Marconato L, Olivero D, Massari F, Zini E. Analysis of prognostic factors associated with injection-site sarcomas in cats: 57 cases (2001-2007). *J Am Vet Med Assoc.* 2008; 232: 1193-1199.

[80]Rossi F, Marconato L, Sabattini S, Cancedda S, Laganga P, Leone VF, Rohrer Bley C. Comparison of definitive-intent finely fractionated and palliative-intent coarsely fractionated radiotherapy as adjuvant treatment of feline microscopic injection-site sarcoma. *J Feline Med Surg.* 2019; 21: 65-72.

[81]Rudmann DG, van Alstinef G, Doddy F, Sandusky GE, Barkdull T, Janovitz EB. Pulmonary and mediastinal metastases of a vaccination-site sarcoma in a cat. *Vet Pathol.* 1996; 33: 466-469.

[82]Saba CF, Vail DM, Thamm DH. Phase II clinical evaluation of lomustine chemotherapy for feline vaccine-associated sarcoma. *Vet Comp Oncol.* 2012; 10: 283-291.

[83]Scarpa F, Sabattini S, Marconato L, Capitani O, Morini M, Bettini G. Use of histologic margin evaluation to predict recurrence of cutaneous malignant tumors in dogs and cats after surgical excision. *J Am Vet Med Assoc.* 2012; 10: 1181-1187.

[84]Seguin B. Injection site sarcomas in cats. *Clin Tech Small Anim Pract.* 2002; 17: 168-173.

[85]Shaw SC, Kent MS, Gordon IK, Collins CJ, Greasby TA, Beckett LA, Hammond GM, Skorupski KA. Temporal changes in characteristics of injection-site sarcomas in cats: 392 cases (1990–2006). *J Am Vet Med Assoc.* 2009; 234: 376–380.

[86]Spugnini EP, Renaud SM, Buglioni S, Carocci F, Dragonetti E, Murace R, Cardelli P, Vincenzi B, Baldi A, Citro G. Electrochemotherapy with cisplatin enhances local control after surgical ablation of fibrosarcoma in cats: an approach to improve the therapeutic index of highly toxic chemotherapy drugs. *J Transl Med.* 2011; 9: 152-157.

[87]Srivastav A, Kass PH, McGill LD, Farver TB, Kent MS. Comparative vaccine-specific and other injectable-specific risks of injection-site sarcomas in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 2012, 241: 595-602.

[88]Tennant B. Feline injection-site fibrosarcomas: results of a BSAVA survey. *J Small Anim Pract.* 2000; 41: 181-182.

[89]Travetti O, di Giancamillo M, Stefanello D, Ferrari R, Giudice C, Grieco V, Saunders JH. Computed tomography characteristics of fibrosarcoma - a histological subtype of feline injection-site sarcoma. J Fel Med and Surg. 2013; 15: 488-93.

[90]Wiedmann K. Klinische Phase I-Studie zur neoadjuvanten immunstimulierenden Therapie des felinen Fibrosarkoms mit Interleukin-2 und Interferon- γ . Dissertation vet med., München: Ludwig-Maximilian-Universität, 2005.

[91]Wieland S. Klinische Phase I-Studie zur genterapeutischen Immunstimulation durch Interleukin-2 und Interferon-gamma als adjuvante Behandlung des felinen Fibrosarkoms. Dissertation vet med., München: Ludwig-Maximilian-Universität, 2002.

[92]Wilcock B, Wilcock A, Bottoms K. Feline postvaccinal sarcoma: 20 years later. Can Vet J. 2012; 53: 430–434.

[93]Zabielska-Koczywas K, Michalak K, Wojtalewicz A, Winiarczyk M, Adaszek L, Winiarczyk S, Lechowski R. Proteomic differences in feline fibrosarcomas grown using doxorubicin-sensitive and –resistant cell lines in the chick embryo model. Int J Mol Sci. 2018; 19: 576-591.

IX. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Johannes Hirschberger danke ich ganz herzlich für die bereitwillige Übernahme der Betreuung, seine schnellen Antworten bei offenen Fragen und seine freundliche und motivierende Art.

Mein besonderer Dank gilt meinem Mentor Dr. Martin Kessler für die Betreuung während der gesamten Zeit. Mit seiner professionellen Art und großen Erfahrung war er ein großartiger Ansprechpartner.

Ich danke Herrn Dr. Reese für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung, seine Geduld bei Nachfragen und seine verständlichen Darstellungen.

Ich danke J. Laun für ihre Hilfe und Unterstützung.

Meinen Eltern danke ich von ganzem Herzen, dass sie mich immer unterstützt haben und ich bei Fragen und Problemen, bei Sorgen und Ängsten jederzeit einen sicheren Hafen hatte.

Ich danke Armin Müller dafür, dass er mir den Rücken frei gehalten hat, mich immer wieder motiviert hat und mir gezeigt hat, was man mit Ruhe alles schaffen kann.

Danke