

Die Konzentration zirkulierender Leukozyten und ihr Verhältnis
zueinander als prätherapeutische prognostische Faktoren bei
Katzen mit strahlentherapeutisch behandelten
Plattenepithelkarzinomen

von Farina Anath Kerneck

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

Die Konzentration zirkulierender Leukozyten und ihr Verhältnis
zueinander als prätherapeutische prognostische Faktoren bei
Katzen mit strahlentherapeutisch behandelten
Plattenepithelkarzinomen

von Farina Anath Kerneck
aus Hamburg

München 2025

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

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. Andreas F. Parzefall

Tag der Promotion: 08. Februar 2025

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	4
1.	Die Rolle der Entzündung in der Onkogenese.....	4
1.1.	Extrinsische Faktoren.....	5
1.2.	Intrinsische Faktoren.....	6
1.3.	Tumorassoziierte Entzündung.....	6
2.	Tumorassoziierte Leukozyten	7
2.1.	Neutrophile Granulozyten.....	7
2.1.1.	Polarisierung der neutrophilen Granulozyten	8
2.1.2.	Neutrophile Granulozyten in der Onkogenese	9
2.2.	Monozyten.....	11
2.2.1.	Klassische Monozyten.....	12
2.2.2.	Nicht-klassische Monozyten	13
2.2.3.	Intermediäre Monozyten	13
2.2.4.	Monozyten in der Onkogenese.....	13
2.3.	Makrophagen.....	15
2.3.1.	Tumorassoziierte Makrophagen.....	16
2.3.2.	Polarisierung der TAMs	16
2.3.3.	TAMs in der Onkogenese	17
2.4.	Lymphozyten.....	19
2.4.1.	T-Lymphozyten.....	19
2.4.1.1.	CD4+ T-Lymphozyten	19
2.4.1.2.	CD8+ T-Lymphozyten	21
2.4.1.3.	T-Lymphozyten in der Onkogenese.....	22
2.4.2.	B-Lymphozyten.....	25
2.4.2.1.	B-Lymphozyten in der Onkogenese.....	26
3.	Zirkulierende Leukozyten als prognostische Faktoren	27
3.1.	Zirkulierende neutrophile Granulozyten als prognostischer Faktor.....	28
3.2.	Zirkulierende Monozyten als prognostischer Faktor	28
3.3.	Zirkulierende Lymphozyten als prognostischer Faktor	29
4.	Leukozyten-Ratios als prognostische Faktoren.....	29

4.1.	Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio	30
4.2.	Lymphozyten:Monozyten-Ratio	31
5.	Das kutane Plattenepithelkarzinom der Katze.....	31
5.1.	Ätiologie.....	32
5.2.	Biologisches und klinisches Verhalten	33
5.3.	Diagnostisches Vorgehen und Staging.....	33
5.4.	Therapie.....	34
5.5.	Prognostische Faktoren	36
III.	MATERIAL UND METHODEN	37
6.	Datenerhebung	37
7.	Patienten.....	37
7.1.	Einschlusskriterien	37
7.2.	Signalement und Anamnese	38
7.3.	Voruntersuchungen	38
7.3.1.	Allgemeine klinische Untersuchung	38
7.3.2.	Spezielle onkologische Untersuchung	38
7.3.3.	Laborparameter	39
7.4.	Follow-up	41
8.	Statistische Auswertung.....	42
IV.	ERGEBNISSE	45
9.	Patientendaten	45
9.1.	Signalement und Anamnese	45
9.1.1.	Vorbehandlungen	45
9.2.	Voruntersuchungen	46
9.2.1.	Allgemeine klinische Untersuchung	46
9.2.2.	Spezielle onkologische Untersuchung	47
9.2.3.	Laboruntersuchungen	48
10.	Follow-up.....	50
11.	Statistische Auswertung.....	51
11.1.	Ergebnisse des Shapiro-Wilk Test	51
11.2.	Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman.....	52
11.3.	Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests.....	54

11.4.	Ergebnisse der Kaplan-Meier Überlebenszeitanalyse.....	55
11.4.1.	Gesamtüberlebenszeit.....	55
11.4.2.	Progressionsfreie Überlebenszeit	62
11.4.3.	Tumorfremie Überlebenszeit.....	68
11.5.	Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse.....	74
V.	DISKUSSION	78
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	96
VII.	SUMMARY.....	97
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	98
IX.	ANHANG	134
X.	DANKSAGUNG	135

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ARG1	Arginase 1
Bcl6	<i>B-cell lymphoma 6</i>
Bregs	regulatorische B-Lymphozyten
bzw.	beziehungsweise
CCL	C-C-Chemokin Ligand
CCR	C-C-Chemokin Rezeptor
CD	<i>cluster of differentiation</i>
cMoP	<i>common monocyte progenitor</i>
COX-2	Cyclooxygenase 2
CSF1	<i>macrophage colony-stimulating factor</i>
CSF1R	CSF1-Rezeptor
CTLA-4	<i>cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4</i>
CXCR	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor
DAMPs	<i>damage-associated molecular patterns</i>
df	Freiheitsgrad
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	<i>epidermal growth factor</i>
FNA	Feinnadelaspiration
G-CSF	<i>Granulocyte-colony stimulating factor</i>
GM-CSF	<i>Granulocyte-macrophage-colony stimulating factor</i>
HIF1	<i>hypoxia-inducible factor 1</i>
i.d.R.	In der Regel

IFN	Interferone
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
IRIS	<i>International Renal Interest Society</i>
IRS1	<i>insulin receptor substrate 1</i>
kg	Kilogramm
LMR	Lymphozyten:Monozyten-Ratio
MALT	Lymphknoten, Milz, Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
MMP	Matrix Metalloproteinasen
MPO	Myeloperoxidase
MPS	Mononukläres Phagozytensystem
MYC	<i>myelocytomatosis oncogene</i>
NE	Neutrophile Elastase
NETs	<i>Neutrophil Extracellular Traps</i>
NF- κ B	<i>Nuklear Faktor-κB</i>
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NLR	Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio
<i>p</i>	Signifikanzniveau von 5 %
PCNA	<i>proliferating-cell-nuclear-antigen</i>
PD-1	<i>programmed cell death protein 1</i>
PD-L1	<i>programmed death ligand-1</i>
PI3K	<i>phosphatidylinositol 3-kinase</i>

PIGF	<i>placental growth factor</i>
RECIST	<i>response evaluation criteria in solid tumors in dogs</i>
ROS	<i>reaktive oxygen species</i>
SCF	Kit Ligand
STAT3	<i>signaltransducer and activator of transcription</i>
T1	≤1,5 cm im Durchmesser
T2	>1,5 cm im Durchmesser
TAMs	tumorassoziierte Makrophagen
TANs	Tumorassoziierte neutrophile Granulozyten
TGF	<i>transforming growth factor</i>
ThFH	follikuläre Th- Zellen
Th-Zellen	T-Helferzellen
TNF	Tumornekrosefaktor
TRAIL	<i>TNF-related apoptosis-inducing ligand</i>
Tregs	regulatorische T-Lymphozyten
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
z. B.	<i>zum Beispiel</i>

I. EINLEITUNG

Bei Katzen ist das Plattenepithelkarzinom mit 11,4 % (HO et al., 2018) - 15.2 % (MILLER et al., 1991) einer der vier häufigsten Hauttumore (MILLER et al., 1991; HO et al., 2018). Kutane Plattenepithelkarzinome treten vor allem bei älteren Katzen auf (MILLER et al., 1991; LANA et al., 1997; MURPHY, 2013) und betreffen nicht pigmentierte, sonnenexponierte Körperteile wie das Nasenplanum, die Pinnae, das Augenlid, die Temporalregion und die Lippen (MILLER et al., 1991; MURPHY, 2013). Daher wird angenommen, dass Plattenepithelkarzinome durch ultraviolettes Licht induziert werden (DORN et al., 1971; MILLER et al., 1991). Insbesondere im fortgeschrittenen Stadium weisen Plattenepithelkarzinome ein lokal invasives Wachstum auf (CARLISLE & GOULD, 1982; LANA et al., 1997; GROSS et al., 2005; THOMSON, 2007). Sie metastasieren selten (THOMSON, 2007; MURPHY, 2013; DOS SANTOS et al., 2023), wenn dann überwiegend in die regionalen Lymphknoten und weniger häufig in die Lunge (THOMSON, 2007; DOS SANTOS et al., 2023).

Es bestehen verschiedene Therapieoptionen diese Tumore zu behandeln, darunter die Kryochirurgie (KRAHWINKEL, 1980), die photodynamische Therapie (MAGNE et al., 1997; BUCHHOLZ et al., 2007; FLICKINGER et al., 2018), die Brachytherapie (LINO et al., 2019), die Elektrochemotherapie (SPUGNINI et al., 2009), die intraläsionale (THÉON et al., 1996) und die intravenöse Chemotherapie (OGILVIE et al., 1993), die externe Strahlentherapie (CARLISLE & GOULD, 1982; LANA et al., 1997; FIDEL et al., 2001; MELZER et al., 2006; CUNHA et al., 2010; GASYSOVA et al., 2017; VOZENIN et al., 2019; SWAN et al., 2021) sowie die chirurgische Entfernung (LANA et al., 1997; THOMSON, 2007). Die chirurgische Entfernung wird insbesondere bei kleinen Tumoren als erfolgreiche Behandlungsoption beschrieben (LANA et al., 1997; THOMSON, 2007; MURPHY, 2013; SWAN et al., 2021). Angesichts der eingeschränkten Durchführbarkeit von Operationen aufgrund einer großen Tumorausdehnung und der anschließenden kosmetischen und gesundheitlichen Beeinträchtigungen durch invasive Eingriffe (THOMSON, 2007; MURPHY, 2013; SWAN et al., 2021), wird die externe Strahlentherapie als attraktive und nicht invasive Alternative vor allem bei fortgeschrittenen Stadien beschrieben (CARLISLE & GOULD, 1982; THÉON

et al., 1995; LANA et al., 1997; MELZER et al., 2006; SWAN et al., 2021).

Eine Elektronenbestrahlung mit einem fraktionierten Protokoll erzielt ein hervorragendes Ansprechen auf die Behandlung (MELZER et al., 2006; GASYMOVA et al., 2017) und wird als Standardtherapie für inoperable Plattenepithelkarzinome empfohlen (GASYMOVA et al., 2017).

Insbesondere wenn eine umfangreiche und kostenintensive Therapie in Betracht gezogen werden soll, sind prognostische Faktoren sowohl für die Besitzer bzw. Besitzerinnen als auch für die behandelnden Tierärzte und Tierärztinnen wichtig, um über die beste Behandlungsoption für das betroffene Tier zu entscheiden. Ein positiver prognostischer Faktor in Bezug auf das Ansprechen auf eine Bestrahlungstherapie ist z. B. eine höhere KI-67-Reaktivität (MELZER et al., 2006). Ein größeres Tumervolumen scheint mit einem höheren Risiko für eine kürzere tumorfreie Überlebenszeit und eine kürzere Gesamtüberlebenszeit verbunden zu sein (GASYMOVA et al., 2017).

Da Entzündungen eine Schlüsselrolle bei der Entstehung, Progression und Metastasierung von Tumoren spielen (MANTOVANI et al., 2008; HANAHAN & WEINBERG, 2011; COFFELT et al., 2016; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019) und die hämatologische Untersuchung minimalinvasiv, i.d.R. im Rahmen von Routineuntersuchungen verfügbar und kostengünstig zu erstellen ist, wurden in mehreren Studien in der Human- und Tiermedizin die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten und deren Verhältnis zueinander als prognostische Faktoren in einer Vielzahl von Tumoren untersucht (SOTTNIK et al., 2010; TEMPLETON et al., 2014; MARCONATO et al., 2015; MUTZ et al., 2015; NISHIJIMA et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; MACFARLANE et al., 2016b; REJEC et al., 2017; SKOR et al., 2017; DAVIES et al., 2018; FERNÁNDEZ & CHON, 2018; HOWARD et al., 2019b; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; HENRIQUES et al., 2021; NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021; TAGAWA et al., 2021; VELUVOLU et al., 2021). Es wird angenommen, dass diese prognostischen Faktoren den jeweiligen Schweregrad der tumorinduzierten Entzündung und damit die individuelle Tumorlast des Patienten repräsentieren (ITOH et al., 2009; TEMPLETON et al., 2014; SKOR et al., 2017; PETRUCCI et al., 2021) sowie das Risiko eines Rezidivs nach der Tumorentfernung widerspiegeln (CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021). Auch konnte prognostiziert werden, ob eine nicht diagnostizierte Erkrankung gut- oder bösartig sein könnte (MACFARLANE et al.,

2016a; REJEC et al., 2017). Bisher existieren jedoch keine Studien, die die prognostische Aussagekraft der zirkulierenden Leukozyten und ihr Verhältnis zueinander bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen untersuchen.

Das Ziel dieser retrospektiven Studie ist herauszufinden, ob die absolute Anzahl zirkulierender Leukozyten, das heißt die neutrophilen Granulozyten, die Lymphozyten und die Monozyten, sowie deren Verhältnis zueinander (die Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio (NLR) und die Lymphozyten:Monozyten-Ratio (LMR)) auch bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen, die mit einer kurativen Strahlentherapie unter Verwendung von Elektronen behandelt wurden, als prognostisch anzusehen sind. Dabei werden diese Faktoren auf ihren prognostischen Wert bezüglich der Gesamtüberlebenszeit, der progressionsfreien Überlebenszeit sowie der tumorfreien Überlebenszeit untersucht.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Die Rolle der Entzündung in der Onkogenese

Schon im 19. Jahrhundert wurde das Auftreten von Leukozyten in histologischen Präparaten entdeckt und ein möglicher Zusammenhang zwischen einer Tumorerkrankung und diesen Zellen, also einer Entzündungsreaktion, beschrieben. Seitdem wurden die molekularen Mechanismen der Entzündung und deren Stellung bzw. Funktion in der Karzinogenese in zahlreichen Studien weiter untersucht. Mittlerweile ist die Entzündung als essenzieller Faktor in der Tumorentstehung sowie in der Tumorprogression, -invasion und -metastasierung etabliert und stellt einen zunehmend untersuchten Angriffspunkt in der Tumorthherapie dar (HANAHAHAN & WEINBERG, 2000; BALKWILL & MANTOVANI, 2001; GRIVENNIKOV et al., 2010; HANAHAHAN & WEINBERG, 2011; MANTOVANI et al., 2019).

Eine Entzündungsreaktion ist sowohl für die Abwehr von Pathogenen ausschlaggebend als auch für die Reparatur, die Regeneration und den Umbau von traumatisiertem Gewebe verantwortlich und spielt, ungeachtet der Ursache ihrer Entstehung, eine essenzielle Rolle bei der Regulation der Gewebekomöostase (DE VISSER et al., 2006; MEDZHITOV, 2008; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Ein Zusammenhang zwischen der durch Gewebereparatur bedingten Immunreaktion und einer erhöhten Tumorinzidenz, dem Tumorwachstum und der Tumorprogression wird inzwischen in einer Vielzahl epidemiologischer Studien beobachtet (GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Im Gegensatz zu einer akuten Entzündung, bei der die Immunzellen für die Wiederherstellung der Gewebekomöostase rekrutiert werden, besteht bei einem chronischen Entzündungsprozess eine anhaltende Rekrutierung, Aktivierung und Differenzierung der Immunzellen des angeborenen Immunsystems, die dann ihrerseits zu der Formierung und Aufrechterhaltung des Tumormikromilieus beitragen (DE VISSER et al., 2006; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Eine solche tumorfördernde Entzündungsreaktion kann entweder durch extrinsische oder intrinsische Faktoren hervorgerufen werden (MANTOVANI et al., 2008; GRIVENNIKOV et al., 2010).

1.1. Extrinsische Faktoren

Extrinsische Faktoren umfassen Stimuli unterschiedlicher Ätiologie, die eine Entzündungsreaktion auslösen und einer Tumorentstehung vorausgehen (MANTOVANI et al., 2008). Beim Menschen können etwa 15-20 % aller Tumorerkrankungen mit einer vorangegangenen chronischen idiopathischen Entzündung, einer Infektion oder einer Autoimmunerkrankung in Verbindung gebracht werden (MANTOVANI et al., 2008; GRIVENNIKOV et al., 2010; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Diese Erkrankungen können bereits lange Zeit vor der Entstehung eines Tumors an der gleichen Lokalisation bestanden haben (BALKWILL & MANTOVANI, 2001; MANTOVANI et al., 2008; GRIVENNIKOV et al., 2010; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Auslöser sind z. B. infektionsbedingte, chronische Entzündungsreaktionen, bei denen sich die Krankheitserreger der Elimination durch das Immunsystem entziehen (DE VISSER et al., 2006; GRIVENNIKOV et al., 2010).

Darüber hinaus können Tabakrauch und Adipositas mit einer chronischen Entzündungsreaktion einhergehen und somit das Risiko für die Entstehung verschiedener Tumorerkrankungen erhöhen sowie deren Progression fördern (GRIVENNIKOV et al., 2010; TAKAHASHI et al., 2010; QUAIL et al., 2017; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019; QUAIL & DANNENBERG, 2019).

Auch durch eine Antitumorthherapie, wie z. B. eine Chemotherapie oder Strahlentherapie, kann eine tumorassoziierte Entzündung induziert werden, deren Auswirkung je nach Tumor variieren kann. Diese kann einerseits die antitumorale Immunantwort verstärken, andererseits eine immunsuppressive Immunantwort hervorrufen und so einen Einfluss auf das Tumorsprechen bzw. auf eine mögliche Therapieresistenzentwicklung nehmen (GRIVENNIKOV et al., 2010; CIAMPRICOTTI et al., 2012; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

UV- Licht, als wichtiger kanzerogener Umweltfaktor, kann zu einem Funktionsverlust des Tumorsuppressorgens TP53 führen (NAKAZAWA et al., 1994; BOLSHAKOV et al., 2003). Dies geht mit einer Dysregulation der zellulären Homöostase inklusive der Verhinderung der Apoptose und der DNA-Reparaturmechanismen einher und führt zu einer erhöhten Aktivität des Transkriptionsfaktors *Nuklear Faktor* (NF)- κ B, der die Expression entzündungsfördernder Gene bewirkt (KOMAROVA et al., 2005; BENJAMIN & ANANTHASWAMY, 2007; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

1.2. Intrinsische Faktoren

Intrinsische Faktoren sind durch den Tumor induzierte Veränderungen, die eine Entzündungsreaktion hervorrufen. Dazu gehören genetische (Mutationen, chromosomale Rearrangements oder Amplifikationen) oder epigenetische Veränderungen der Tumorzellen, die zur Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen (z. B. TP53) und einer gesteigerten Aktivierung von Onkogenen (z. B. Tyrosinkinase RET sowie die Onkogene der RAS und MYC Familie) und folglich zur Aktivierung von proinflammatorischen Transkriptionsfaktoren führen (MANTOVANI et al., 2008; GRIVENNIKOV et al., 2010; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Zudem können auch metabolische Veränderungen, hypoxische Bedingungen im Tumor und die Freisetzung von *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) durch absterbende Tumorzellen ein inflammatorisches Transkriptionsprogramm aktivieren (MANTOVANI et al., 2008; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

1.3. Tumorassoziierte Entzündung

Das Ergebnis des extrinsischen und intrinsischen Weges ist die Aktivierung verschiedener proinflammatorischer Transkriptionsfaktoren, wie z. B. NF- κ B, *hypoxia-inducible factor 1* (HIF1), *signaltransducer and activator of transcription 3* (STAT3), sowie *myelocytomatosis oncogene* (MYC). Die Aktivierung dieser Transkriptionsfaktoren führt in der Folge zur Expression verschiedener Gene, die für wichtige inflammatorische Zytokine (u.a. Interleukin (IL)-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-23 und Tumornekrosefaktor (TNF) α), die Cyclooxygenase 2 (COX-2), Adhäsionsmoleküle sowie anti-apoptotische und angiogene Faktoren verantwortlich sind (MANTOVANI et al., 2008; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019). Dadurch werden vor allem myelomonozytären Zellen rekrutiert und es kommt zur Potenzierung der Aktivierung inflammatorischer Transkriptionsfaktoren in den rekrutierten Entzündungszellen sowie in Stroma- und Tumorzellen. Dies verstärkt weiterhin das inflammatorische Tumormikromilieu, in dem durch auto- und parakrine Interaktion der Tumorzellen, Stromazellen und infiltrierenden Leukozyten, folglich die Tumorpromotion, die Tumorprogression und die Metastasierung gefördert werden (MANTOVANI et al., 2008; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

2. Tumorassoziierte Leukozyten

Im Tumormikromilieu sind, unabhängig von der Entstehung einer Entzündung, verschiedene Leukozyten zu finden. Dabei können diese Zellen pro- sowie antitumorale Fähigkeiten annehmen, deren Ausprägung durch verschiedene Signalmoleküle der Tumor- bzw. Stromazellen beeinflusst wird und die in allen Stadien der Tumorgenese bestehen können. Die Wechselwirkung der Immunzellen untereinander spielt dabei ebenfalls eine Rolle (MANTOVANI et al., 2008; GRIVENNIKOV et al., 2010; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

2.1. Neutrophile Granulozyten

Die Granulopoese der neutrophilen Granulozyten im Knochenmark wird vor allem durch den *Granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) reguliert, aber auch der *Granulocyte-macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF), IL-6 und Kit Ligand (SCF) sind zu einem geringeren Anteil an der Granulopoese beteiligt (MOLINEUX et al., 1991; LIESCHKE et al., 1994; LIU et al., 1997; SEYMOUR et al., 1997; COFFELT et al., 2016). Die Produktion von G-CSF und somit die Granulopoese ist außerhalb des Knochenmarks streng reguliert (COFFELT et al., 2016). Unter physiologischen Bedingungen führt die Phagozytose von apoptotischen neutrophilen Granulozyten durch Makrophagen und dendritische Zellen zu einer Reduktion der IL-23 Sekretion durch diese Zellen. Die daraus resultierende Reduktion der IL-17 Expression von T-Lymphozyten führt letztlich zu einer verringerten Expression von G-CSF (FORLOW et al., 2001; STARK et al., 2005; GAFFEN et al., 2014; COFFELT et al., 2016).

Im entzündlichen Mikromilieu können IL-6, *transforming growth factor* (TGF) β sowie IL-23 die Differenzierung naiver *cluster of differentiation* (CD)4⁺ T-Lymphozyten zu Th17-Zellen bewirken. Diese produzieren unter anderem IL-17 und können über die IL-17-G-CSF Achse die Granulopoese hochregulieren (MANGAN et al., 2006; VELDHOEN et al., 2006; WILSON et al., 2007; BRUCKLACHER-WALDERT et al., 2009; CAZA & LANDAS, 2015).

Tumorzellen, Stromazellen und Immunzellen im entzündlichen Tumormikromilieu können durch die vermehrte Sekretion dieser inflammatorischen Zytokine ebenfalls die Granulopoese im Knochenmark hochregulieren und so eine tumorinduzierte Neutrophilie hervorrufen, wobei hier auch vermehrt unreife neutrophile Granulozyten freigesetzt werden können (COFFELT et al., 2015; COFFELT et al.,

2016).

Das Gleichgewicht zwischen Freisetzung und Retention der neutrophilen Granulozyten wird im Knochenmark durch verschiedene CXC-Motiv-Chemokinrezeptoren (CXCR) und deren Liganden von Osteoblasten, Stromazellen sowie Endothelzellen und Megakaryozyten gesteuert (COFFELT et al., 2016). Normalerweise verbleiben die meisten neutrophilen Granulozyten im Knochenmark und nur wenige (1 % bis 2 % bei Mäusen) zirkulieren im peripheren Blut (SEMERAD et al., 2002; COFFELT et al., 2016).

Es konnte bereits nachgewiesen werden, dass neutrophile Granulozyten sowohl in vitro unter dem Einfluss von inflammatorischen Zytokinen und Wachstumsfaktoren als auch im Blut von tumor Erkrankten Menschen und im Tumorgewebe eine längere Überlebenszeit aufweisen (STEINBACH et al., 1979; COLOTTA et al., 1992; SAWANOBORI et al., 2008). Demnach produziert das Tumormikromilieu entzündungsfördernde Zytokine, die die lokale sowie systemische Überlebenszeit der neutrophilen Granulozyten verlängern, wodurch diese wiederum durch ihre Produktion und Sekretion tumorfördernder Faktoren das Tumorstadium länger anhaltend fördern können (COFFELT et al., 2016).

2.1.1. Polarisierung der neutrophilen Granulozyten

In allen Stadien von Tumorerkrankungen können neutrophile Granulozyten sowohl tumorfördernde als auch tumorhemmende Fähigkeiten annehmen, die auf unterschiedliche Phänotypen dieser Zellen zurückgeführt werden können. Diese Polarisierung wird auch „*immunosuppressive switch*“ genannt und erfolgt durch verschiedene Faktoren, die durch Tumor- bzw. Stromazellen produziert werden (GRANOT & FRIDLENDER, 2015; COFFELT et al., 2016; SHAUL et al., 2016).

Im Wesentlichen entsteht diese Polarisierung der tumorassoziierten neutrophilen Granulozyten (TANs) in tumorhemmende N1 und tumorfördernde N2 neutrophile Granulozyten durch den Einfluss von TGF β und Interferon (IFN) β (FRIDLENDER et al., 2009; ANDZINSKI et al., 2016; SHAUL et al., 2016). TGF β führt dabei zu einer Transformation vom N1 TAN Phänotyp zum N2 TAN Phänotyp (FRIDLENDER et al., 2009; COFFELT et al., 2016; SHAUL et al., 2016). Die Ausbildung des N1 TAN Phänotyps wird wiederum durch INF β bzw. durch die Hemmung von TGF β hervorgerufen (FRIDLENDER et al., 2009; ANDZINSKI et al., 2016; SHAUL et al., 2016). Mishalian *et al.* zeigte weitergehend, dass TANs in

frühen Tumorstadien ein weniger tumorfördernden Phänotyp ausbilden als in weiter fortgeschrittenen Tumorstadien (MISHALIAN et al., 2013). Durch eine Genexpressionsanalyse der jeweiligen TANs wurde belegt, dass je nach Phänotypausprägung ein sich unterscheidendes Zytokinprofil exprimiert wird, auf dem die gegensätzlichen Funktionen der TANs basieren. So ist z. B. die Expression von Genen, die für die Antigenpräsentation und die antitumorale Immunantwort wichtig sind, in N2 TANs im Vergleich zu den N1 TANs herunterreguliert (SHAUL et al., 2016).

2.1.2. Neutrophile Granulozyten in der Onkogenese

Die neutrophilen Granulozyten können sowohl eine tumorfördernde also auch tumorhemmende Wirkung zeigen (COFFELT et al., 2016; HEDRICK & MALANCHI, 2022).

Die durch neutrophile Granulozyten produzierten *reaktive oxygen species* (ROS) sind einerseits über die Induktion von oxidativer Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Schädigungen an der Entstehung von Tumorzellen und andererseits an der Schädigung des betroffenen Gewebes beteiligt und fördern so die Formierung und Aufrechterhaltung eines tumorfördernden entzündlichen Mikromilieus (MITTAL et al., 2014; COFFELT et al., 2016; CANLI et al., 2017; HEDRICK & MALANCHI, 2022). Des Weiteren sezernieren neutrophile Granulozyten Enzyme, wie Matrix Metalloproteinasen (MMP), Neutrophile Elastase (NE) und Myeloperoxidase (MPO) (GIESE et al., 2019). MMP9 aktiviert den *vascular endothelial growth factor* (VEGF) und fördert so die Neoangiogenese (auch „*angiogenic switch*“ genannt), die von großer Bedeutung für die weitere Versorgung der Tumorzellen ist und so das Tumorstadium fördert (NOZAWA et al., 2006). Die NE stimuliert über den Abbau des *insulin receptor substrate 1* (IRS1) und der damit einhergehenden Aktivierung der *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) die Proliferation von Tumorzellen (HOUGHTON et al., 2010; COFFELT et al., 2016). Auch wirkt z. B. die Freisetzung von Prostaglandin E2 durch die neutrophilen Granulozyten proliferativ auf die Tumorzellen (ANTONIO et al., 2015; HEDRICK & MALANCHI, 2022). Die NE ist des Weiteren, zusammen mit der MPO, in die Bildung der *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs) involviert, die das invasive Tumorstadium sowie die Metastasierung begünstigen (PAPAYANNOPOULOS et al., 2010; PARK et al., 2016; GIESE et al., 2019). Diese Formierung der NETs kann direkt durch die Tumorzellen induziert werden

(PARK et al., 2016).

Eine weitere tumorfördernde Funktion der neutrophilen Granulozyten besteht in deren Sekretion von Arginase 1 (ARG1) und induzierbarer Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS). Diese Enzyme hemmen die CD8⁺ T-Lymphozyten und folglich deren antitumorale Wirkung (FRIDLENDER et al., 2009; ROTONDO et al., 2009; COFFELT et al., 2015; COFFELT et al., 2016; MENJIVAR et al., 2023). Zusätzlich sezernieren neutrophile Granulozyten C-C-Chemokin Ligand (CCL)17 wodurch tumorhemmende, regulatorische T-Lymphozyten (Tregs) rekrutiert werden (MISHALIAN et al., 2014). Die Expression von *programmed death ligand-1* (PD-L1), wodurch ebenfalls Antitumor-Immunzellen (z. B. zytotoxische CD8⁺ T-Lymphozyten) gehemmt werden, trägt ebenso zum Tumorwachstum bei (WANG et al., 2017a).

Die tumorhemmenden Funktionen der neutrophilen Granulozyten wurden bisher wenig erforscht (COFFELT et al., 2016; HEDRICK & MALANCHI, 2022). Einerseits beschreiben Shaul *et al.* eine Hochregulierung der Gene für die Antigenpräsentation in tumorhemmenden neutrophilen Granulozyten, die auf eine potentielle direkte Aktivierung zytotoxischer CD8⁺ T-Lymphozyten hinweist (SHAUL et al., 2016). Andererseits konnten Ponzeta *et al.* eine indirekte Hemmung der Tumorgenese durch neutrophile Granulozyten nachweisen, die auf der Modulation des Tumormikromilieus mit nachfolgender tumorhemmender Immunantwort basiert (PONZETTA et al., 2019). Des Weiteren können durch IFN γ stimulierte neutrophile Granulozyten eine tumorhemmende Funktion ausüben, indem sie über die Expression von *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) zytotoxisch auf Tumorzellen wirken (KOGA et al., 2004).

In allen Phasen des Metastasierungsprozesses sind neutrophile Granulozyten beteiligt (COFFELT et al., 2016). In vom Tumor entfernten Organen können vom Primärtumor produzierte Wachstumsfaktoren (z. B. G-CSF) die Invasion von neutrophilen Granulozyten bewirken. Dadurch entsteht eine prämetastatische Nische, bevor sich Tumorzellen in diesen Organen ansiedeln (KOWANETZ et al., 2010; COFFELT et al., 2016). Des Weiteren unterstützen neutrophile Granulozyten die Tumormetastasierung, indem sie die Angiogenese fördern und den Eintritt der Tumorzellen in die Blut- oder Lymphgefäße begünstigen (BALD et al., 2014; COFFELT et al., 2016). Spiegel *et al.* wies nach, dass die neutrophilen Granulozyten die Tumorzellen in der Zirkulation vor den zytotoxischen natürlichen

Killerzellen (NK-Zellen) schützen und die Extravasation der Tumorzellen durch die Aktivierung von Endothelzellen beschleunigen (SPIEGEL et al., 2016). Auch die Formierung von Zellverbänden von Tumorzellen und neutrophilen Granulozyten im Blut bewirkt einen Proliferationsvorteil der Tumorzellen und beschleunigt die Metastasenbildung (SZCZERBA et al., 2019). Eine weitere Funktion der neutrophilen Granulozyten besteht in der Formierung von NETs um die Tumorzellen herum. Dadurch wird die Ansiedelung der Tumorzellen und die anschließende Metastasenbildung an vom Primärtumor entfernten Organen begünstigt (COOLS-LARTIGUE et al., 2013).

Es konnte allerdings auch eine hemmende Wirkung der neutrophilen Granulozyten auf den Prozess der Metastasierung nachgewiesen werden. Daher wird davon ausgegangen, dass der Beitrag je nach Tumortyp und Polarisierung der neutrophilen Granulozyten unterschiedlich ausfallen kann (GRANOT et al., 2011; LÓPEZ-LAGO et al., 2013; OCANA et al., 2017).

2.2. Monozyten

Monozyten bilden zusammen mit den Makrophagen und den dendritischen Zellen das Mononukleäre Phagozytensystem (MPS), das wichtige Aufgaben im Immunsystem und in der Aufrechterhaltung der physiologischen Gewebefunktion übernimmt (HETTINGER et al., 2013; GUILLIAMS et al., 2014). Monozyten werden im Knochenmark unter dem Einfluss des *macrophage colony-stimulating factor* (CSF1) aus *common monocyte progenitor* (cMoP) Zellen gebildet (HETTINGER et al., 2013). Bei Menschen werden im Blut zirkulierende Monozyten anhand des Expressionsmusters der Oberflächenmoleküle CD14 und CD16 in klassische Monozyten (CD14⁺⁺CD16⁻), intermediäre Monozyten (CD14⁺⁺CD16⁺) und nicht-klassische Monozyten (CD14⁺CD16⁺⁺) eingeteilt. Bei Mäusen werden anhand des Expressionsmusters der Oberflächenproteine Ly6C⁺ und CD43 ebenfalls klassische (Ly6C⁺⁺CD43⁺), intermediäre (Ly6C⁺⁺CD43⁺⁺) und nicht-klassische (Ly6C⁺CD43⁺⁺) Monozyten unterschieden, die den entsprechenden Subpopulationen der Menschen gleichkommen (ZIEGLER-HEITBROCK et al., 2010). Auch in anderen Spezies (Primat, Rind, Ratte, Pferd und Schwein) wurde eine Heterogenität der Monozyten beschrieben, die generell bei allen ähnliche aber nicht vollständig übereinstimmende Merkmale aufweist. Es kann also bezüglich des Expressionsmusters nicht von einer Spezies auf die andere geschlossen werden

(ZIEGLER-HEITBROCK, 2014). Allerdings unterscheiden sich diese speziesspezifischen Subpopulationen in ihrer immunologischen Funktion wenig (GINHOUX & JUNG, 2014).

Als Antwort auf pathologische Vorgänge kann im Knochenmark sowie in der Milz eine gesteigerte Monopoese stattfinden (ROBBINS et al., 2012; HETTINGER et al., 2013). Diese erhöht einerseits die Anzahl der Monozyten, verändert aber auch das Verhältnis der Monozyten-Subpopulationen und damit die Funktion dieser Zellen (GUILLIAMS et al., 2018). Die gesteigerte Monopoese kann auch längerfristig bestehen bleiben und wird „*trained immunity*“ genannt (NETEA et al., 2016). Hier spielen vor allem Zytokine von Immunzellen aber auch anderen Zellen im Knochenmark eine wichtige Rolle (BOETTCHER & MANZ, 2017).

2.2.1. Klassische Monozyten

Klassische Monozyten treten nach einer Halbwertszeit von circa einem Tag in das Gewebe oder das Lymphsystem über. Alternativ unterliegen sie der Apoptose (YONA et al., 2013; GUILLIAMS et al., 2018; OLINGY et al., 2019) oder differenzieren in circa 1 % der Fälle in nicht-klassische Monozyten (PATEL et al., 2017; OLINGY et al., 2019).

Klassische Monozyten können verschiedene Gewebearten infiltrieren, darunter die Lunge, die Haut und die Lymphknoten sowie das Tumorgewebe und dort als Gewebemonozyten phagozytische und antigenpräsentierende Funktionen übernehmen (MOVAHEDI et al., 2010; JAKUBZICK et al., 2013; OLINGY et al., 2019) oder zu residenten Gewebemakrophagen differenzieren und gewisse Eigenschaften dieser Zellen übernehmen (HASHIMOTO et al., 2013; JAKUBZICK et al., 2013; GUILLIAMS et al., 2018; OLINGY et al., 2019).

Liegt eine Entzündung vor, sammelt sich eine größere Anzahl klassischer Monozyten in dem entsprechenden Gewebe an, die hier durch ihre Produktion chemotaktischer Zytokine das entzündliche Mikromilieu aufrechterhalten (JAKUBZICK et al., 2017; GUILLIAMS et al., 2018; OLINGY et al., 2019). Auch die Differenzierung in Makrophagen kann unter entzündlichen Bedingungen hochreguliert werden (GINHOUX & JUNG, 2014; OLINGY et al., 2017; OLINGY et al., 2019).

2.2.2. Nicht-klassische Monozyten

Nicht-klassische Monozyten haben unter homöostatischen Bedingungen im Blut eine längere Halbwertszeit als klassische Monozyten. Unter pathologischen Bedingungen kann sich die Halbwertszeit verlängern (YONA et al., 2013; PATEL et al., 2017). Nicht-klassische Monozyten verbleiben unter physiologischen Bedingungen im Gefäßsystem, patrouillieren intraluminal am Endothel und koordinieren die Reparatur des Endothels (CARLIN et al., 2013; OLINGY et al., 2019). Im späteren Stadium einer Entzündungsreaktion kann ein kleiner Anteil dieser Zellen allerdings ebenfalls in das entzündliche Gewebe austreten (NAHRENDORF et al., 2007; OLINGY et al., 2017; OLINGY et al., 2019). Hier produzieren die nicht-klassischen Monozyten die proangiogenetischen Faktoren VEGF und IL-10. Sie können ebenfalls zu Makrophagen differenzieren und anschließend antientzündliche und regenerative Eigenschaften annehmen (OLINGY et al., 2017) und damit die Entzündungsreaktion beenden (NAHRENDORF et al., 2007).

2.2.3. Intermediäre Monozyten

Die intermediären Monozyten repräsentieren einen Übergangszustand zwischen den klassischen Monozyten und den davon abstammenden nicht-klassischen Monozyten (YONA et al., 2013; PATEL et al., 2017), dessen Ausprägung abhängig vom jeweiligen umliegenden Mikromilieu ist (OLINGY et al., 2019). Dabei ähnelt das Genexpressionsmuster der intermediären Monozyten vor allem dem der nicht-klassischen Monozyten. Auch die Produktion von Zytokinen nach Aktivierung ähnelt insbesondere der Produktion der nicht-klassischen Monozyten im Vergleich zu der Produktion der klassischen Monozyten (WONG et al., 2011). Daher könnten die intermediären Monozyten möglicherweise Funktionen der nicht-klassischen Monozyten übernehmen (OLINGY et al., 2017). Zusätzlich können intermediäre Monozyten im Lymphknoten zu dendritischen Zellen differenzieren (QU et al., 2004).

2.2.4. Monozyten in der Onkogenese

Bei einem Großteil der Tumore sind Monozyten und Makrophagen die am häufigsten vertretenen Entzündungszellen (MANTOVANI et al., 2008; CHITTEZHATH et al., 2014; NOY & POLLARD, 2014). Monozyten können in der Onkogenese tumorfördernde und tumorhemmende Fähigkeiten annehmen

(OLINGY et al., 2019) wobei vor allem die klassischen Monozyten in das Tumorgewebe rekrutiert werden (MOVAHEDI et al., 2010).

Zirkulierende Monozyten in Tumorkranken weisen eine Hochregulierung der Expression zahlreicher proinflammatorischer und tumorfördernder Gene auf. Zum Beispiel werden Gene von TNF, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, CCL3 und CCL5 sowie IL-8 und VEGF-A in erhöhtem Maße exprimiert, wodurch das Tumorstadium und die Metastasierung gefördert wird (CHITTEZHATH et al., 2014).

Monozyten werden primär über von Tumorzellen sezerniertes CCL2 in das Tumorgewebe des Primärtumors und der Metastasen rekrutiert (QIAN et al., 2011; FRANKLIN et al., 2014; OLINGY et al., 2019). Dort regulieren Monozyten als antigenpräsentierende Zellen, durch die Sekretion verschiedener Zytokine und Enzyme sowie durch die Expression von Oberflächenproteinen sowohl die Rekrutierung als auch die Funktion von Lymphozyten bzw. deren Subpopulationen (JAKUBZICK et al., 2017; OLINGY et al., 2019; YASUOKA et al., 2020). Zum Beispiel werden immunsuppressive Tregs durch von Monozyten produziertes CCL5 in das Tumorgewebe rekrutiert (SCHLECKER et al., 2012; OLINGY et al., 2019). Ein immunsuppressives Tumormikromilieu wird daraufhin weiter potenziert, indem klassische Monozyten, durch die Einwirkung von durch Tregs sezernierten Faktoren wie IL-4, IL-10 und IL-13, zu alternativ aktivierten tumorassoziierten Makrophagen (TAMs) differenzieren (TIEMESSEN et al., 2007; OLINGY et al., 2019) (siehe Kapitel 2.3.2 und 2.3.3). Die immunsuppressive Wirkung der Monozyten wird zudem dadurch unterstützt, dass die Rekrutierung und die Infiltration von Monozyten durch die Blockierung der CCL2/C-C-Chemokin Rezeptor (CCR)2-Achse gehemmt wird. Außerdem wird dadurch die Polarisierung in tumorfördernde M2-Makrophagen gehemmt. Folglich kommt es zu einer erhöhten antitumoralen CD8⁺ T-Lymphozyten-Reaktion und zur Hemmung des Tumorstadiums (LI et al., 2017).

Auch bei der Modulation des Tumormikromilieus, insbesondere bei der Induktion der Angiogenese, sind Monozyten und von Monozyten abstammende Zellen maßgeblich beteiligt (OLINGY et al., 2019). Durch hypoxische Bedingungen im Tumorgewebe wird der HIF1 aktiviert. Dies bewirkt eine Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, auf die eine Ansammlung von Monozyten im Tumorgewebe folgt. Diese fördern die Angiogenese über ihre Produktion von MMPs, VEGF sowie IL-8 (DU et al., 2008; CHITTEZHATH et al., 2014; OLINGY

et al., 2019).

Einige Monozyten exprimieren den Angiopoietinrezeptor Tie-2 und werden so durch das von Tumorzellen und Endothelzellen vermehrt exprimierte Angiopoietin-2 angelockt. Durch Angiopoietin-2 rekrutierte Tie-2⁺ Monozyten sezernieren vermehrt MMP, VEGF und COX-2 und fördern so die Angiogenese und das Tumorstadium (VENNERI et al., 2007; COFFELT et al., 2010). Auch die erhöhte Expression immunsuppressiver Faktoren durch Tie-2⁺ Monozyten (IL-10 und CCL17) und die reduzierte Expression von TNF α und IL-12 wird auf die Wirkung von Angiopoietin-2 zurückgeführt (MURDOCH et al., 2007; COFFELT et al., 2010). Dieses Expressionsmuster entspricht dem der alternativ aktivierten M2-TAMs und spricht dafür, dass die Tie-2⁺ Monozyten ähnliche Aufgaben übernehmen, wie die M2-TAMs (COFFELT et al., 2010). Ob die Tie-2⁺ Monozyten eine direkte Verbindung zu TAMs aufweisen, die ebenfalls eine pro-angiogenetische Wirkung haben, wurde bisher nicht weiter geklärt (OLINGY et al., 2019). Durch die beschriebenen Funktionen sowie über ihre Differenzierung in TAMs, sind zirkulierende Monozyten direkt an der Tumorzellinvasion, Tumorstadium und der Metastasierung beteiligt (OLINGY et al., 2019).

Im Gegensatz dazu können nicht-klassische Monozyten über die Sekretion von CCL3, CCL4 und CCL5 NK-Zellen in das Tumorgewebe aber auch in Metastasen rekrutieren, die dem Tumorstadium und dem Metastasenwachstum entgegen wirken (HANNA et al., 2015; OLINGY et al., 2019).

Allerdings wurde gezeigt, dass nicht-klassische Monozyten bereits im frühen Stadium in geringerer Anzahl im Tumorgewebe zu finden sind als in nicht malignem Gewebe. Folglich wurde eine geringere Konzentration an NK-Zellen im Tumorgewebe festgestellt (LAVIN et al., 2017; OLINGY et al., 2019).

2.3. Makrophagen

Makrophagen sind eine Komponente des MPS und übernehmen als heterogene Zellpopulation in Abhängigkeit des Gewebes, in dem sie sich befinden, verschiedene Funktionen (HASHIMOTO et al., 2011; HETTINGER et al., 2013; GORDON & PLÜDDEMANN, 2017; ZHAO et al., 2018). Sie sind über die Phagozytose und Antigenpräsentation an der angeborenen und erworbenen Immunabwehr und über die Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren am Entzündungsprozess und an der Wundheilung beteiligt (GORDON &

PLÜDDEMANN, 2017; SHAPOURI-MOGHADDAM et al., 2018; ZHAO et al., 2018).

Die meisten residenten Gewebsmakrophagen gelangen bereits in der Embryonalentwicklung vom Dottersack oder der fetalen Leber in das Zielgewebe. Die Repopulation dieser Zellen erfolgt in den meisten Organen unabhängig von zirkulierenden Monozyten durch in-situ Proliferation (HASHIMOTO et al., 2013; HETTINGER et al., 2013). Dennoch können klassische Monozyten unter homöostatischen Bedingungen in den meisten Gewebearten zu einem geringen Anteil zu der Repopulation von residenten Gewebsmakrophagen beitragen (HASHIMOTO et al., 2013; JAKUBZICK et al., 2013).

2.3.1. Tumorassoziierte Makrophagen

Makrophagen sind als TAMs essenziell für die Aufrechterhaltung der tumorfördernden Entzündung und tragen zur Tumorinitiation, Tumorprogression und zur Tumormetastasierung bei (NOY & POLLARD, 2014; MANTOVANI et al., 2017). Die meisten TAMs werden durch die zirkulierenden klassischen Monozyten gebildet (MOVAHEDI et al., 2010). Allerdings können TAMs auch proliferieren, um die eigene Population aufrechtzuerhalten (FRANKLIN et al., 2014; OLINGY et al., 2019).

Der Ursprung der TAMs ist nicht immer eindeutig den rekrutierten Monozyten oder residenten Gewebemakrophagen zuzuordnen (NOY & POLLARD, 2014; OLINGY et al., 2019). Auch die Funktion der TAMs innerhalb eines Tumors kann unterschiedlich ausgeprägt sein und wird durch das jeweilige Tumormikromilieu beeinflusst (MANTOVANI et al., 2017; CASSETTA et al., 2019).

2.3.2. Polarisierung der TAMs

Die Makrophagen werden in Abhängigkeit der Zusammensetzung des Tumormikromilieus in unterschiedliche Phänotypen polarisiert. Im Allgemeinen wird zwischen klassisch aktivierten M1 (tumorhemmend) und alternativ aktivierten M2 (tumorfördernd) Makrophagen unterschieden. Zudem bestehen verschiedene Phänotypen mit gleichzeitiger Expression von Genen des M1 und M2 Typs (CHITTEZHATH et al., 2014; MANTOVANI et al., 2017; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

M1-Makrophagen entstehen durch den Einfluss von Th1-Zellen und CD8⁺ T-

Lymphozyten bzw. deren Produktion von IFN γ . Ihre Funktion besteht in der Tumorzelllyse und der Destruktion des umliegenden Gewebes (MANTOVANI et al., 2017; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

IL-4 und IL-13, produziert von Th2-Zellen, Tumorzellen sowie eosinophilen und basophilen Granulozyten, bewirken eine alternative Aktivierung der TAMs zu M2-Makrophagen (RUFFELL et al., 2012; NOY & POLLARD, 2014; MANTOVANI et al., 2017). Zudem finden sich verschiedene TAM-Phänotypen, die in Abhängigkeit des Tumormikromilieus sowohl Charakteristika der M1- als auch der M2-Makrophagen aufweisen und als M2-like TAMs beschrieben werden (NOY & POLLARD, 2014; MANTOVANI et al., 2017).

2.3.3. TAMs in der Onkogenese

Die Funktionen der TAMs hängt also von der Polarisierung ab, die wiederum durch die Interaktionen der TAMs mit den Tumorzellen und Stromazellen im Tumormikromilieu beeinflusst werden und von Tumor zu Tumor unterschiedlich ausgeprägt sein können (RUFFELL et al., 2012; MANTOVANI et al., 2017). Sie variieren in den unterschiedlichen Phasen der Onkogenese (Tumorinitiation und -progression) aber auch innerhalb eines Tumors (RUFFELL et al., 2012), wobei die tumorfördernde Wirkung der TAMs während der Tumorprogression zunimmt (RUFFELL et al., 2012; NOY & POLLARD, 2014). Dabei sind die TAMs, ähnlich wie die TANs in die Neoangiogenese, Tumorzellinvasion und Metastasierung involviert und haben eine immunsuppressive Wirkung (RUFFELL et al., 2012). Die tumorfördernde Wirkung wird dadurch verdeutlicht, dass eine höhere Dichte an TAMs in unterschiedlichen Tumoren mit einer schlechteren Prognose einhergeht (HANADA et al., 2000; RYDER et al., 2008; DING et al., 2009).

Die Angiogenese wird vorwiegend durch die Produktion des *placental growth factor* (PIGF), des VEGF-A, der MMP9 und der damit einhergehenden erhöhten Bioverfügbarkeit von VEGF-A induziert (GIRAUDO et al., 2004; LIN et al., 2007; DU et al., 2008; ROLNY et al., 2011). So sind die TAMs zusammen mit den TANs an der Induktion des „*angiogenic switch*“ beteiligt (NOZAWA et al., 2006; NOY & POLLARD, 2014) (siehe Kapitel 2.1.2).

Durch die eigenständige Produktion von CCL2 aber auch von CCL8 durch die TAMs, werden weitere Monozyten angelockt, die im Tumormikromilieu wiederum zu TAMs differenzieren (MOVAHEDI et al., 2010; MANTOVANI et al., 2017;

CASSETTA et al., 2019). CCL8 induziert dann die Produktion von CSF1 in Tumorzellen (CASSETTA et al., 2019). Durch die Expression von CSF1 werden ebenfalls vermehrt Makrophagen in das Tumorgewebe rekrutiert (WYCKOFF et al., 2004; DENARDO et al., 2011) aber auch die Proliferation und das Überleben von residenten Gewebemakrophagen gefördert (POLLARD, 2009; RUFFELL et al., 2012). Gleichzeitig kommt es zu einer erhöhten Expression des *epidermal growth factor* (EGF) durch Makrophagen. EGF aktiviert wiederum Tumorzellen und deren Sekretion von CSF1. Es entsteht eine parakrine Schleife, die eine Migration von Tumorzellen bewirkt (WYCKOFF et al., 2004).

Die erhöhte Produktion von MMP, Serinproteasen und Cathepsinen aufgrund der vermehrten Ansammlung der TAMs ist verantwortlich für eine veränderte Zusammensetzung und Struktur des Tumormikromilieus und ermöglicht die Tumorzellmigration und -invasion (RUFFELL et al., 2012; PAN et al., 2020). Zusätzlich fördern perivaskulär ansässige Makrophagen die Tumormetastasierung, indem sie die Intravasation der Tumorzellen induzieren (WYCKOFF et al., 2007).

Die Sekretion von VEGFR durch den Primärtumor kann in der Lunge die Produktion von MMP9 durch Endothelzellen und Makrophagen induzieren (HIRATSUKA et al., 2002). Dadurch wird eine prämetastatische Nische geschaffen, in der sich Tumorzellen ansiedeln können (HIRATSUKA et al., 2002; NOY & POLLARD, 2014). An diesem Ort unterstützen Makrophagen die Extravasation, das Überleben und die anschließende Proliferation von Tumorzellen (QIAN et al., 2009).

Eine weitere wichtige Funktion der TAMs ist ihre immunsuppressive Wirkung (RUFFELL et al., 2012; NOY & POLLARD, 2014). TAMs können die Funktion von CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten unterdrücken, indem sie Zytokine, Chemokine und Enzyme produzieren (NOY & POLLARD, 2014). Z. B. beeinträchtigt die Sekretion von ARG1 und iNOS durch die TAMs und der damit einhergehende Abbau von L-Arginin die Funktion zytotoxischer CD8⁺ T-Lymphozyten und fördert so die Immunevasion von Tumorzellen (RODRIGUEZ et al., 2004; MOVAHEDI et al., 2010; COFFELT et al., 2016). Darüber hinaus hemmen die Makrophagen die Aktivierung, Proliferation und Funktion von Immunzellen, wie zum Beispiel den zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten über die Interaktion mit deren *programmed cell death protein 1* (PD-1) und *cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4* (CTLA-4) (NOY & POLLARD, 2014).

2.4. Lymphozyten

Lymphozyten sind die antigenspezifischen Zellen des erworbenen Immunsystems und können weiter in B- und T-Lymphozyten unterteilt werden. Sie entwickeln sich in der fetalen Leber und im Knochenmark aus pluripotenten Stammzellen. Die Maturation dieser Zellen erfolgt in primären lymphatischen Organen (Knochenmark und Thymus), wobei die Immunantwort auf körperfremde Antigene und ihre spezifische Differenzierung in den sekundären lymphatischen Geweben (Lymphknoten, Milz und Mukosa-assoziiertes lymphatisches Gewebe (MALT)) erfolgt (DELVES & ROITT, 2000). Bei Hunden und Katzen sinkt mit zunehmendem Alter der Anteil der zirkulierenden Lymphozyten an der Gesamtleukozytenzahl und auch das Verhältnis der Lymphozyten-Subpopulationen zueinander verändert sich (HEATON et al., 2002; CAMPBELL et al., 2004; WATABE et al., 2011).

2.4.1. T-Lymphozyten

Die Maturation naiver T-Lymphozyten erfolgt im Thymus (KUMAR et al., 2018). Dort wird die Ausbildung der T-Zell-Rezeptoren reguliert, mit denen die T-Lymphozyten auf *major histocompatibility complex* (MHC)-Molekülen präsentierte Antigene detektieren können. Basierend auf der Expression von CD-Oberflächenmolekülen, die einen essenziellen Teil des T-Zell-Rezeptors darstellen, werden T-Lymphozyten in weitere Subpopulationen unterteilt (DELVES & ROITT, 2000). T-Lymphozyten stellen die am häufigsten vertretene Lymphozytenpopulation im peripheren Blut dar (STOCKHAM & SCOTT, 2002).

2.4.1.1. CD4+ T-Lymphozyten

Nach Kontakt mit den MHC-II Molekülen der dendritischen Zellen, B-Lymphozyten und aktivierten Makrophagen, sezernieren CD4+ T-Lymphozyten Zytokine und agieren so als T-Helferzellen (Th-Zellen) (DELVES & ROITT, 2000). Die weitere Differenzierung der CD4+ T-Lymphozyten in unterschiedliche Effektor-Subpopulationen, unter anderem in Th1, Th2, folliculäre Th-Zellen (ThFH), Th17 und Tregs, basiert auf dem jeweiligen Zytokinexpressionsmuster, dass diese Zellen infolge konstanter Stimulation durch das jeweilige umliegende Mikromilieu (z. B. durch Zytokine oder durch Interaktion mit Immunzellen) ausbilden (MOSMANN et al., 1986; WILSON et al., 2009; CAZA & LANDAS, 2015).

Intrazelluläre Pathogene (Parasiten, Viren und Bakterien) induzieren die IFN γ -Produktion der NK-Zellen sowie der dendritischen Zellen, wodurch wiederum Th1-Zellen aktiviert werden (SZABO et al., 2000; CAZA & LANDAS, 2015). Die Th1-Zellen induzieren über die Sekretion von IL-2, TNF α und IFN γ die zelluläre Immunantwort und sind an der allergischen Reaktion des verzögerten Typs beteiligt (CHER & MOSMANN, 1987; CHERWINSKI et al., 1987; CAZA & LANDAS, 2015). Über die Produktion von IFN γ entsteht ein positives Feedback mit Polarisierung weiterer naiver T-Lymphozyten zu Th1-Zellen und gleichzeitiger Hemmung der Produktion von Th2-Zell Zytokinen (CHERWINSKI et al., 1987; SZABO et al., 2000; CAZA & LANDAS, 2015).

Der Th2-Zell Phänotyp wird durch den Einfluss von IL-4 ausgebildet. Diese Zellen können über die Sekretion von IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13 unter anderem die Differenzierung von weiteren Th2-Zellen bewirken und gleichzeitig die Ausbildung des Th1-Zell Phänotyps unterdrücken. Ihre Funktion besteht insbesondere in der Bekämpfung von extrazellulären Pathogenen (z. B. Parasiten) sowie in der Unterstützung der Antikörperproduktion der B-Lymphozyten (FIORENTINO et al., 1989; SMITH et al., 2000; MURPHY & REINER, 2002; AMSEN et al., 2009; CAZA & LANDAS, 2015).

Die ThFH-Zelldifferenzierung wird hauptsächlich über den Transkriptionsfaktor *B-cell lymphoma 6* (Bcl6) reguliert, dessen Expression durch IL-6 und IL-21 hochreguliert wird. Bcl6 ist gleichzeitig für die Hemmung der Differenzierung zu anderen Th-Zellen verantwortlich (JOHNSTON et al., 2009; NURIEVA et al., 2009; CROTTY, 2011). ThFH-Zellen exprimieren unter anderem CXCR5, PD-1, CD40L, IL-4 und IL-21 und sind vor allem dafür verantwortlich, dass das Keimzentrum gebildet und aufrechterhalten wird. Im Keimzentrum regulieren sie den Immunglobulin (Ig)-Klassenwechsel sowie die Plasmazelldifferenzierung. Auch bei der Ausbildung von B-Gedächtniszellen sind ThFH-Zellen beteiligt (CROTTY, 2011). Aufgrund ihrer Funktion im humoralen Immunsystem, spielen die ThFH Zellen möglicherweise eine wichtige Rolle in der Vermeidung von Autoimmunerkrankungen (WALKER, 2022; GUTIÉRREZ-MELO & BAUMJOHANN, 2023).

IL-6, IL-23 und TGF β des entzündlichen Mikromilieus, sind in die Ausbildung des Th17-Zell Phänotyps involviert (VELDHOEN et al., 2006; ZHOU et al., 2007; CAZA & LANDAS, 2015), wobei TGF β gleichzeitig die Differenzierung naiver

CD4⁺ T-Lymphozyten zu Th1- oder Th2-Zellen hemmt (VELDHOEN et al., 2006). Die Th17-Zellen sind über ihre Produktion von IL-17, IL-6, IL-22, TNF α und IL-10 bei der Abwehr von bakteriellen und mykotischen Infektionen, bei der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten und bei der Entstehung von Autoimmunerkrankungen involviert (WEAVER et al., 2006; BRUCKLACHER-WALDERT et al., 2009; CAZA & LANDAS, 2015).

Die meisten der Tregs differenzieren bereits im Thymus zu vollständig funktionsfähigen Zellen. Die Stimulation der T-Zell-Rezeptoren naiver CD4⁺ T-Lymphozyten mit gleichzeitiger Stimulation durch TGF β kann aber auch in der Peripherie zur Ausbildung von Tregs führen (CHEN et al., 2003; SAKAGUCHI et al., 2020). Tregs haben in erster Linie eine immunsuppressive Wirkung, indem sie z. B. über die Oberflächenexpression von CTLA-4 und PD-1, die Sekretion von Zytokinen (z. B. IL-10, TGF β) und die Reduktion der Verfügbarkeit von IL-2, überschießende Reaktionen des Immunsystems hemmen (NAKAMURA et al., 2004; PANDIYAN et al., 2007; RUBTSOV et al., 2008; WING et al., 2014; PARK et al., 2015; SAKAGUCHI et al., 2020). Die Produktion von TGF β durch die Tregs zeigt zudem einen starken positiven Rückkopplungsmechanismus auf die Differenzierung naiver T-Zellen in Tregs (FLAVELL et al., 2010; LANÇA & SILVA-SANTOS, 2012).

2.4.1.2. CD8⁺ T-Lymphozyten

CD8⁺ T-Lymphozyten, als wichtige Komponente des adaptiven Immunsystems, können ebenfalls in weitere Effektor-Subpopulationen unterteilt werden (MITTRÜCKER et al., 2014). Naive CD8⁺ T-Lymphozyten differenzieren unter dem Einfluss von IL-2 und IL-12 in die bisher am besten charakterisierte Subpopulation, die zytotoxischen Lymphozyten (JOSHI et al., 2007; KALIA et al., 2010; PIPKIN et al., 2010; MITTRÜCKER et al., 2014). Diese können Antigene auf MHC-I Molekülen der kernhaltigen Zellen erkennen und zytotoxische Moleküle wie Granzyme und Perforin sowie entzündungsfördernde Zytokine wie IFN γ und TNF α sezernieren und sind dadurch z. B. an der Bekämpfung von intrazellulären Pathogenen beteiligt (KAECH & CUI, 2012; MITTRÜCKER et al., 2014). Nach dem Abklingen einer Entzündungsreaktion kommt es zur Apoptose oder Ausbildung von Gedächtniszellen, wobei Letztere allerdings nur einen kleinen Teil ausmachen (MITTRÜCKER et al., 2014; PHILIP & SCHIETINGER, 2021).

Eine weitere Effektor-Subpopulation stellen die regulatorischen CD8⁺ T-Lymphozyten (CD8⁺ Tregs) dar, die ähnlich wie die CD4⁺ Tregs eine immunsuppressive Wirkung haben (YU et al., 2018). Sie entstehen unter dem Einfluss von TGF β und IL-6 (CHAPUT et al., 2009). CD8⁺ Tregs können kostimulatorische Moleküle von antigenpräsentierenden Zellen herunterregulieren, wodurch die weitere Aktivierung von CD4⁺ T-Lymphozyten gehemmt und einer überschießenden Immunreaktionen entgegengewirkt wird (LIU et al., 1998; YU et al., 2018). Des Weiteren produzieren diese Zellen immunsuppressive Zytokine, wie z. B. IL-10 (wodurch die Proliferation anderer CD8⁺ T-Lymphozyten gehemmt wird) und TGF β (wodurch die Aktivierung der CD4⁺ T-Lymphozyten unterdrückt wird) (ENDHARTI et al., 2005; MANGALAM et al., 2012; SU et al., 2014; YU et al., 2018). Auch die Expression von CTLA-4 trägt zu der hemmenden Funktion der CD8⁺ Tregs bei (COSMI et al., 2003; XU et al., 2016).

2.4.1.3. T-Lymphozyten in der Onkogenese

Abhängig vom Phänotyp der Effektor-Subpopulationen der T-Lymphozyten haben diese eine fördernde oder hemmende Wirkung in der Onkogenese (GRIVENNIKOV et al., 2010).

Die wichtigsten tumorhemmenden Zellen sind die CD8⁺ T-Lymphozyten (HE et al., 2019). Vom Tumor exprimierte Antigene werden von zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten erkannt, woraufhin diese Zytokine, wie z. B. IL-2, TNF α und IFN γ sowie zytotoxische Substanzen wie Perforin und Granzyme sezernieren und so das Tumorstadium hemmen (HE et al., 2019; PHILIP & SCHIETINGER, 2021). Eine erhöhte Dichte dieser Zellen im Tumorgewebe ist in der Humanmedizin mit einer besseren Prognose verbunden (TOSOLINI et al., 2011).

Allerdings wird die Funktion der zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten früh durch verschiedene Mechanismen, die von Tumorzellen oder dem immunsuppressiven Tumormikromilieu vermittelt werden, beeinträchtigt (SCHIETINGER et al., 2016; HE et al., 2019). Dazu gehört z. B. die immunsuppressive Wirkung der TANs, TAMs und Tregs (NOY & POLLARD, 2014; COFFELT et al., 2016; SAKAGUCHI et al., 2020). Zusätzlich können Tumorzellen PD-L1 exprimieren und dadurch die Funktion der CD8⁺ T-Lymphozyten hemmen (JUNEJA et al., 2017). Der Funktionsverlust der CD8⁺ T-Lymphozyten kann z. B. auch durch eine fehlende Antigenpräsentation aufgrund der fehlenden Expression von MHC-I

Rezeptoren durch Tumorzellen bedingt sein (CORNEL et al., 2020; PHILIP & SCHIETINGER, 2021). Allerdings kann eine anhaltende bzw. steigende Stimulation durch Tumorantigene absterbender Tumorzellen zur Erschöpfung der T-Lymphozyten und dementsprechend zu einem Rückgang ihrer tumorhemmenden Funktion führen (SCHIETINGER et al., 2016; WANG et al., 2017b).

Die Th-Zellen sind, abhängig von ihrem Phänotyp, auf unterschiedliche Weise in der Onkogenese wirksam. Die Th1-Zellen können über den direkten Kontakt zum MHC-II-Rezeptor der CD8⁺ T-Lymphozyten sowie indirekt über die Produktion von IL-2 die Aktivierung und Proliferation der tumorhemmenden CD8⁺ T-Lymphozyten fördern. Gleichzeitig führt die Produktion von IFN γ durch die Th1-Zellen zur Aktivierung von antigenpräsentierenden Zellen und zu einer erhöhten Expression von MHC-I Rezeptoren auf der Tumorzelloberfläche. Durch die erhöhte MHC-I Expression sind die zytotoxischen CD8⁺ T-Lymphozyten einer erhöhten Antigenpräsentation ausgesetzt (KNUTSON & DISIS, 2005; LANÇA & SILVA-SANTOS, 2012). Auch der direkte Kontakt der Th1-Zellen mit den MHC-II Rezeptoren der Tumorzellen und die nachfolgende Zytokinproduktion kann die Apoptose der Tumorzellen bewirken (KNUTSON & DISIS, 2005). Die tumorhemmende Funktion der Th1-Zellen wird weiter dadurch belegt, dass die Infiltration von Th1-Zellen bei verschiedenen tumorösen Erkrankungen mit einer besseren Prognose bezüglich der krankheitsfreien Gesamtüberlebenszeit in Verbindung gebracht wird (LANÇA & SILVA-SANTOS, 2012).

Th2-Zellen vermitteln ihre Wirkung über die Modulation von Immuneffektorzellen. Sie unterdrücken die Ausbildung des Th1-Zell Phänotyps und dessen zelluläre Immunität (FIORENTINO et al., 1989; ITOH et al., 2009) und sind z. B. über die M2-Polarisierung der Makrophagen tumorwachstumsfördernd (RUFFELL et al., 2012). Eine erhöhte Tumordinfiltration mit Th2-Zellen wurde in der Humanmedizin beschrieben und mit einem aggressiven Tumorverhalten und einer schlechteren Prognose in Zusammenhang gebracht (TASSI et al., 2008; DE MONTE et al., 2011; LE et al., 2021).

Weniger gut erforscht ist die Aufgabe der ThFH-Zellen in der Onkogenese, die zwischen den Tumorarten zu variieren scheint. Eine negative Auswirkung der ThFH-Zellen ist in der Humanmedizin vor allem in B-Zell-Lymphomen zu erkennen. Eine erhöhte Infiltration von ThFH-Zellen scheint im Gegensatz dazu bei soliden Tumoren mit einer stärker ausgeprägten tumorhemmenden Immunantwort

zu korrelieren (GUTIÉRREZ-MELO & BAUMJOHANN, 2023). Die tumorhemmende Wirkung der ThFH-Zellen erfolgt über die Produktion von IL-21 mit anschließender Aktivierung von B-Lymphozyten, die daraufhin tumorhemmende Immunglobuline produzieren sowie über die Stimulation von tumorhemmend wirkenden CD8⁺ T-Lymphozyten (NIOGRET et al., 2021; HUI et al., 2022; GUTIÉRREZ-MELO & BAUMJOHANN, 2023).

Th17-Zellen konnten sowohl mit einem tumorfördernden als auch mit einem tumorhemmenden Verhalten in Verbindung gebracht werden, das auf deren Sekretion von IL-17 zurückzuführen ist (MURUGAIYAN & SAHA, 2009; LANÇA & SILVA-SANTOS, 2012). IL-17 fördert einerseits die Tumorprogression und -metastasierung, indem es indirekt über die Interaktion mit Zellen des Tumormikromilieus und deren Produktion von proangiogenetischen Faktoren die Neoangiogenese induziert. Andererseits bewirkt IL-17 die Produktion von IL-6 und IL-12 durch verschiedene Zellen, wodurch wiederum CD8⁺ T-Lymphozyten aktiviert werden, die hemmend auf das Tumorwachstum wirken (MURUGAIYAN & SAHA, 2009).

Tregs sind die am meisten beschriebene, tumorfördernde CD4⁺ T Zell-Subpopulation, die über ihre immunsuppressive Funktion (siehe Kapitel 2.4.1.1) und damit einhergehende Hemmung der Tumorzelllyse zum Tumorwachstum beitragen (BALKWILL et al., 2012). Insbesondere in weiter fortgeschrittenen Tumoren sind die Tregs die vorherrschende T-Lymphozyten-Subpopulation im Tumormikromilieu. So wird in der Humanmedizin bei einer hohen Anzahl an Tregs im Tumorgewebe und einer gleichzeitig niedrigeren Anzahl an wachstumshemmend wirkenden CD8⁺ T-Lymphozyten mit einem schlechteren Verlauf der Tumorerkrankung gerechnet (KRYCZEK et al., 2007; MURUGAIYAN & SAHA, 2009; SAKAGUCHI et al., 2020).

Die Funktion der CD8⁺ Tregs im Tumor ist bisher weniger gut erforscht (FLAVELL et al., 2010). CD8⁺ Tregs können sich ebenfalls unter immunsuppressiven Konditionen wie dem Tumormikromilieu bilden und haben eine ähnliche immunsuppressive Wirkung wie die Tregs (COSMI et al., 2003; ENDHARTI et al., 2005; JARNICKI et al., 2006; FLAVELL et al., 2010; MANGALAM et al., 2012; SU et al., 2014; XU et al., 2016; YU et al., 2018).

Auch im peripheren Blut verändert sich die Zusammensetzung der zirkulierenden

Subpopulationen mit zunehmender Tumorlast (ITOHO et al., 2009; WATABE et al., 2011). In einigen Studien konnte bei tumorkranken Hunden ein geringerer Anteil aller Lymphozyten-Subpopulationen im Vergleich zu gesunden Hunden festgestellt werden (ITOHO et al., 2009; WATABE et al., 2011), wobei sich das Verhältnis von CD4:CD8 Lymphozyten erhöhte und im Verlauf der Tumorerkrankung weiter anstieg (WATABE et al., 2011). Das höhere Verhältnis ist am ehesten auf eine Reduktion der Anzahl der CD8⁺ T-Lymphozyten zurückzuführen (WATABE et al., 2011; KARAYANNOPOULOU et al., 2017), die mit der Tumorprogression weiter sinkt (ITOHO et al., 2009; WATABE et al., 2011). Gleichzeitig ist auch die Anzahl der zirkulierenden CD4⁺ T-Lymphozyten bei Tumorpatienten niedriger als bei gesunden Hunden, allerdings sinken diese weniger stark ab (WATABE et al., 2011). Es wird vermutet, dass dies auf eine Zunahme von zirkulierenden, tumorfördernden Tregs zurückzuführen ist (WATABE et al., 2011), deren Anzahl sowohl bei Menschen als auch bei Katzen und Hunden mit Tumorerkrankungen zunehmen (ICHIHARA et al., 2003; BILLER et al., 2007; O'NEILL et al., 2009; SPARGER et al., 2018; QIU et al., 2023). O'Neill *et al.* konnte vor allem bei Hunden mit Karzinomen einen erhöhten Anteil an im Blut zirkulierenden Tregs an der Gesamtanzahl der CD4⁺ T-Lymphozyten im Vergleich zu Hunden mit anderen Tumorarten feststellen (O'NEILL et al., 2009).

2.4.2. B-Lymphozyten

Die Reifung der B-Lymphozyten erfolgt im Knochenmark (DELVES & ROITT, 2000). Naive B-Lymphozyten wandern nach Antigenkontakt in die Primärfollikel des lymphatischen Gewebes. Diese Zellen proliferieren nachfolgend und formieren das Keimzentrum. Im Keimzentrum erfolgt die Interaktion mit ThFH-Zellen, der Antikörper- Klassenwechsel in IgA, IgG, IgE und die Affinitätsprüfung der Antikörper (NELSON, 2010). B-Lymphozyten produzieren antigenspezifische Antikörper, die entweder frei im Blut zirkulieren oder als membranständige Antikörper (B-Zell- Rezeptoren) freie Antigene erkennen (DELVES & ROITT, 2000). Einige dieser antigenspezifischen B-Lymphozyten differenzieren zu Plasmazellen. Diese Plasmazellen sind in der Lage hochaffine Antikörper zu produzieren (DELVES & ROITT, 2000; NELSON, 2010; SHEN et al., 2016). Ein kleiner Teil differenziert weiter zu Gedächtniszellen, um bei erneutem Antigenkontakt schnell und präzise zu agieren (NELSON, 2010; KUROSAKI et al., 2015).

Des Weiteren zählen B-Lymphozyten zu den professionellen antigenpräsentierenden Zellen. Sie können über MHC-I und MHC-II Moleküle Antigene präsentieren, wodurch folglich CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten aktiviert werden können (RASTOGI et al., 2022).

B-Lymphozyten können in drei Gruppen unterteilt werden. Hierzu zählen die B1-, B2- und regulatorische B-Lymphozyten (Bregs), wobei die B2-Lymphozyten die Mehrheit darstellen. Anhand der Expression von Proteinen auf der Zelloberfläche aber auch anhand intrazellulärer Proteine, können die B-Lymphozyten der verschiedenen Gruppen in zahlreiche Subpopulationen unterteilt werden (RASTOGI et al., 2022). B2-Lymphozyten, auch konventionelle B-Lymphozyten genannt, sind über die Antikörperproduktion vor allem an der adaptiven Immunantwort beteiligt (MONTECINO-RODRIGUEZ & DORSHKIND, 2012; RASTOGI et al., 2022). Als Bestandteil des angeborenen Immunsystems produzieren B1-Lymphozyten vor allem IgM (MONTECINO-RODRIGUEZ & DORSHKIND, 2012; RASTOGI et al., 2022). Bregs haben durch ihre Produktion von IL-10, IL-35 und TGFβ vor allem eine entzündungshemmende Funktion (LEE et al., 2014; WANG et al., 2014; RASTOGI et al., 2022).

2.4.2.1. B-Lymphozyten in der Onkogenese

B-Lymphozyten können sowohl tumorfördernd als auch tumorhemmend wirken (SHEN et al., 2016; ROSSETTI et al., 2018). Im Allgemeinen wird davon ausgegangen, dass die tumorfördernde Funktion dominiert (ROSSETTI et al., 2018). Eine zentrale tumorwachstumsfördernde Bedeutung hat die Produktion von IL-10 und TGFβ durch die Bregs, wodurch die Differenzierung von Makrophagen und CD4⁺ T-Lymphozyten in tumorwachstumsfördernde M2-Makrophagen und Tregs induziert wird (MAURI & BOSMA, 2012; GUNDERSON & COUSSENS, 2013; LEE et al., 2014). Gleichzeitig wird die Polarisierung zu Th1- und Th17-Zellen sowie die zytolytische Wirkung der CD8⁺ T-Lymphozyten gehemmt und die Polarisierung zu Th2-Zellen gefördert (MAURI & BOSMA, 2012; GUNDERSON & COUSSENS, 2013). Zusätzlich fördert die Antigenpräsentation über den MHC-II der B-Lymphozyten die Differenzierung und klonale Expansion von naiven CD4⁺ T-Lymphozyten, insbesondere in Th2-Zellen (CRAWFORD et al., 2006). Des Weiteren kommt es, durch die Bindung von durch B-Lymphozyten sezernierten Antikörper an Tumorantigene, zur Immunkomplexbildung. Die Immunkomplexbildung führt folglich zur Komplementaktivierung sowie zur

Bindung der Immunkomplexe an myeloische Zellen. Unter der Mitwirkung von Th2-Zytokinen (IL-4, IL-13, IL-10) sowie von Zytokinen und Wachstumsfaktoren (IL-6, IL-10, GM-CSF), die durch B-Lymphozyten produziert werden, folgt eine tumorwachstumsfördernde Polarisierung myeloischer Zellen (GUNDERSON & COUSSENS, 2013). Der während der Komplementaktivierung entstehende Komplementfaktor C5a bewirkt die Rekrutierung von weiteren immunsuppressiv wirkenden Monozyten, die durch ihre protumoralen Eigenschaften das Tumorwachstum fördern (MARKIEWSKI et al., 2008; GUNDERSON & COUSSENS, 2013). Die tumorfördernde Funktion der B-Lymphozyten wird durch die Tatsache unterstützt, dass in verschiedenen Tumoren die Depletion von B-Lymphozyten zu einer erhöhten Infiltration von tumorhemmenden Immunzellen und dadurch zu einem verlangsamten Tumorwachstum führt (ZHANG et al., 2013; ZHANG et al., 2016). Allerdings konnte in anderen Studien gezeigt werden, dass die Infiltration von B-Lymphozyten mit einer langen Überlebenszeit einhergeht, eine gute Prognose vorhersagt (LADÁNYI, 2015) und die antitumorale Immunantwort fördern kann (KOBAYASHI et al., 2014). Der MHC-II vermittelten Antigenpräsentation durch B-Lymphozyten wird ebenso eine verstärkte antitumorale Immunantwort zugesprochen (SHEN et al., 2016). Eine antitumorale Funktion erfolgt durch B-Lymphozyten, die durch IL-21 aktiviert werden und daraufhin Granzyme B sezernieren können. Dadurch weisen diese eine direkte Zytotoxizität gegen Tumorzellen auf (HAGN et al., 2009; CATALÁN et al., 2015; SHEN et al., 2016).

3. Zirkulierende Leukozyten als prognostische Faktoren

Aufgrund der fundamentalen Bedeutung der Entzündungszellen im Tumorgeschehen werden zirkulierende Leukozyten als Biomarker für die Intensität der tumorbedingten Entzündung untersucht und als prognostische Faktoren bei verschiedenen Tumorerkrankungen bei Hunden und Katzen beschrieben (ITOH et al., 2009; SOTNIK et al., 2010; PERRY et al., 2011; MARCONATO et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; REJEC et al., 2017; SKOR et al., 2017; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021; VELUVOLU et al., 2021). Itoh *et al.* konnte z. B. nachweisen, dass bei Hunden mit Tumorerkrankungen die Anzahl an zirkulierenden Leukozyten höher ist als bei gesunden Hunden und dass diese mit fortschreitendem Tumorstadium weiter ansteigt (ITOH et al., 2009). Ein erhöhtes Rezidivrisiko bei Patienten mit erhöhter Anzahl an Leukozyten konnte

auch bei Hunden mit operierten kutanen Gefäßwandtumoren und bei Katzen mit operierten Injektions- assoziierten Fibrosarkomen (FISS) festgestellt werden (CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021). Bei den Katzen mit operierten FISS ist die Anzahl an Leukozyten, zumindest in der univariablen Cox-Regressionsanalyse, zusätzlich prognostisch für die Überlebenszeit, wobei eine erhöhte Anzahl von Leukozyten ein höheres Risiko zu versterben darstellt (CHITI et al., 2020). Die Anzahl der Leukozyten allein ist allerdings nur von begrenztem klinischen Wert, wenn diese nicht weiter differenziert und die Konzentrationen der einzelnen Typen an Leukozyten bestimmt werden (STOCKHAM et al., 2003).

3.1. Zirkulierende neutrophile Granulozyten als prognostischer Faktor

Verschiedene Studien haben bereits die Anzahl der neutrophilen Granulozyten als möglichen prognostischen Faktor bei Hunden und Katzen mit onkologischen Erkrankungen untersucht. So ist der Anteil der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten bei tumorkranken Hunden höher als bei gesunden Hunden (ITOH et al., 2009; PERRY et al., 2011; REJEC et al., 2017) und mit einem weiter fortgeschrittenen Tumorstadium sowie mit einem aggressiveren Tumorverhalten verbunden (CHITI et al., 2021). Eine erhöhte Anzahl an neutrophilen Granulozyten kann zudem darauf hinweisen, dass es sich bei einem kaninen Weichteiltumor mit einer höheren Wahrscheinlichkeit um einen malignen als um einen benignen Weichteiltumor handelt (MACFARLANE et al., 2016a). Darüber hinaus kann eine erhöhte Anzahl an zirkulierenden neutrophilen Granulozyten bei Hunden und Katzen mit verschiedenen Tumorerkrankungen mit einem erhöhten Rezidivrisiko (CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021) und einer kürzeren Überlebenszeit (SKOR et al., 2017; PETRUCCI et al., 2021) und zu dem bei Hunden mit einer kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit (SKOR et al., 2017; VELUVOLU et al., 2021) sowie einer kürzeren krankheitsfreien Überlebenszeit (PERRY et al., 2011) in Verbindung gebracht werden.

3.2. Zirkulierende Monozyten als prognostischer Faktor

Ähnlich wie bei den neutrophilen Granulozyten ist die Anzahl der zirkulierenden Monozyten bei tumorkranken Hunden im Vergleich zu gesunden Hunden erhöht (ITOH et al., 2009). Der prognostische Wert einer erhöhten Anzahl zirkulierender Monozyten wird bei Hunden mit verschiedenen Tumorerkrankungen ebenfalls beschrieben und spricht für eine kürzere krankheitsfreie und progressionsfreie

Überlebenszeit sowie für eine kürzere tumorspezifische Überlebenszeit (SOTTNIK et al., 2010; PERRY et al., 2011; MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017). Allerdings konnte bei tumorkranken Katzen bisher keine prognostische Bedeutung zirkulierender Monozyten festgestellt werden (PETRUCCI et al., 2021).

3.3. Zirkulierende Lymphozyten als prognostischer Faktor

Die absolute Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten wurde ebenfalls im Rahmen mehrerer Studien in der Tiermedizin bezüglich ihrer prognostischen Bedeutsamkeit untersucht. So konnte, im Vergleich zu gesunden Hunden, bei tumorkranken Hunden eine niedrigere Anzahl zirkulierender Lymphozyten festgestellt werden, die mit der Progression der Tumorerkrankung weiter sinkt (ITOH et al., 2009; WATABE et al., 2011; REJEC et al., 2017). In einer weiteren Studie konnte dies allerdings nicht bestätigt werden (KARAYANNOPOULOU et al., 2017). Des Weiteren konnte eine niedrige Anzahl zirkulierender Lymphozyten bei Hunden mit malignen Weichteiltumoren im Vergleich zu Hunden mit benignen Weichteiltumoren festgestellt werden (MACFARLANE et al., 2016a) und die Anzahl der Lymphozyten war signifikant niedriger bei kaninen high-grade im Vergleich zu low-grade Mastzelltumoren (MACFARLANE et al., 2016b). Allerdings zeigten verschiedene Studien, dass die Anzahl zirkulierender Lymphozyten bei Katzen und Hunden mit verschiedenen Tumorerkrankungen keinen prognostischen Wert darstellt (MUTZ et al., 2015; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021).

4. Leukozyten-Ratios als prognostische Faktoren

Das Verhältnis der Leukozyten zueinander wird weniger durch andere, möglicherweise gleichzeitig bestehende, pathophysiologische Faktoren beeinflusst und stellt daher einen aussagekräftigeren prognostischen Faktor dar als die einzelnen Komponenten allein (TEMPLETON et al., 2014; MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021). Das Verhältnis der Leukozyten soll einerseits die Intensität der durch den Tumor ausgelösten systemischen, tumorwachstumsfördernden Entzündungsreaktion darstellen. Andererseits wird die vom Körper induzierte, tumorhemmende Immunreaktion in das Verhältnis miteinbezogen (ITOH et al., 2009; TEMPLETON et al., 2014; SKOR et al., 2017; PETRUCCI et al., 2021).

4.1. Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio

Die Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio (NLR) setzt die im peripheren Blut zirkulierende Leukozytenpopulationen in folgendes Verhältnis:

$$\text{NLR} = \frac{\text{Absolute Anzahl der neutrophilen Granulozyten}}{\text{Absolute Anzahl der Lymphozyten}}$$

Höhere Werte für die NLR können einerseits auf eine stärkere, vom Tumorgewebe induzierte tumorwachstumsfördernde Entzündungsreaktion und andererseits oder gleichzeitig auf eine geringere tumorhemmende, zelluläre Immunreaktion durch die Lymphozyten hindeuten. Daher wird davon ausgegangen, dass Hinweise auf das Ausmaß der Tumorerkrankung in der NLR zum Ausdruck kommen und dieser Parameter als ein prognostischer Faktor betrachtet werden kann (TEMPLETON et al., 2014; SKOR et al., 2017; HOWARD et al., 2019b; PETRUCCI et al., 2021). Allerdings muss beachtet werden, dass verschiedene demographische und Lebensstilfaktoren die NLR bei Menschen beeinflussen können (HOWARD et al., 2019a), die so oder in ähnlicher Form auch Hunde (HENRIQUES et al., 2021) und Katzen (PETRUCCI et al., 2021) betreffen könnten. Die NLR wurde in der Tiermedizin bereits vielfach untersucht (MUTZ et al., 2015; DAVIES et al., 2018; FERNÁNDEZ & CHON, 2018; CHITI et al., 2020; CAMERINO et al., 2021; CHITI et al., 2021; HENRIQUES et al., 2021; NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021; TSOULOUFI et al., 2021). So wird eine erhöhte NLR zum Zeitpunkt der Diagnose mit einem erhöhten Rezidivrisiko (CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021), einer kürzeren Überlebenszeit (DAVIES et al., 2018; FERNÁNDEZ & CHON, 2018; HENRIQUES et al., 2021; NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021), einer progressionsfreien Überlebenszeit (FERNÁNDEZ & CHON, 2018; HENRIQUES et al., 2021) und einer krankheitsfreien Überlebenszeit (FERNÁNDEZ & CHON, 2018; PETRUCCI et al., 2021) in Verbindung gebracht. Auch konnte die NLR prognostizieren, ob eine nicht diagnostizierte Erkrankung gut- oder bösartig sein könnte (MACFARLANE et al., 2016a; REJEC et al., 2017) und wurde eingesetzt, um zwischen den Tumorgraden zu unterscheiden (MACFARLANE et al., 2016b). Im Gegensatz dazu konnte in anderen Studien keine prognostische Bedeutung der NLR festgestellt werden (MUTZ et al., 2015; CAMERINO et al., 2021). Tsouloufi *et al.* zeigte weiter, dass Katzen mit verschiedenen Tumoren eine signifikant höhere NLR aufweisen als gesunde Katzen und als Katzen mit nicht-neoplastischen Erkrankungen, wie z. B. gastrointestinalen Erkrankungen (TSOULOUFI et al., 2021).

4.2. Lymphozyten:Monozyten-Ratio

Ähnlich wie bei der NLR werden bei der Lymphozyten:Monozyten-Ratio (LMR) ebenfalls im peripheren Blut zirkulierende Leukozyten in folgendes Verhältnis gesetzt:

$$\text{LMR} = \frac{\text{Absolute Anzahl der Lymphozyten}}{\text{Absolute Anzahl der Monozyten}}$$

In diesem Fall spricht ein niedrigerer Wert der LMR für eine stärkere vom Tumor induzierte Entzündungsreaktion, die hier durch die zirkulierenden Monozyten repräsentiert wird. Gleichzeitig kann eine niedrigere LMR auf eine verringerte, durch die Lymphozyten vermittelte, tumorhemmende Immunreaktion hinweisen und ist mit einer schlechteren Prognose sowohl bei tumorkranken Menschen als auch bei tumorkranken Tieren verbunden (MARCONATO et al., 2015; NISHIJIMA et al., 2015; TAGAWA et al., 2021). Eine niedrige LMR war mit einer längeren progressionsfreien Überlebenszeit (MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017; TAGAWA et al., 2021) und längeren Überlebenszeit verbunden (MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017) und hatte eine stärkere Aussagekraft als die Anzahl der Monozyten allein (SKOR et al., 2017). Zusätzlich konnte spezifisch bei Katzen mit Tumorerkrankungen eine signifikant niedrigere LMR im Vergleich zu gesunden Katzen festgestellt werden (TSOULOUI et al., 2021). Andere Studien konnten jedoch keine prognostische Bedeutung der LMR bezüglich der Überlebenszeit (CAMERINO et al., 2021; HENRIQUES et al., 2021) oder der progressionsfreien Überlebenszeit (HENRIQUES et al., 2021) feststellen.

5. Das kutane Plattenepithelkarzinom der Katze

Das Plattenepithelkarzinom der Katze ist ein maligner Hauttumor und mit 11,4 % (HO et al., 2018) - 15,2 % (MILLER et al., 1991) einer der häufigsten Hauttumore bei Katzen (MILLER et al., 1991; HO et al., 2018). Unterschieden wird zwischen dem Plattenepithelkarzinom in situ, das nur in der Epidermis zu finden ist und dem daraus entstehenden oder de novo entstehenden Plattenepithelkarzinom, das durch die Basalmembran durchbrechend tiefere Gewebsschichten infiltriert. Anhand der histologischen Charakteristika und Lokalisationen, an denen die Läsionen auftreten, wird zudem das multizentrische Plattenepithelkarzinom in situ (auch Bowen-Karzinom genannt) vom Plattenepithelkarzinom in situ abgegrenzt (GROSS et al., 2005; HAUCK & OBLACK, 2019). Des Weiteren wird das nicht

sonnenlichtinduzierte Plattenepithelkarzinom auf pigmentierter Haut und das Spindelzell-Plattenepithelkarzinom als eigene Entität beschrieben (GROSS et al., 2005).

5.1. Ätiologie

UV-Licht wird bei Menschen bereits lange als Risikofaktor und Ursache für die Entstehung von verschiedenen Hauttumoren betrachtet (ARMSTRONG & KRICKER, 2001; NARAYANAN et al., 2010). Eine durch UV-Licht induzierte Mutation im Tumorsuppressorgen p53 (NAKAZAWA et al., 1994) kann wichtige zellzyklusregulierende Mechanismen wie die Verzögerung der Progression des Zellzyklus, die Induktion der Apoptose und die DNA-Reparatur entkoppeln (LANE, 1992; TEIFKE & LÖHR, 1996; BENJAMIN & ANANTHASWAMY, 2007). In 13 von 19 (68,4 %) Katzen mit einem kutanen Plattenepithelkarzinom am Ohr, Nasenplanum oder Auge wurde eine Mutation im Tumorsuppressorgen p53 festgestellt, die als eine der Ursachen des kutanen Plattenepithelkarzinoms beschrieben wird (TEIFKE & LÖHR, 1996). Außerdem haben weiße Katzen im Vergleich zu Katzen mit pigmentierter Haut ein 13,4-fach höheres Risiko an einem Plattenepithelkarzinom zu erkranken (DORN et al., 1971). Diese Feststellungen zusammen mit den sonnenlicht-exponierten Prädispositionsstellen, wie Pinnae, Augenlider, Kinn, Nase und Lippe (MILLER et al., 1991; MURPHY, 2013), bestärken die Annahme, dass UV-Strahlung einen entscheidenden Faktor in der Pathogenese der kutanen Plattenepithelkarzinome bei Katzen darstellt (DORN et al., 1971).

In der Humanmedizin werden Papillomaviren als möglicher ätiologischer Faktor oder zumindest als Cofaktor bei der Entstehung von Plattenepithelkarzinomen diskutiert (GROSS et al., 2005; AKGÜL et al., 2006). Auch bei Katzen konnte humanes und felines Papillomavirus in einem Teil der untersuchten UV-Licht induzierten Plattenepithelkarzinomen amplifiziert werden (MUNDAY et al., 2011; O'NEILL et al., 2011). Ob das Virus zur Karzinogenese des UV-Licht induzierten Tumors beiträgt oder ob die UV-Licht induzierte Dysplasie eine sekundäre Infektion begünstigt, bleibt allerdings unklar. Ein direkter Zusammenhang konnte bei felineen kutanen Plattenepithelkarzinomen nicht dargestellt werden (O'NEILL et al., 2011).

5.2. Biologisches und klinisches Verhalten

Plattenepithelkarzinome weisen in der Regel ein lokal invasives und destruktives Wachstum auf und können sich makroskopisch als plaqueartige oder ulzerative Läsionen darstellen oder ein papilläres Wachstumsmuster aufweisen (CARLISLE & GOULD, 1982; LANA et al., 1997; GROSS et al., 2005; THOMSON, 2007). Häufig berichten Besitzer bzw. Besitzerinnen von therapieresistenten Kratzern auf meist nicht pigmentierter und wenig bzw. nicht behaarter Haut ihrer Katzen, die über lange Zeit bestehen und schließlich voranschreiten (CARLISLE & GOULD, 1982).

Eine Metastasierung erfolgt selten und ist erst im fortgeschrittenen Krankheitsverlauf in den regionalen Lymphknoten (LANA et al., 1997; THOMSON, 2007; DOS SANTOS et al., 2023) und weniger oft in der Lunge zu finden (THOMSON, 2007; DOS SANTOS et al., 2023).

5.3. Diagnostisches Vorgehen und Staging

Die Diagnosestellung erfolgt über eine Biopsieentnahme. Dafür kann entweder eine Punchbiopsie oder eine exzisionale sowie inzisionale Biopsie durchgeführt werden. Idealerweise werden diese an verschiedenen Lokalisationen entnommen. Eine Feinnadelaspiration kann ebenfalls durchgeführt werden (MURPHY, 2013; HAUCK & OBLACK, 2019). Histologisch wird zwischen gut differenzierten, moderat differenzierten und wenig differenzierten Plattenepithelkarzinomen unterschieden (GROSS et al., 2005). Gleichzeitig zur Diagnosestellung sollten weitere Untersuchungen erfolgen, um eine Metastasierung aber auch weitere Erkrankungen des Patienten darstellen zu können (HAUCK & OBLACK, 2019). Dafür sind mindestens eine zytologische Untersuchung der tributären Lymphknoten mittels Feinnadelaspiration sowie Röntgenaufnahmen des Thorax in drei Ebenen erforderlich (MURPHY, 2013; HAUCK & OBLACK, 2019). Da der Tumor selten metastasiert (LANA et al., 1997; THOMSON, 2007; DOS SANTOS et al., 2023) und Fernmetastasen bisher nur in der Lunge beschrieben wurden (THOMSON, 2007; DOS SANTOS et al., 2023), dient die sonographische Untersuchung des Abdomens überwiegend dem Ausschluss weiterer Erkrankungen, die die Entscheidung bezüglich weiterer therapeutischer Schritte beeinflussen würde (HAUCK & OBLACK, 2019).

Das *World Health Organization Veterinary (WHO)- Staging System* unterscheidet

nicht zwischen einem Karzinom-in-situ und Tumoren, die bis zu 2 cm groß sind (OWEN, 1980; GROSS et al., 2005). Daher können nach diesem System oberflächliche und invasive Tumoren in der Größenordnung nicht weiter unterschieden werden (GROSS et al., 2005). Das modifizierte Staging-System nach Magne *et al.* unterscheidet zwischen Tumoren, die sich kleiner als 1,5 cm im Durchmesser (T1) oder größer als 1,5 cm im Durchmesser (T2) darstellen. Zudem werden nicht invasive Tumore der Untergruppe a und invasive Tumore der Untergruppe b zugeordnet (MAGNE et al., 1997). Beide, das WHO- Staging System und das modifizierte Staging System nach Magne *et al.*, werden in der Klinik angewendet (MAGNE et al., 1997; FIDEL et al., 2001; MELZER et al., 2006; SPUGNINI et al., 2009; MURPHY, 2013; SPUGNINI et al., 2015; GASYSOVA et al., 2017).

5.4. Therapie

Abhängig von der Größe und der Lokalisation des Tumors und abhängig vom zugänglichen Equipment und der Expertise, gibt es verschiedene Möglichkeiten das Plattenepithelkarzinom effektiv zu behandeln (MURPHY, 2013). Kutane Plattenepithelkarzinome der Pinnae, der Augenlider und des Nasenplanums können chirurgisch entfernt werden (MURPHY, 2013). Eine Möglichkeit für die Behandlung von invasiven Plattenepithelkarzinomen des Nasenplanums stellt die Nasektomie dar. Für diese Therapie wird einerseits ein akzeptables bis gutes kosmetisches Ergebnis (THOMSON, 2007), andererseits allerdings auch ein ästhetisch unzufriedenstellendes Ergebnis mit erhöhtem Infektionsrisiko beschrieben (SWAN et al., 2021). Kleinere Tumore bzw. Plattenepithelkarzinome in situ können ohne invasive Nasenplanektomie chirurgisch entfernt werden (MURPHY, 2013), allerdings ist dies mit einer hohen Rezidivrate verbunden (HAUCK & OBLACK, 2019).

Die Wirkung verschiedener Chemotherapeutika unter Verwendung unterschiedlicher Applikationsmethoden, als Monotherapie sowie in Kombination mit anderen Therapiemodalitäten, wurde bereits untersucht, wobei sich die Wirksamkeit in den verschiedenen Studien deutlich unterscheidet (OGILVIE et al., 1993; THÉON et al., 1996; DE VOS et al., 2004; SPUGNINI et al., 2009; SPUGNINI et al., 2015).

Für oberflächliche und kleine kutane Plattenepithelkarzinome sind eine

Kryotherapie, eine Brachytherapie oder eine photodynamische Therapie möglich, die zu unterschiedlichen Ansprechraten führen (KRAHWINKEL, 1980; LANA et al., 1997; MAGNE et al., 1997; GOODFELLOW et al., 2006; BUCHHOLZ et al., 2007; MURPHY, 2013; FLICKINGER et al., 2018; LINO et al., 2019). Die photodynamische Therapie scheint allerdings schmerzhaft zu sein (BUCHHOLZ et al., 2007) und bei invasiven Tumoren mit einer kurzen rezidivfreien Zeit einherzugehen (FLICKINGER et al., 2018).

Anatomische Grenzen limitieren die Möglichkeit den Tumor mit dem essenziellen Sicherheitsabstand im gesunden Gewebe entfernen zu können (CARLISLE & GOULD, 1982; SWAN et al., 2021). Die Strahlentherapie zur Therapie von UV-Licht induzierten kutanen Plattenepithelkarzinomen der Katze wird vor allem bei großflächigeren und invasiv wachsenden Tumoren eingesetzt, da so häufig eine bleibende destruktive Veränderung des gesunden Gewebes vermieden werden kann. Diese Therapiemethode führt zu einem besseren ästhetischen Ergebnis und wird daher oft von Patientenbesitzern bzw. Patientenbesitzerinnen bevorzugt (GASYMOVA et al., 2017; SWAN et al., 2021). Die Anwendung unterschiedlicher Therapieprotokolle mit verschiedenen ionisierten Strahlungen, wie Röntgenstrahlen (CARLISLE & GOULD, 1982), Protonen (FIDEL et al., 2001), Photonen (SWAN et al., 2021) und Elektronen (MELZER et al., 2006; CUNHA et al., 2010; GASYMOVA et al., 2017; VOZENIN et al., 2019) führte bei Katzen mit Plattenepithelkarzinomen in mehreren Studien zu unterschiedlichen Ergebnissen.

Verschiedene Protokolle sind bei der Anwendung von Elektronenbestrahlung beschrieben (MELZER et al., 2006; CUNHA et al., 2010; GASYMOVA et al., 2017; VOZENIN et al., 2019; ROHRER BLEY et al., 2022). Die Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 48 Gy, appliziert in 10 Sitzungen, zweimal täglich, zeigte in zwei Studien eine gute Toleranz und Effektivität. Dieses Strahlentherapieprotokoll führte in 94 % bis 100 % zu einer kompletten Remission des Tumors, die median 414 bis 916 Tage anhielt (MELZER et al., 2006; GASYMOVA et al., 2017). Die Gesamtüberlebenszeit von median 902 Tagen ist mit diesem Therapieprotokoll beschrieben (GASYMOVA et al., 2017). Aufgrund der guten Ansprechrate, der langen tumorfreien Überlebenszeit sowie der langen medianen Überlebenszeit spricht dieses Protokoll für eine gute Langzeittumorkontrolle und wird aktuell als Standardtherapie bei invasiven, inoperablen Plattenepithelkarzinomen empfohlen (GASYMOVA et al., 2017).

5.5. Prognostische Faktoren

Bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen wurden bezüglich der Anwendung unterschiedlicher Therapieoptionen insbesondere die Größe bei Behandlungsbeginn als möglicher prognostischer Faktor erwähnt. Dabei spricht ein kleinerer Tumor für eine höhere Wahrscheinlichkeit eines erfolgreichen Ansprechens auf die Therapie (CARLISLE & GOULD, 1982; THÉON et al., 1995; MAGNE et al., 1997; FLICKINGER et al., 2018; LINO et al., 2019), für eine längere tumorfreie Überlebenszeit (MAGNE et al., 1997; GASYMOVA et al., 2017; FLICKINGER et al., 2018) und eine längere Gesamtüberlebenszeit (LINO et al., 2019). Die Katzen, die in einer Studie regionale Metastasen und Fernmetastasen aufwiesen, hatten alle einen Tumor, der größer als 1,5 cm war. Daher kann auch von einem höheren Metastasierungsrisiko für größere Tumore gesprochen werden (DOS SANTOS et al., 2023). Auch die Invasivität wird als prognostischer Faktor beschrieben (FLICKINGER et al., 2018).

Die Untersuchung der proliferativen Aktivität des Tumors als prognostischer Faktor bei Katzen, die mit einer Strahlentherapie behandelt wurden, erzielte gegensätzliche Ergebnisse, wobei dies auf die unterschiedlichen Strahlentherapieprotokolle zurückzuführen sein könnte (THÉON et al., 1995; MELZER et al., 2006). Théon *et al.* zeigt, dass eine hohe proliferative Aktivität mittels Detektion des *proliferating-cell-nuclear-antigen* (PCNA) mit einem schlechteren Tumoransprechen assoziiert wird (THÉON et al., 1995). Im Gegensatz dazu konnte eine höhere KI-67-Reaktivität mit einem besseren Therapieerfolg in Zusammenhang gebracht werden (MELZER et al., 2006). Letzteres konnte in einer weiteren Studie allerdings nicht bestätigt werden (GASYMOVA et al., 2017).

III. MATERIAL UND METHODEN

6. Datenerhebung

Die Datenbank der Medizinischen Kleintierklinik, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, Deutschland, wurde zwischen 2011 und 2020 nach Katzen durchsucht, die aufgrund eines kutanen Plattenepithelkarzinoms der nicht pigmentierten Haut strahlentherapeutisch behandelt wurden. Die Datenauswertung erfolgte retrospektiv.

Die Daten wurden in dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® (Excel-Tabelle) dokumentiert und formatiert. Nicht in der Datenbank notierte Angaben wurden telefonisch bei den Katzenbesitzern bzw. Katzenbesitzerinnen erfragt.

Es wurde ein Antrag (AZ 235-03-11-2020) bei der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät zur Beurteilung eingereicht. Die Studie wurde als tierschutzrechtlich unbedenklich eingestuft und eine Beurteilung war nicht erforderlich (Anhang 1).

7. Patienten

7.1. Einschlusskriterien

Um in die Studie aufgenommen zu werden, mussten alle Katzen ein zytologisch oder histopathologisch bestätigtes Plattenepithelkarzinom der äußeren, nicht pigmentierten Haut aufweisen. Ein weiteres Einschlusskriterium war, dass die Katzen mit einer kurativen Strahlentherapie unter Verwendung von Elektronen mittels eines Linearbeschleunigers (Precise; Electa GmbH, Hamburg, Deutschland) und einer Gesamtdosis von 48 Gy in 10 Fraktionen zweimal täglich an 5 aufeinanderfolgenden Tagen behandelt wurden. Zusätzlich wurde vorausgesetzt, dass innerhalb von 28 Tagen vor Behandlungsbeginn und spätestens am Tag der ersten Behandlung Ergebnisse einer hämatologischen Untersuchung, genauer ein Blutbild mit Differenzialblutbild, vorlagen. Des Weiteren mussten zu einem Zeitpunkt nach der Therapie Informationen über den weiteren Verlauf der Erkrankung in der Datenbank dokumentiert sein oder telefonisch erfragt werden können. Es wurden nur Katzen eingeschlossen, bei denen jeweils alle Kriterien

zutrafen.

7.2. Signalement und Anamnese

Die Besitzer bzw. Besitzerinnen gaben bei der ersten Vorstellung Rasse, Geschlecht, Reproduktionsstatus und das Alter an. Die Vorgeschichte, bekannte Begleiterkrankungen sowie Informationen über eine erfolgte Behandlung vor der Strahlentherapie wurden in einem Anamnesegespräch erfasst. Diese dokumentierten Informationen wurden in die Excel-Tabelle übernommen.

7.3. Voruntersuchungen

Zur generellen Voruntersuchung gehörten die allgemeine klinische Untersuchung und eine spezielle onkologische Untersuchung. Des Weiteren erfolgten eine hämatologische Untersuchung und eine biochemische Serumanalyse.

7.3.1. Allgemeine klinische Untersuchung

Nach der Anamnese wurden im Rahmen der allgemeinen klinischen Untersuchung folgende Parameter untersucht: Allgemeinbefinden, Verhalten, Körpergewicht, Rektaltemperatur, Schleimhautfarbe, Schleimhautfeuchtigkeit, kapilläre Rückfüllungszeit, Pulsqualität, Herzfrequenz, Atemfrequenz sowie mögliche Abweichungen, die bei der Lungenauskultation (Atemgeräusche), der Palpation des Abdomens, der Palpation der peripheren Körperlymphknoten und der Inspektion der Maulhöhle festgestellt wurden. Etwaige Auffälligkeiten wurden dokumentiert.

7.3.2. Spezielle onkologische Untersuchung

Bei der speziellen onkologischen Untersuchung wurden Daten bezüglich der Tumorerkrankung erfasst. Diese Daten umfassten die Lokalisation des Tumors, die Anzahl der Tumore und die Tumorgöße. Zusätzlich wurde dokumentiert, ob es sich um einen Primärtumor oder ein Rezidiv handelt. Im Falle eines Rezidivs wurde ebenfalls aufgezeichnet, mit welcher Therapie und wie oft der Tumor zuvor behandelt wurde.

Nach einem modifizierten WHO-Staging-System (MAGNE et al., 1997) wurden die Tumore entsprechend ihrer Größe in zwei Tumorgößenkategorien eingeteilt: T1 ($\leq 1,5$ cm im Durchmesser), T2 ($> 1,5$ cm im Durchmesser). Die Unterteilung erfolgte retrospektiv anhand der in der Datenbank dokumentierten Angaben, einer visuellen Beurteilung (MAGNE et al., 1997; MELZER et al., 2006; GASYSOVA et al., 2017) anhand von Fotos oder der Beschreibung des Besitzers bzw. der

Besitzerin, je nach Verfügbarkeit der Informationen. Konnte keine zuverlässige Einteilung durchgeführt werden, wurde dieser Datenpunkt nicht in die Datenanalyse einbezogen.

Für die Beurteilung, ob der Tumor regionale Metastasen oder Fernmetastasen gebildet hat, wurden die Aufzeichnungen über die Ergebnisse der Feinnadelaspiration (FNA) regionaler Lymphknoten, der Thorax-Röntgenaufnahmen und der Ultraschalluntersuchung des Abdomens evaluiert. Dazu gehörten auch Ergebnisse der Untersuchungen, die in der überweisenden Praxis oder Tierklinik durchgeführt wurden. Es wurde notiert, ob Hinweise auf eine mögliche Metastasierung des Tumors bestanden.

7.3.3. Laborparameter

Die hämatologischen Untersuchungen, die in der Medizinischen Kleintierklinik angefertigt wurden, erfolgten mittels des Sysmex XT-2000iV Analysegerätes (Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt, Deutschland) unter Verwendung von Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Blut. Zusätzlich zu dem Analysedatum wurden folgende Parameter dokumentiert (Tabelle 1):

Tabelle 1: Dokumentierte hämatologische Parameter und deren Referenzwerte

Parameter (Einheit)	Referenzwerte
Erythrozyten ($\times 10^{12}/l$)	5,00-10,00
Hämoglobinkonzentration (mmol/l)	5,60-9,30
Hämatokrit (l/l)	0,33-0,44
Thrombozyten ($\times 10^9/l$)	180,00-550,00
Leukozyten ($\times 10^9/l$)	6,00-11,00
Neutrophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	3,00-11,00
Eosinophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	0,04-0,60
Basophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	0,00-0,04
Lymphozyten ($\times 10^9/l$)	1,00-4,00
Monozyten ($\times 10^9/l$)	0,04-0,50

Ergänzend wurde die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten wie folgt in ein Verhältnis gesetzt und in der Excel-Tabelle berechnet:

$$\text{NLR} = \frac{\text{Absolute Anzahl der neutrophilen Granulozyten}}{\text{Absolute Anzahl der Lymphozyten}}$$

$$\text{LMR} = \frac{\text{Absolute Anzahl der Lymphozyten}}{\text{Absolute Anzahl der Monozyten}}$$

Die biochemische Serumanalyse erfolgte mit dem Cobas Integra 400+ (Roche Diagnostics Deutschland GmbH, Mannheim, Deutschland).

Die Ergebnisse der Serumbiochemie wurden entsprechend der zugehörigen Referenzwerte interpretiert. Die Referenzwerte sind in der Tabelle 2 zu finden. Davon ausgenommen wurde die Kreatinin-Konzentration, die nach den Kriterien der *International Renal Interest Society* (IRIS) bewertet wurde. Nach diesen Kriterien liegt eine erhöhte Kreatinin-Konzentration bei Werten über 140 µmol/l vor (IRIS, 2023). Der Verdacht auf eine Nephropathie wurde geäußert, wenn eine einzelne Messung der Serum Kreatinin-Konzentration >140 µmol/l in Verbindung mit fehlendem Hinweis auf eine Dehydratation vorlag oder wenn ultrasonographische Hinweise auf eine Nephropathie oder beides vorlagen (IRIS, 2023).

Tabelle 2: Dokumentierte biochemische Parameter und Elektrolytkonzentrationen sowie deren Referenzwerte

Parameter (Einheit)	Referenzwerte
ALT (U/l)	0,00-114,00
ALP (U/l)	0,00-94,00
Bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	0,00-4,74
Eiweiß (g/l)	57,00-94,00
Albumin (g/l)	26,00-56,00
Harnstoff (mmol/l)	5,00-11,30
Glukose (mmol/l)	3,70-6,90
Phosphat (mmol/l)	0,97-2,36
Chlorid (mmol/l)	100,00-124,00
Natrium (mmol/l)	146,00-165,00
Kalium (mmol/l)	3,50-5,60
Kalzium (mmol/l)	2,30-3,00

7.4. Follow-up

Um den weiteren Krankheitsverlauf zu beurteilen wurden das Ansprechen des Tumors auf die Therapie, das Datum des Auftretens eines Rezidivs bzw. das Datum des Beginns eines progressiven Wachstums aufgezeichnet. Zudem wurde das Datum und die Ursache des Todes notiert.

Das Ansprechen des Tumors auf die Therapie und das Endergebnis der Behandlung wurden nach den *response evaluation criteria in solid tumors in dogs* (RECIST)-Kriterien bewertet (NGUYEN et al., 2015). Eine komplette Remission wurde erreicht, wenn nach der Therapie kein Anzeichen eines Tumors festgestellt werden konnte. Ein partielles Ansprechen wurde erreicht, wenn der Tumor um mehr als 30 % kleiner als vor der Therapie war. Eine stabile Erkrankung (*stable disease*) wurde erreicht, wenn sich die Tumorgöße um <30 % verringerte oder sich der Tumor um <20 % vergrößerte. Eine Progression wurde definiert als eine Vergrößerung des Tumors um mindestens 20 %. Die Bewertung des Ansprechens erfolgte mindestens 21 Tage nach dem letzten Tag der Behandlung.

Die Gesamtüberlebenszeit wurde als der Zeitraum zwischen dem ersten Behandlungstag und dem Tod des Patienten definiert.

Die progressionsfreie Überlebenszeit wurde als der Zeitraum vom Tag der ersten Behandlung bis zu dem Tag, an dem eine Progression des Tumorwachstums zu erkennen war, definiert.

Die tumorfreie Überlebenszeit wurde als der Zeitraum zwischen dem letzten Tag der Behandlung und dem Tag des Auftretens eines Rezidivs definiert.

Wenn die erforderlichen Informationen nicht dokumentiert waren, wurden die Besitzer bzw. Besitzerinnen der Patienten oder die bzw. der überweisende Tierärztin oder Tierarzt telefonisch oder per E-Mail kontaktiert, um weitere Informationen zu erhalten.

8. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm IBM SPSS Statistics (Version 29.0.2.0.). Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt. In einer explorativen Datenanalyse wurden die statistischen Häufigkeiten von numerischen Parametern ermittelt. Zu diesen Parametern gehörte das Alter in Jahren, das Körpergewicht in Kilogramm (kg), die Tage zwischen der hämatologischen Untersuchung und dem Tag der ersten Strahlentherapie, die Follow-up Zeit sowie die hämatologischen Parameter. Die hämatologischen Parameter umfassten die Anzahl der Leukozyten, Erythrozyten, die Hämoglobinkonzentration, der Hämatokrit und die Anzahl der Thrombozyten, der neutrophilen Granulozyten, der eosinophilen Granulozyten, der basophilen Granulozyten, der Lymphozyten sowie der Monozyten. Zusätzlich wurden die NLR, und die LMR in diese Analyse einbezogen.

Das Alter, die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten, die NLR sowie die LMR wurden mit dem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung geprüft.

Es folgte die Rangkorrelation nach Spearman, um den linearen Zusammenhang von nicht normalverteilten metrischen und ordinalskalierten Variablen zu berechnen. Folgende Variablen wurden miteinander korreliert: das Alter, die Tumorgößenkategorie (T1 versus T2), die NLR, die LMR sowie die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten. Voneinander

abhängige Variablen wurden bei dieser Berechnung nicht einbezogen. Hierzu gehörte z. B. der Zusammenhang der Anzahl der neutrophilen Granulozyten und der NLR, da die Anzahl der neutrophilen Granulozyten einen Bestandteil der NLR darstellt.

Mit dem Mann-Whitney-U-Test wurde berechnet, ob zwischen den Katzen mit einem Primärtumor und den Katzen mit einem Rezidiv ein signifikanter Unterschied bezüglich der untersuchten Laborparameter vorlag. Es wurde die NLR, die LMR sowie die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten getestet. Zusätzlich wurde für signifikante Ergebnisse der Median des Parameters für die jeweilige Gruppe berechnet. Für die Berechnung der Effektstärke wurde zunächst der Korrelationskoeffizient in einer Excel-Tabelle unter Verwendung der folgenden Formel ermittelt (FRITZ et al., 2012):

$$\text{Korrelationskoeffizient} = \frac{z}{\sqrt{N}}$$

Anhand des berechneten Korrelationskoeffizienten konnte dann die Effektstärke bestimmt werden.

Für die weiterführende Interpretation der signifikanten Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman und des Mann-Whitney-U-Tests wurde sich an der Einteilung der Effektstärke nach Cohen (1988) orientiert. Demnach wurde der Korrelationskoeffizient herangezogen, um die Stärke der Korrelation zu bestimmen. Ein Korrelationskoeffizient von 0,10 sprach für einen schwachen Zusammenhang, von 0,30 für einen mittleren Zusammenhang und von 0,50 für einen starken Zusammenhang (COHEN, 1988).

Die Überlebenswahrscheinlichkeit wurde mit der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse berechnet. Es wurde die Gesamtüberlebenszeit, die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit kalkuliert. Katzen, die zum Studienendpunkt noch lebten, wurden für die Berechnung der Gesamtüberlebenszeit zensiert. Ebenfalls zensiert wurden Katzen, über die keine Informationen bezüglich des Todeszeitpunktes vorlagen oder in Erfahrung gebracht werden konnten. Letztere Katzen wurden zum Zeitpunkt des letzten Follow-up-

Eintrages in der Datenbank zensiert.

Für die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit wurden Katzen zensiert, bei denen bis zum Tod keine Progression bzw. kein Rezidiv auftrat. Die Katzen, bei denen kein Hinweis auf eine progressive Erkrankung oder ein Rezidiv in der Datenbank dokumentiert wurde, wurden am Tag des letzten Follow-up-Eintrages für diese Endpunkte zensiert. Die Katzen, bei denen bis zum Todestag keine Hinweise auf eine Progression oder ein Rezidiv festgestellt werden konnten, wurden an diesem Tag für die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit zensiert.

Um die Gesamtüberlebenszeit, die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit zwischen verschiedenen Gruppen zu vergleichen, wurde anschließend der Log-Rank-Test eingesetzt. Konkret wurden diese Endpunkte zwischen Katzen mit Tumorgrößenkategorie T1 im Vergleich zu T2, Katzen mit einem Primärtumor im Vergleich zu Katzen mit einem Rezidiv und zwischen männlichen und weiblichen Katzen untersucht.

Unter Verwendung der Cox-Regressionsanalyse wurde der statistische Zusammenhang zwischen verschiedenen Variablen und dem Risiko für das Versterben der Studienpatienten, der Tumorprogression und des Auftretens eines Rezidivs berechnet, um eine mögliche prognostische Bedeutung dieser Variablen zu untersuchen. Zu diesen Variablen gehörten die NLR, die LMR sowie die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten, das Vorhandensein eines Primärtumors im Vergleich zu einem Rezidiv, die Tumorgrößenkategorie T1 im Vergleich zu T2 und das Geschlecht.

IV. ERGEBNISSE

9. Patientendaten

38 Katzen erfüllten die Einschlusskriterien. Bei 32 Katzen wurde das kutane Plattenepithelkarzinom durch eine histopathologische Untersuchung und in sechs Fällen durch eine zytologische Diagnose diagnostiziert. Alle Katzen erhielten eine Strahlentherapie mit dem gleichen Therapieprotokoll. Ein Blutbild mit Differenzialblutbild lag bei allen Katzen zur Auswertung vor und erfolgte in dem vorgegebenen Zeitraum.

9.1. Signalement und Anamnese

Bei allen Katzen waren das Geschlecht und der Reproduktionsstatus bekannt. 15/38 (39,5 %) Katzen waren weiblich, davon sieben kastriert und 23/38 (60,5 %) Katzen waren männlich und davon 17 kastriert.

Die Rasse war ebenfalls bei allen Katzen angegeben. 33/38 (86,8 %) Katzen waren europäische Kurzhaarkatzen, 4/38 (10,5 %) Katzen waren Mischlingskatzen und 1/38 (2,6 %) Katze war eine Langhaarkatze.

Das Alter der Katzen war bei 36/38 (94,7 %) Katzen bekannt und betrug im Durchschnitt 11,71 Jahre mit einer Standardabweichung von 2,60 Jahren.

Bei 37/38 (97,4 %) Katzen war das Körpergewicht dokumentiert und lag zwischen 2,90 kg und 8,30 kg und betrug im Median 4,4 kg.

9.1.1. Vorbehandlungen

Fünf Katzen erhielten vor der Behandlung eine orale Therapie mit Meloxicam, vier von ihnen bereits vor der Blutentnahme. Zwei Katzen erhielten vor der Blutentnahme eine antibiotische Therapie. Keine der Katzen erhielt innerhalb von 21 Tagen vor der Blutentnahme eine Behandlung mit Glukokortikoiden. Bei fünf Katzen wurde der Tumor vor der Behandlung einmal, bei einer Katze zweimal chirurgisch entfernt. Bei der letztgenannten Katze wurde die Strahlentherapie nach der zweiten Operation in einem adjuvanten Rahmen durchgeführt.

9.2. Voruntersuchungen

9.2.1. Allgemeine klinische Untersuchung

Ein geringgradiges inspiratorisches Atemgeräusch wurde bei sechs Katzen dokumentiert. Bei fünf dieser Katzen war der Tumor am Nasenplanum lokalisiert und das genannte Atemgeräusch damit möglicherweise ein weitergeleitetes Atemgeräusch. Bei zwei Katzen wurde ein Herzgeräusch festgestellt. Bei einer dieser Katzen war die echokardiographische Untersuchung unauffällig. Bei der zweiten Katze wurde ein benignes dynamisches Herzgeräusch (DR VOTO) festgestellt. Bei zwei Katzen war der linke und bei weiteren zwei Katzen der rechte mandibuläre Lymphknoten vergrößert. Eine beidseitige Vergrößerung der mandibulären Lymphknoten wurde bei drei Katzen festgestellt. Bei der Inspektion der Maulhöhle wurde bei fünf Katzen Zahnstein entdeckt. Bei einer dieser Katzen war der Rachenbereich geringgradig gerötet und bei drei dieser Katzen wurde eine Gingivitis dokumentiert. Eine Katze, die einen Tumor am Augenlid aufwies, hatte purulenten Augenausfluss.

Bei einer Katze, bei der eine Hyperthyreose bekannt war, fand sich eine Masse, vereinbar mit einer Schilddrüsenvergrößerung, im Halsbereich. Es erfolgte bezüglich dieser Masse keine weitere diagnostische Abklärung.

Ein Nickhautdrüsenprolaps wurde bei zwei Katzen dokumentiert. Eine dieser Katzen hatte den Tumor am Augenlid. Bei der anderen Katze war der Tumor am Nasenplanum mit Einbeziehung des Nasenrückens lokalisiert.

Ein geringgradig reduziertes Allgemeinbefinden wurde bei einer Katze festgestellt. Zwei Katzen hatten chronisch rezidivierende respiratorische Symptome ohne weitere diagnostische Abklärung.

Weitere Begleiterkrankungen sind in der Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Häufigkeiten der dokumentierten Begleiterkrankungen

Begleiterkrankung	Anzahl der Katzen
Nephropatie	11
bakterielle Blasenentzündung	1
Hyperthyreose	3
Otitis	2
Eosinophiles Granulom auf der Zunge	1
Psychogenes Leckekzem	1

9.2.2. Spezielle onkologische Untersuchung

Bei 35 Studienpatienten wurde ein einzelner Tumor diagnostiziert. Eine Katze wies zwei Tumore und zwei Katzen wiesen jeweils drei Tumore an unterschiedlichen Lokalisationen auf.

24 der Tumore waren auf dem Nasenplanum lokalisiert und zehn auf dem Augenlid. Eine Katze hatte einen Tumor auf dem Nasenplanum und zusätzlich ein Tumor auf dem Augenlid, zwei Katzen hatten einen Tumor auf dem Nasenplanum und zusätzlich jeweils einen Tumor an beiden Ohrmuscheln. Lediglich eine Katze hatte einen Tumor an der Ohrbasis. Zwei Katzen hatten zusätzliche Krusten an den Ohrmuscheln, die nicht weiter untersucht und behandelt wurden. Eine Katze hatte zusätzliche dysplastische Veränderungen auf dem Nasenrücken und eine weitere Katze hatte ein zusätzliches Plattenepithelkarzinom in situ auf dem Nasenplanum. Bei diesen beiden Katzen waren die zusätzlichen Veränderungen im Bestrahlungsfeld. Zwei Katzen hatten jeweils ein zusätzliches kutanes Plattenepithelkarzinom an beiden Ohrmuscheln, die in separaten Bestrahlungsfeldern behandelt wurden. Eine Katze hatte ein zusätzliches kutanes Plattenepithelkarzinom an einer Ohrmuschel und eine weitere Katze hatte jeweils ein kutanes Plattenepithelkarzinom an beiden Ohrmuscheln, die nicht weiter behandelt wurden. Eine weitere Katze hatte eine aktinische Keratose an einer Ohrmuschel.

Bei 36/38 (94,7 %) Katzen konnte die Tumorgroße einer der beiden Kategorien zugeordnet werden. Die jeweilige Anzahl der Katzen wird in der Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Anzahl der Katzen mit einer Tumorgröße $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) und einer Tumorgröße $> 1,5$ cm im Durchmesser (T2)

Kategorie der Tumorgröße	Anzahl der Katzen (%)
T1	24 (66,7)
T2	12 (33,3)

Eine FNA der mandibulären Lymphknoten wurde bei 12/38 (31,6 %) Katzen durchgeführt. Bei einer dieser Katzen wurde der vergrößerte mandibuläre Lymphknoten in einem separaten Bestrahlungsfeld bestrahlt. Röntgenaufnahmen vom Thorax wurden bei 33/38 (86,8 %) Katzen und ein abdominaler Ultraschall wurde bei 5/38 (13,2 %) Katzen durchgeführt. Es wurden dabei keine eindeutigen regionalen Metastasen oder Fernmetastasen diagnostiziert. Allerdings wiesen drei Katzen hypoechogene Bereiche in der Milz auf. Diese wurden nicht weiter untersucht.

9.2.3. Laboruntersuchungen

Die hämatologische Analyse vor der Behandlung wurde im Median 3,5 Tage mit einem Range von 0 bis 28 Tagen vor der Behandlung durchgeführt. Bei 35/38 (92,1 %) Katzen wurde die hämatologische Untersuchung in der Medizinischen Kleintierklinik durchgeführt. Bei 3/38 (7,9 %) Katzen wurde eine hämatologische Untersuchung bei der überweisenden Tierärztin oder dem überweisenden Tierarzt durchgeführt und lag zur Evaluierung vor. Die Medianwerte und der Range sowie die Mittelwerte mit der Standardabweichung sind in der Tabelle 4 angegeben. Die Anzahl der Katzen, die Werte außerhalb der Referenzintervalle aufwiesen, sind in der Tabelle 5 angegeben.

Tabelle 5: Medianwerte mit der Range und Mittelwerte mit der Standardabweichung der untersuchten hämatologischen Parameter und der NLR und der LMR; Anzahl der Katzen mit Werten oberhalb (↑) des Referenzintervalls und unterhalb (↓) des Referenzintervalls

Parameter (Einheit)	Median	Range	Mittelwert	Standard-abweichung	↑	↓
Erythrozyten ($\times 10^{12}/l$)	8,88	5,40-11,85	8,71	1,28	5	0
Hämoglobin (mmol/l)	7,90	5,00-12,70	7,91	1,56	2	4
Hämatokrit (l/l)	0,38	0,24-0,46	0,36	0,06	9	4
Thrombozyten ($\times 10^9/l$)	338,50	117,00-626,00	338,13	119,62	5	3
Leukozyten ($\times 10^9/l$)	8,88	3,96-29,50	10,36	5,25	12	4
Neutrophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	5,79	1,87-25,58	7,10	4,75	5	1
Eosinophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	0,37	0,02-1,41	0,47	0,34	9	1
Basophile Granulozyten ($\times 10^9/l$)	0,01	0,00-0,08	0,01	0,02	2	-
Lymphozyten ($\times 10^9/l$)	1,96	0,51-6,68	2,38	1,49	4	4
Monozyten ($\times 10^9/l$)	0,32	0,15-1,14	0,40	0,22	10	0
NLR	3,27	0,49-9,10	3,80	2,43	-	-
LMR	5,57	1,43-18,07	6,59	3,54	-	-
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio						

Eine biochemische Blutanalyse lag für 33/38 (86,8 %) der Katzen zur Evaluierung vor. Bei zwei der Katzen war die Messung der Bilirubinkonzentration nicht möglich. Bei einer Katze wurde nur die Harnstoffkonzentration, die Kreatininkonzentration sowie die Phosphat- und Kaliumkonzentration gemessen. Bei einer weiteren Katze wurden nur die Elektrolytkonzentrationen gemessen.

Die Parameter und die Anzahl der Katzen, bei denen die Werte außerhalb des Referenzintervalls lagen, sind in der Tabelle 6 aufgelistet.

Tabelle 6: Medianwerte mit der Range und die Mittelwerte mit der Standardabweichung der untersuchten Parameter; jeweilige Anzahl der Tiere, bei denen biochemische Werte oberhalb (↑) und unterhalb (↓) des Referenzintervalls gemessen wurden

Parameter (Einheit)	Median	Range	Mittelwert	Standardabweichung	↑	↓
ALT (U/l)	47,00	24,00-128,00	55,35	23,42	1	-
ALP (U/l)	25,00	13,00-106,00	27,42	16,44	1	-
Bilirubin (µmol/l)	0,60	0,00-2,40	0,69	0,65	0	0
Eiweiß (g/l)	75,10	59,40-94,00	75,38	7,44	0	0
Albumin (g/l)	36,00	21,00-43,30	34,89	4,51	0	1
Harnstoff (mmol/l)	10,40	6,90-83,00	14,30	14,26	10	0
Kreatinin (µmol/l)	121,00	55,00-213,00	128,19	37,09	9	-
Glukose (mmol/l)	6,50	3,30-14,70	6,99	2,63	11	3
Phosphat (mmol/l)	1,42	0,87-2,32	1,46	0,34	0	3
Chlorid (mmol/l)	117,00	109,00-124,70	117,66	3,00	1	0
Natrium (mmol/l)	150,20	138,00-158,50	150,27	3,38	0	2
Kalium (mmol/l)	4,45	3,46-5,72	4,42	0,55	2	1
Kalzium (mmol/l)	2,50	2,10-2,72	2,49	0,15	0	2

Vier der Katzen wiesen gleichzeitig eine erhöhte Harnstoffkonzentration und eine erhöhte Kreatininkonzentration auf. Eine Katze, die erhöhte Werte sowohl in der ALT Aktivität also auch ALP Aktivität aufwies, hatte als Begleiterkrankung eine Hyperthyreose.

10. Follow-up

Bei 36/38 (94,7 %) Patienten konnte ein Ansprechen auf die Behandlung beurteilt werden. Eine komplette Remission wurde bei 34/36 (94,4 %) Katzen erreicht. Eine der 36 Katzen (2,7 %) hatte eine Progression des Tumors. Eine Katze (2,7 %) zeigte ein partielles Ansprechen auf die Therapie.

Elf Katzen (28,95 %) starben aufgrund ihrer Tumorerkrankung und 16 Katzen (42,11 %) starben an von der Tumorerkrankung unabhängigen Ursachen. Eine

Katze starb aufgrund einer unbekannten Ursache elf Tage nach Beginn der Behandlung. Eine Katze verstarb 14 Tage nach Beginn der Behandlung an akutem Nierenversagen. Neun Katzen waren am Ende der Studie noch am Leben. Zwei Katzen konnten ab Tag 37 und Tag 87 nicht weiterverfolgt werden. Die mediane Follow-up-Zeit betrug 456,5 Tage mit einem Range von 11 bis 2368 Tagen für alle eingeschlossenen Katzen.

Eine Katze wies 565 Tage nach dem letzten Behandlungstag ein Rezidiv auf und erhielt in einer anderen Tierklinik eine Kryotherapie. 201 Tage später wurde diese Katze aufgrund des Rezidivs euthanasiert. Bei einer weiteren Katze rezidierte der Tumor nach 176 Tagen. Daraufhin erhielt diese Katze in einer anderen Tierklinik zweimal im Abstand von einem Jahr eine photodynamische Therapie. Diese Katze wurde 648 Tage nach Beginn der ersten Bestrahlung aufgrund einer nicht mit dem kutanen Plattenepithelkarzinom zusammenhängenden Ursache euthanasiert. Bei dieser Katze wurde eine Masse hinter dem Auge festgestellt, deren Ätiologie nicht weiter untersucht wurde.

Eine weitere Katze wurde in einer anderen Tierklinik aufgrund eines Rezidivs am Tag 182 nach der ersten Bestrahlung mit einer photodynamischen Therapie behandelt. Diese Katze erreichte mit dieser Therapie zunächst ein *stable disease* und wurde am Tag 804 nach der ersten Bestrahlung aufgrund einer Progression des kutanen Plattenepithelkarzinoms euthanasiert.

11. Statistische Auswertung

11.1. Ergebnisse des Shapiro-Wilk Test

Das Alter, die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten, die NLR sowie die LMR wurden mit dem Shapiro-Wilk Test auf das Bestehen einer Normalverteilung geprüft. Die Ergebnisse dieser Tests sind in Tabelle 7 dargestellt. Alle Parameter mit Ausnahme des Alters ($p=0,138$) waren nicht normalverteilt.

Tabelle 7: Ergebnisse der Prüfung auf Normalverteilung der angegebenen Parameter unter Verwendung des Shapiro-Wilk Tests

Parameter	<i>p</i>
Alter	0,138
NLR	0,017
LMR	0,015
Neutrophile Granulozyten	<0,001
Lymphozyten	<0,001
Monozyten	<0,001
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %	

11.2. Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman

Untersucht wurden das Alter, die Tumorgroße, die NLR, die LMR und die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten. Alle metrischen Parameter, die auf einen möglichen Zusammenhang getestet werden sollten, mit Ausnahme des Alters, waren nicht normalverteilt. Daher wurden alle diese Parameter mittels Rangkorrelation nach Spearman auf einen möglichen Zusammenhang geprüft. Dabei wurden die Parameter mit einer bestehenden Multikollinearität nicht bewertet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Ergebnisse der Rangkorrelation nach Spearman. Dargestellt sind die Ergebnisse der zweiseitigen Korrelation

Parameter	ρ	p
NLR versus Alter	0,369	0,027*
NLR versus Tumorgröße (T2)	0,476	0,003*
NLR versus Monozyten	0,034	0,838
LMR versus Alter	-0,364	0,029*
LMR versus Tumorgröße (T2)	-0,102	0,553
LMR versus neutrophile Granulozyten	-0,323	0,048*
Neutrophile Granulozyten versus Alter	0,014	0,935
Neutrophile Granulozyten versus Tumorgröße (T2)	0,403	0,015*
Neutrophile Granulozyten versus Lymphozyten	0,065	0,699
Neutrophile Granulozyten versus Monozyten	0,418	0,009*
Lymphozyten versus Alter	-0,371	0,026*
Lymphozyten versus Tumorgröße (T2)	-0,057	0,742
Lymphozyten versus Monozyten	0,351	0,031*
Monozyten versus Alter	-0,120	0,485
Monozyten versus Tumorgröße (T2)	-0,065	0,705
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; T1, $\leq 1,5$ cm im Durchmesser; T2, $> 1,5$ cm im Durchmesser; ρ , Korrelationskoeffizient, p , Signifikanzniveau von 5 %; *, signifikante Werte auf dem Signifikanzniveau von 5 %		

Die NLR korrelierte positiv mit dem Alter und der Tumorgröße. Die LMR korrelierte negativ mit dem Alter sowie mit der Anzahl der neutrophilen Granulozyten. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten korrelierte ebenfalls positiv mit der Tumorgröße und mit der Anzahl der Monozyten. Die Anzahl der Lymphozyten korrelierte negativ mit dem Alter aber positiv mit der Anzahl der Monozyten.

Unter Anwendung der Kriterien für die Effektstärke nach Cohen 1988 hatten alle signifikanten Parameter eine mindestens mittlere Effektstärke. Die Korrelation von der NLR mit der Tumorgröße war dabei am stärksten ausgeprägt, gefolgt von der Korrelation der Anzahl der neutrophilen Granulozyten mit der Anzahl der Monozyten und der Korrelation der Anzahl der neutrophilen Granulozyten mit der

Tumorgröße. Die jeweiligen Korrelationen der NLR und der LMR mit dem Alter zeigten eine mittlere Effektstärke. Ebenfalls von mittlerer Effektstärke war die Korrelation der LMR mit der Anzahl der neutrophilen Granulozyten. Die Korrelation der Lymphozyten mit dem Alter und mit der Anzahl der Monozyten war ebenfalls von mittlerer Effektstärke (COHEN, 1988).

11.3. Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests

Der Mann-Whitney-U-Test wurde verwendet, um festzustellen, ob bezüglich der NLR, LMR sowie der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten bei Katzen mit einem Primärtumor im Vergleich zu Katzen mit einem Rezidiv ein signifikanter Unterschied bestand. Die Ergebnisse dieses Tests sind in der Tabelle 9 aufgeführt. Ein signifikanter Unterschied bestand bei der Anzahl der Lymphozyten ($U=36,500$, $Z=-2,382$, $p=0,017$). Bei den anderen untersuchten Parametern konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Tabelle 9: Untersuchung des Unterschieds der NLR, LMR, der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten zwischen Katzen mit einem Primärtumor und Katzen mit einem Rezidiv unter Verwendung des Mann-Whitney-U-Tests

	NLR	LMR	Neutrophile Granulozyten	Lymphozyten	Monozyten
Mann-Whitney-U-Test	78,000	68,000	73,000	36,500	70,500
Z	-0,721	-1,121	-0,921	-2,382	-1,022
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	0,471	0,262	0,357	0,017*	0,307
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; *, signifikante Werte auf dem Signifikanzniveau von 5 %					

Die mediane Anzahl der Lymphozyten bei Katzen, die aufgrund eines Primärtumors bestrahlt wurden, betrug 2,19 (95 % KI: 0,51-6,68). Bei Katzen, die aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden, betrug die mediane Anzahl der Lymphozyten 1,52 (95 % KI: 0,74-1,77).

Berechnung des Korrelationskoeffizienten für den signifikanten Parameter (Lymphozyten):

$$\text{Korrelationskoeffizient} = \frac{-2,382}{\sqrt{38}} = -0,386$$

Demnach besteht für den signifikanten Unterschied in der Anzahl der Lymphozyten zwischen Katzen mit einem Primärtumor im Vergleich zu Katzen mit einem Rezidiv eine mittlere Effektstärke (COHEN, 1988).

11.4. Ergebnisse der Kaplan-Meier Überlebenszeitanalyse

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalyse dargestellt, mit der die Gesamtüberlebenszeit, die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit berechnet wurde. Die Ergebnisse des Log-Rank Tests für die Berechnung eines Unterschieds dieser Endpunkte zwischen Katzen mit einem Primärtumor im Vergleich zu Katzen mit einem Rezidiv, zwischen Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T1 im Vergleich zu T2 und zwischen männlichen und weiblichen Katzen werden hier ebenfalls berichtet.

11.4.1. Gesamtüberlebenszeit

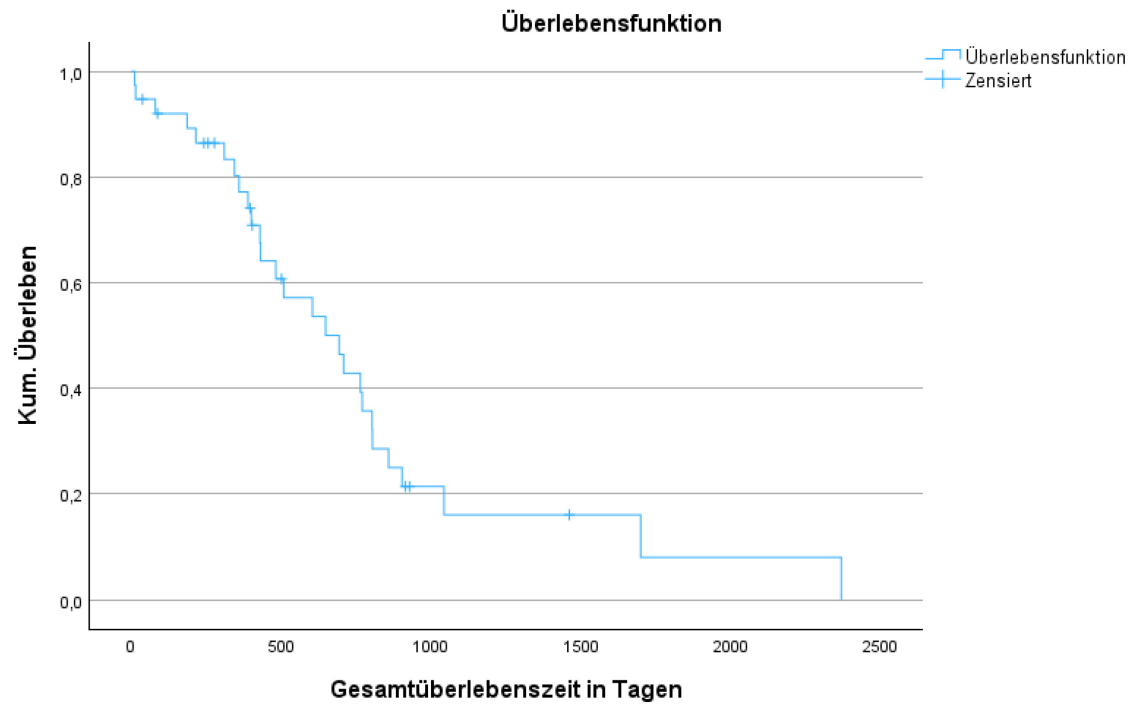
Alle in diese Studie eingeschlossenen Katzen wurden in die Berechnung der Gesamtüberlebenszeit einbezogen. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10: Gesamtüberlebenszeit in Tagen von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen

Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
787	693	11	2368

Die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 1 dargestellt.

Abbildung 1: Kaplan-Meier-Kurve für die Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen



Ein Jahr nach der Behandlung waren 25/38 (65,8 %) Katzen noch am Leben. 12/38 (31,6 %) Katzen lebten noch zwei Jahre nach der Behandlung.

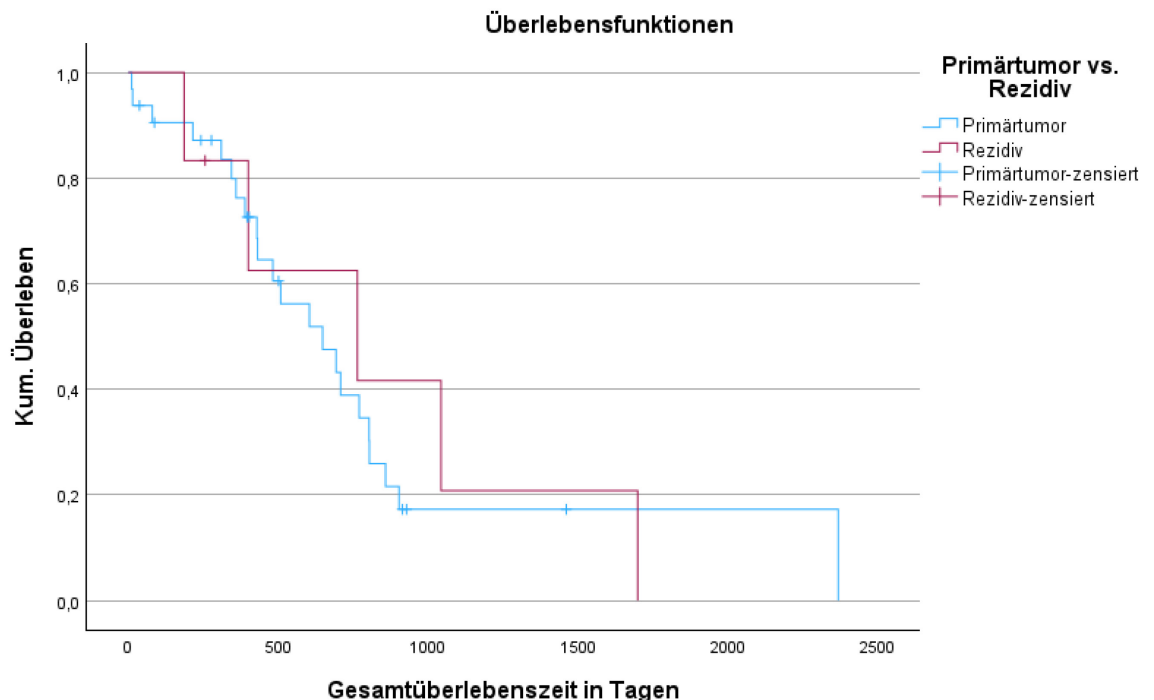
Alle 38 Katzen wurden bei der Berechnung berücksichtigt, ob ein signifikanter Unterschied zwischen Katzen, die aufgrund eines Primärtumors oder eines Rezidivs bestrahlt wurden, besteht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden

Primärtumor versus Rezidiv	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Primärtumor	32	841	648	11	2368
Rezidiv	6	845	764	186	1699
Gesamt	38	787	693	11	2368

Die Kaplan-Meier-Kurve ist in Abbildung 2 dargestellt.

Abbildung 2: Kaplan-Meier-Kurve für die Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=32) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden



Das Ergebnis des Log-Rank-Tests zeigte, dass sich die Überlebenszeit der Katzen, die aufgrund eines Primärtumors (n=32) im Vergleich zu Katzen, die aufgrund

eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden nicht signifikant voneinander unterschied (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=32) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,051	1	0,821
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

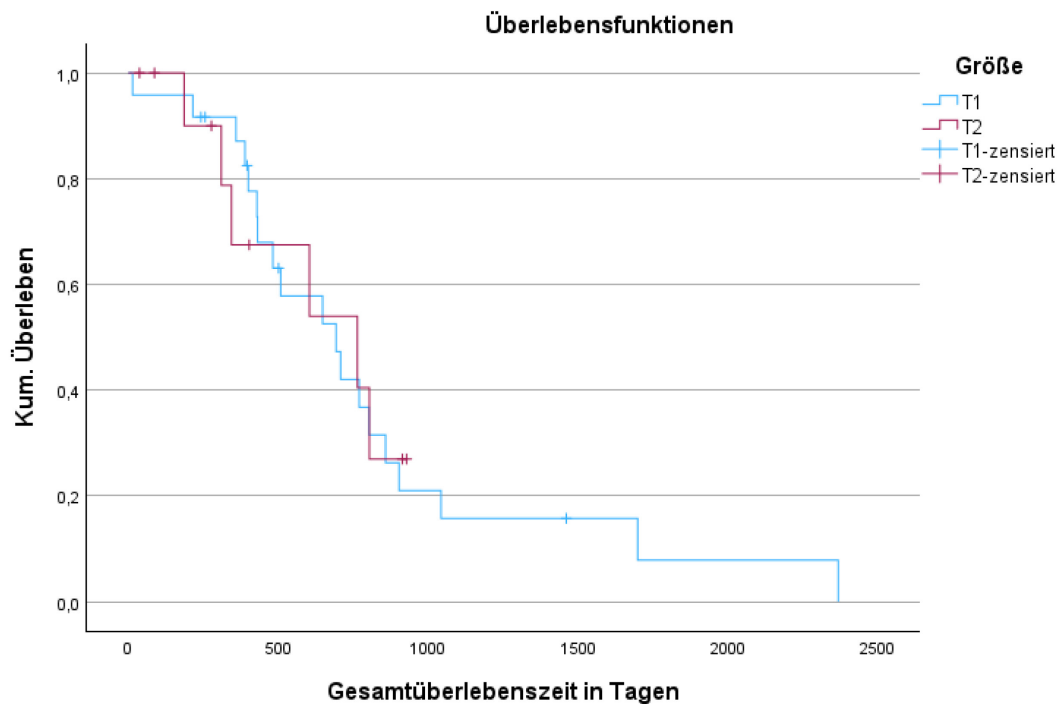
Die Tumorgrößenkategorie konnte bei zwei Katzen nicht bestimmt werden. Daher wurden 36 Katzen in die Berechnung, ob zwischen Katzen mit der Tumorgrößenkategorie T1 und T2 ein signifikanter Unterschied in der Gesamtüberlebenszeit bestand, einbezogen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Gesamtüberlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2)

Tumorgrößenkategorie	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
T1	24	814	693	14	2368
T2	12	636	764	37	928
Gesamt	36	828	693	37	2368

Die Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 3 dargestellt.

Abbildung 3: Kaplan-Meier-Kurve für die Gesamtüberlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) (n=24) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)



Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Gesamtüberlebenszeit zwischen den 24 Katzen mit einem $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) und den 12 Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) mittels Log-Rank-Test nachgewiesen werden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) (n=24) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,008	1	0,929
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

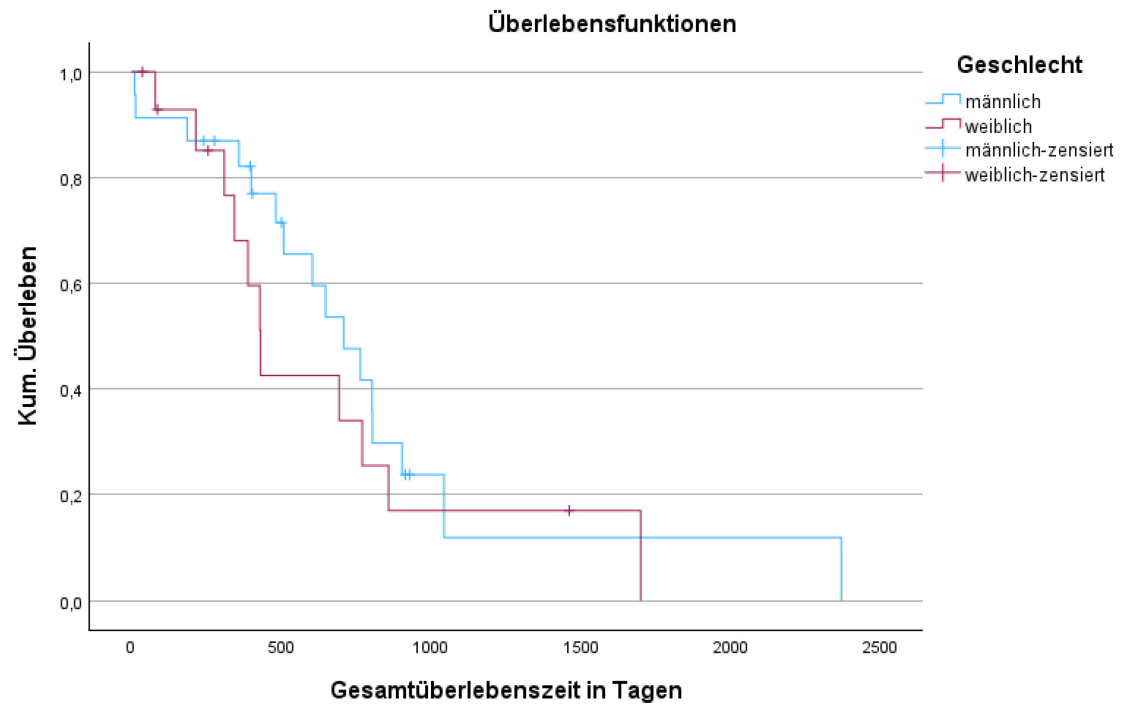
Da bei allen Katzen das Geschlecht bekannt war, konnten alle 38 Katzen in die Berechnung des Unterschiedes der Gesamtüberlebenszeit zwischen männlichen und weiblichen Katzen aufgenommen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Tabelle 15: Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen und weiblichen Katzen

Geschlecht	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
männlich	23	822	708	11	2368
weiblich	15	671	431	37	1699
Gesamt	38	787	693	11	2368

Die dazugehörige Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 4 dargestellt.

Abbildung 4: Kaplan-Meier-Kurve für die Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=23) und weiblichen Katzen (n=15)



Mittels Log-Rank-Test konnte zwischen den 23 männlichen und 15 weiblichen Katzen kein signifikanter Unterschied bezüglich der Gesamtüberlebenszeit festgestellt werden (Tabelle 16).

Tabelle 16: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 38 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=23) und weiblichen Katzen (=15)

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,651	1	0,420
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

11.4.2. Progressionsfreie Überlebenszeit

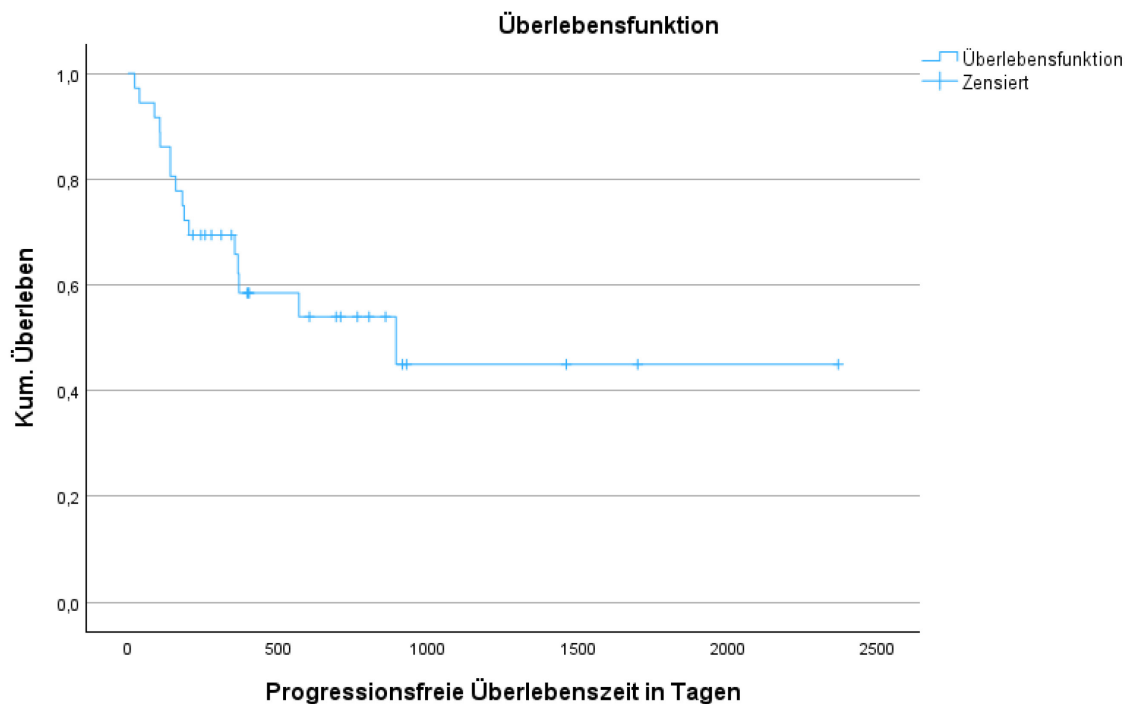
In die Berechnung der progressionsfreien Überlebenszeit wurden 36 Katzen einbezogen.

Tabelle 17: Progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen

Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
1249	893	21	2368

Die Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 5 dargestellt.

Abbildung 5: Kaplan-Meier-Kurve für die progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen



Bei 18/36 (50,0 %) Katzen war nach einem Jahr und bei 9/36 (25,0 %) Katzen nach zwei Jahren keine Progression eingetreten.

In die Berechnung des Unterschieds in der progressionsfreien Überlebenszeit bei

Katzen, die aufgrund eines Primärtumors im Vergleich zu einem Rezidiv bestrahlt wurden, konnten alle 36 Katzen einbezogen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 dargestellt.

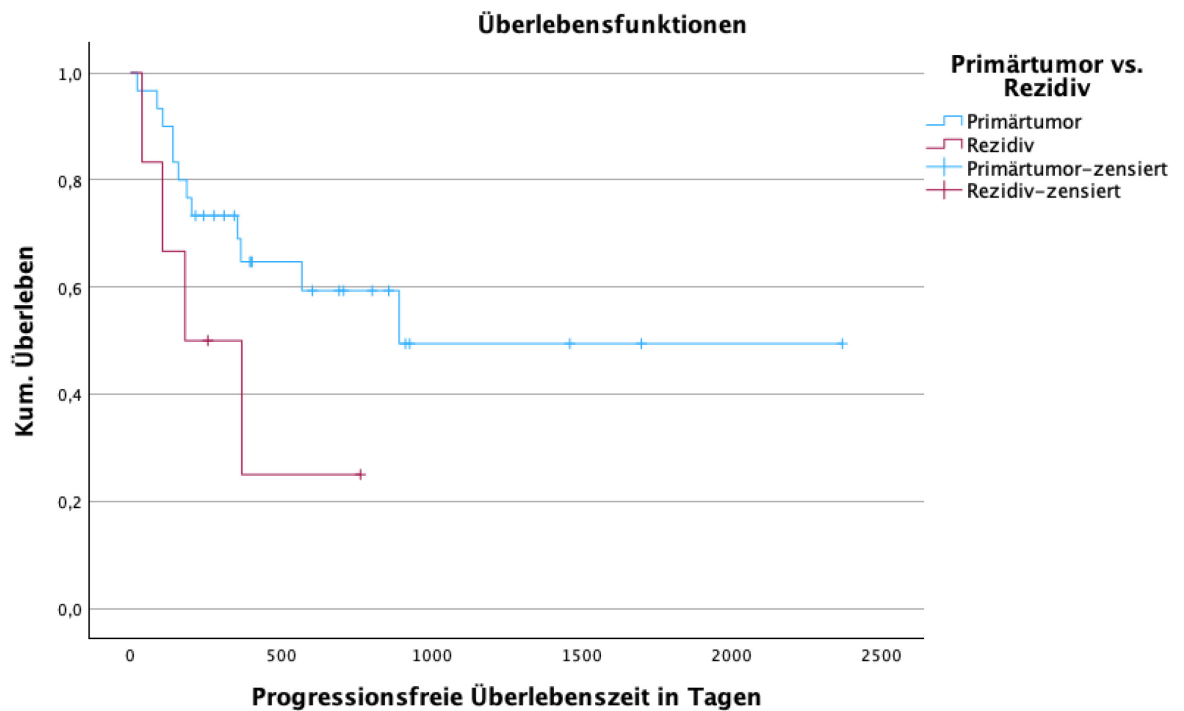
Tabelle 18: Progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=30) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden

Primärtumor versus Rezidiv	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Primärtumor	30	1355	893	21	2368
Rezidiv	6	337	180	37	764
Gesamt	36	1249	893	21	2368

Bei Katzen mit einem Rezidiv wurde die mediane progressionsfreie Überlebenszeit nicht erreicht.

Die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve ist in Abbildung 6 dargestellt.

Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve für die progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=30) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden



Ein signifikanter Unterschied bezüglich der progressionsfreien Überlebenszeit konnte zwischen den 30 Katzen, die aufgrund eines Primärtumors im Vergleich zu den sechs Katzen, die aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden mittels Log-Rank-Test nicht nachgewiesen werden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der progressionsfreien Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	2,544	1	0,111
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

35 Katzen, bei denen eine progressionsfreie Überlebenszeit bestimmt werden konnte, wurden in die Berechnung einbezogen, ob ein signifikanter Unterschied bei diesem Endpunkt zwischen den Katzen mit der Tumorgrößenkategorie T1 im Vergleich zu T2 bestand.

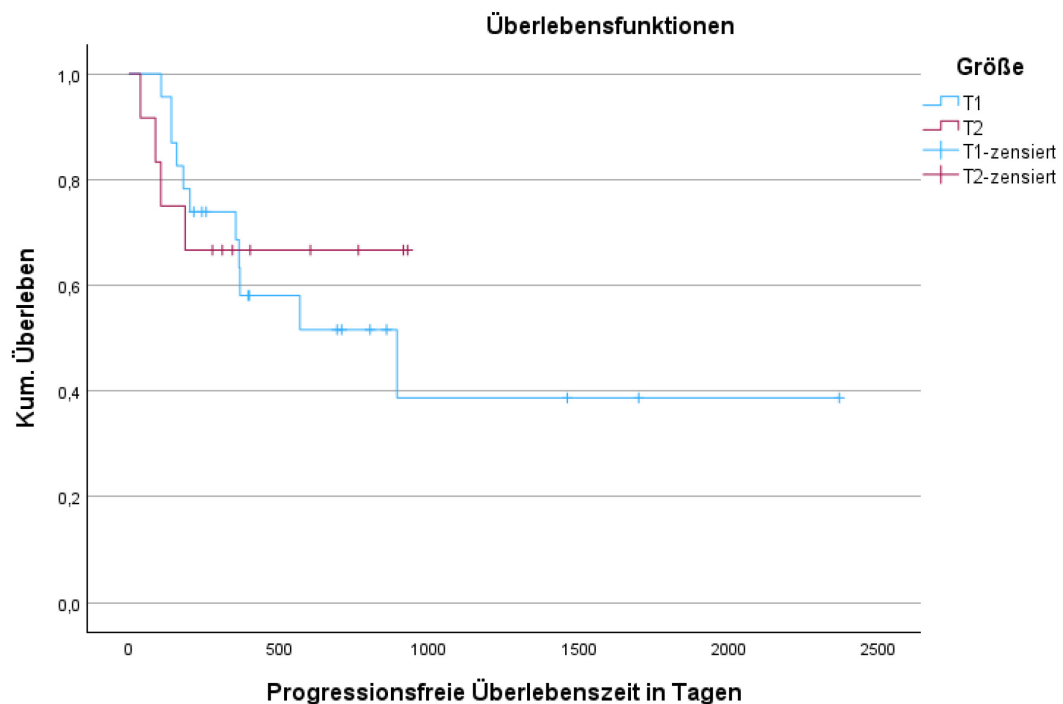
Tabelle 20: Progressionsfreie Überlebenszeit von 35 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) und Katzen mit einem Tumor $> 1,5$ cm im Durchmesser (T2)

Tumorgrößen- kategorie	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
T1	23	1167	893	106	2369
T2	12	653		37	928
Gesamt	35	1284	893	37	2368

Die mediane progressionsfreie Überlebenszeit wurde bei Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T2 nicht erreicht.

Die Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurve für die progressionsfreie Überlebenszeit von 35 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) (n=23) und 12 Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)



Die Berechnung mittels Log-Rank-Test konnte keinen signifikanten Unterschied in der progressionsfreien Überlebenszeit zwischen Katzen mit einem Tumor der Tumorgößenkategorie T1 (n=23) im Vergleich zu den Katzen mit einem Tumor der Tumorgößenkategorie T2 (n=12) nachweisen (Tabelle 21).

Tabelle 21: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der progressionsfreien Überlebenszeit von 35 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1 (n=23) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,107	1	0,744
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

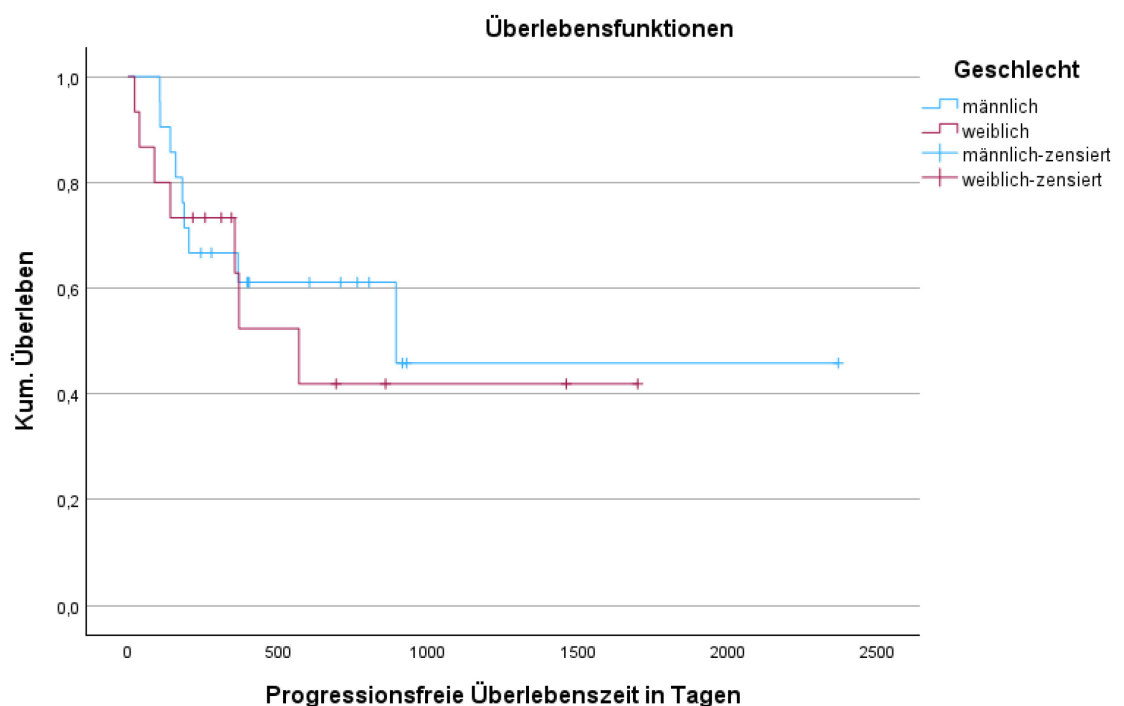
Da bei allen Katzen das Geschlecht bekannt war, konnten 36 Katzen in die Berechnung, ob ein signifikanter Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Katzen in Bezug auf die progressionsfreie Überlebenszeit besteht, eingeschlossen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 22 dargestellt.

Tabelle 22: Progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen und weiblichen Katzen

Geschlecht	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
männlich	21	1293	893	105	2368
weiblich	15	866	569	21	1699
Gesamt	36	1249	893	21	2368

Die entsprechende Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 8 dargestellt.

Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve für die progressionsfreie Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=21) und weiblichen Katzen (n=15)



Ein signifikanter Unterschied bezüglich der medianen progressionsfreien Überlebenszeit zwischen den 21 männlichen Katzen und den 15 weiblichen Katzen konnte mittels Log-Rank-Test nicht festgestellt werden.

Tabelle 23: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der progressionsfreien Überlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=21) und weiblichen (n=15) Katzen

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,222	1	0,637
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

11.4.3. Tumorfrem Überlebenszeit

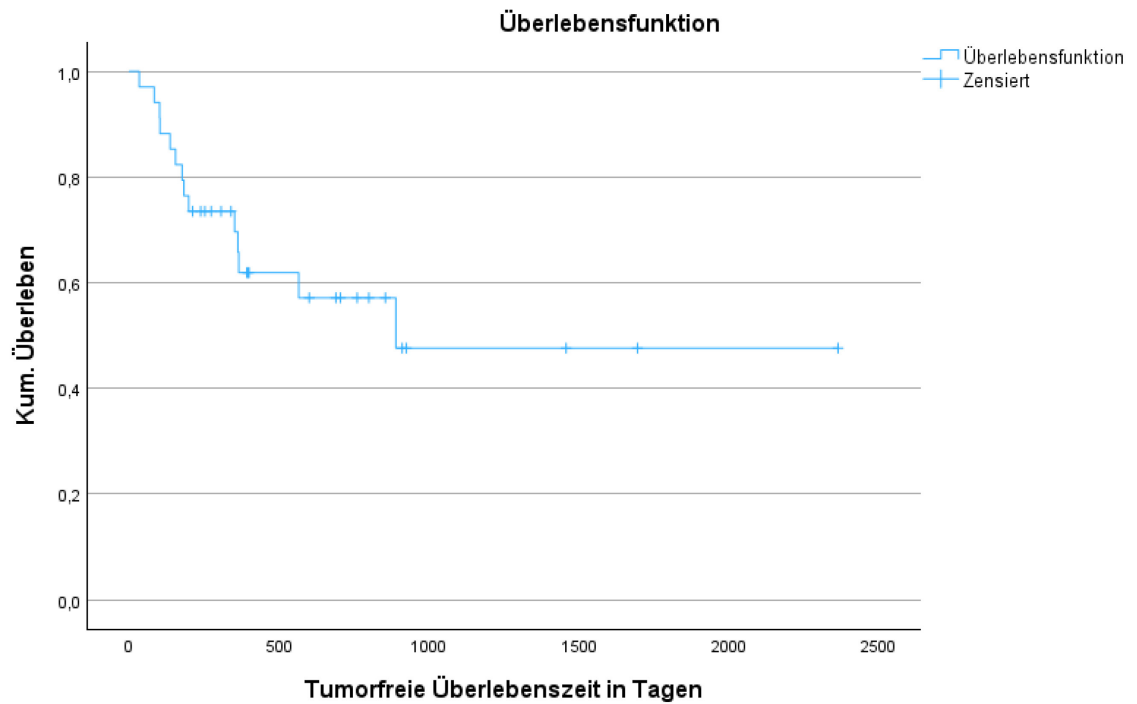
34 Katzen konnten in die Berechnung der medianen tumorfrem Überlebenszeit aufgenommen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 24 dargestellt.

Tabelle 24: Tumorfrem Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen

Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
1314	889	33	2364

Die Kaplan-Meier-Kurve ist in Abbildung 9 dargestellt.

Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve für die tumorfreie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen



16/34 (47,1 %) Katzen waren nach einem Jahr tumorfrei und 9/34 (26,5 %) Katzen waren nach zwei Jahren tumorfrei.

In die Berechnung des Unterschieds der tumorfreien Überlebenszeit zwischen Katzen, die aufgrund eines Primärtumors bzw. aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden, konnten 34 Katzen einbezogen werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 25 dargestellt.

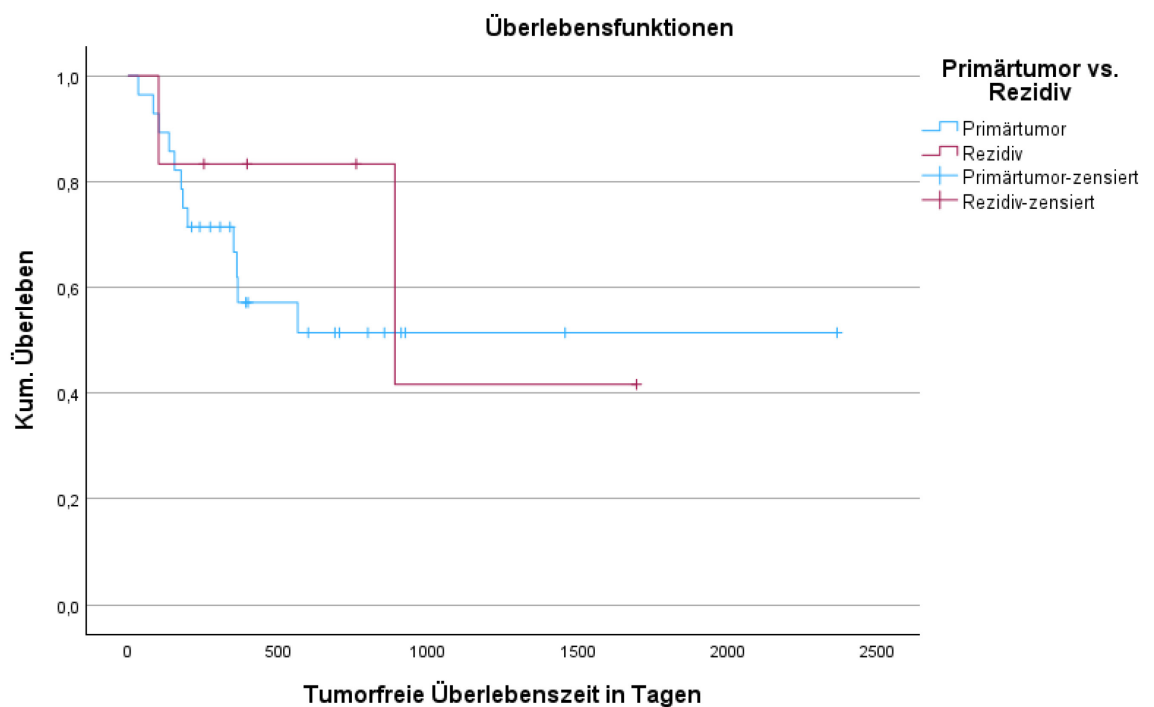
Tabelle 25: Tumorfremie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=28) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden

Primärtumor versus Rezidiv	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Primärtumor	28	1337		33	2364
Rezidiv	6	1094	889	101	1695
Gesamt	34	1314	889	33	1695

Bei Katzen mit einem Primärtumor wurde die mediane tumorfremie Überlebenszeit nicht erreicht.

Die Kaplan-Meier-Kurve ist in Abbildung 10 dargestellt.

Abbildung 10: Kaplan-Meier-Kurve für die tumorfremie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=28) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden



Mittels Log-Rank-Test konnte kein signifikanter Unterschied in der tumorfreien Überlebenszeit zwischen den 28 Katzen, die aufgrund eines Primärtumors bestrahlt wurden und den sechs Katzen, die aufgrund eines Rezidivs bestrahlt wurden, festgestellt werden (Tabelle 26).

Tabelle 26: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 36 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Primärtumor (n=28) und Katzen, die aufgrund eines Rezidivs (n=6) bestrahlt wurden

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,312	1	0,577
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

34 Katzen konnten in die Berechnung eingeschlossen werden, ob zwischen Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T1 und T2 ein Unterschied in der tumorfreien Überlebenszeit besteht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 27 dargestellt.

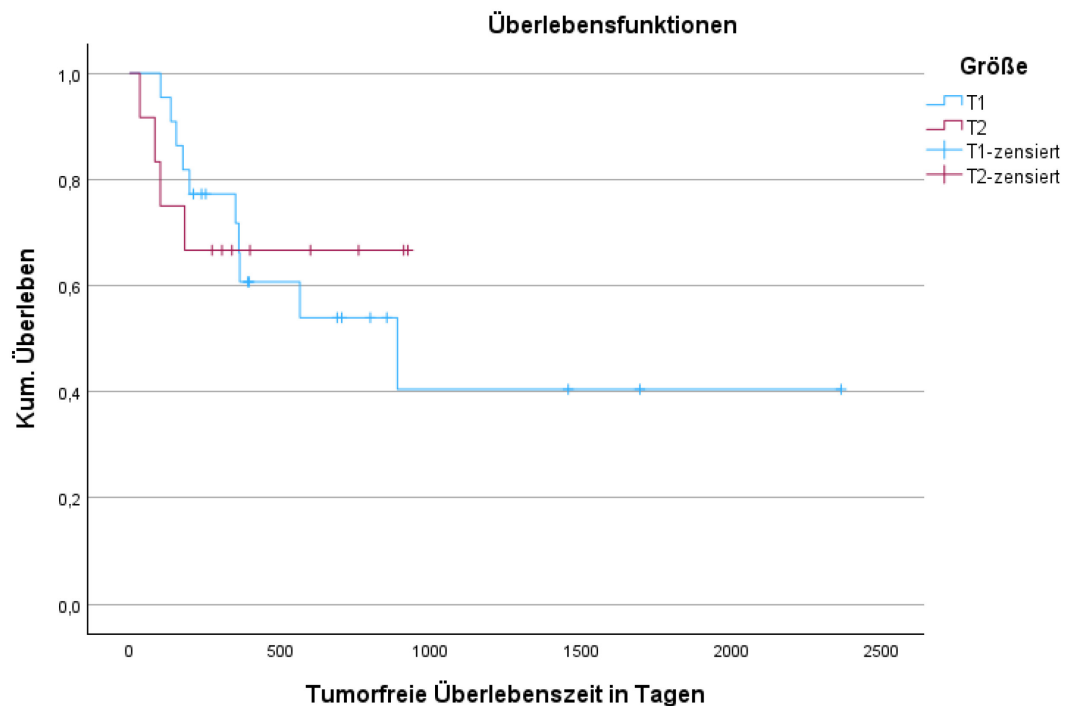
Tabelle 27: Tumorfreie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor ≤1,5 cm im Durchmesser (T1) (n=22) und Katzen mit einem Tumor >1,5 cm im Durchmesser (T2) (n=12)

Tumorgrößenkategorie	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
T1	22	1209	889	102	2364
T2	12	649		33	924
Gesamt	34	1314	889	33	2364

Bei Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T2 wurde die tumorfreie Überlebenszeit nicht erreicht.

Die Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 11 dargestellt.

Abbildung 11: Kaplan-Meier-Kurve für die tumorfreie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) (n=22) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)



Zwischen den Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T1 (n=22) und den Katzen mit einem Tumor der Tumorgrößenkategorie T2 (n=12) konnte mittels Log-Rank-Test kein signifikanter Unterschied in der tumorfreien Überlebenszeit festgestellt werden (Tabelle 28).

Tabelle 28: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen Katzen mit einem Tumor $\leq 1,5$ cm im Durchmesser (T1) (n=22) und Katzen mit einem Tumor $>1,5$ cm im Durchmesser (T2) (n=12)

	Chi-Quadrat	df	p
Log Rank	0,038	1	0,845
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; p, Signifikanzniveau von 5 %			

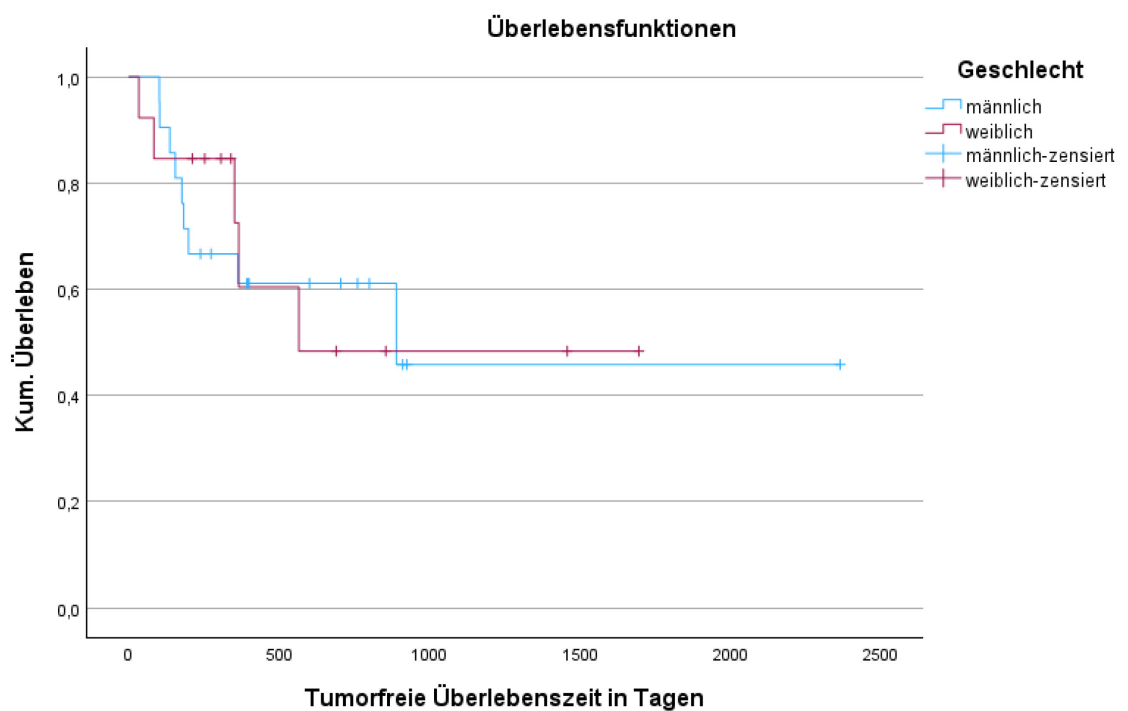
Ob ein Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Katzen in Bezug auf die tumorfreie Überlebenszeit besteht, konnte anhand 34 Katzen berechnet werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 29 dargestellt.

Tabelle 29: Tumorfreie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen und weiblichen Katzen

Geschlecht	Anzahl der Katzen	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
männlich	21	1289,383	889,000	101	2364
weiblich	13	983,330	565,000	33	1695
Gesamt	34	1313,563	889,000	33	2364

Die Kaplan-Meier-Kurve wird in Abbildung 12 dargestellt.

Abbildung 12: Kaplan-Meier-Kurve für die progressionsfreie Überlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=21) und weiblichen Katzen (n=13)



Mittels Log-Rank-Test konnte zwischen den 13 weiblichen Katzen und den 21 männlichen Katzen kein signifikanter Unterschied in der tumorfreien Überlebenszeit festgestellt werden (Tabelle 30).

Tabelle 30: Ergebnisse des Log-Rank-Tests auf die Gleichheit der Gesamtüberlebenszeit von 34 Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen vergleichend zwischen männlichen (n=21) und weiblichen Katzen (n=13)

	Chi-Quadrat	df	<i>p</i>
Log Rank	0,011	1	0,918
Abkürzungen: df, Freiheitsgrad; <i>p</i> , Signifikanzniveau von 5 %			

11.5. Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse

Die Ergebnisse der univariablen Cox-Regressionsanalyse für die Berechnung einer möglichen prognostischen Bedeutung der untersuchten Parameter in Bezug auf die Gesamtüberlebenszeit können der Tabelle 31 entnommen werden. In diese Berechnung wurden alle 38 Studienkatzen mit einbezogen. Lediglich die LMR stellte einen statistisch signifikanten prognostischen Faktor in Bezug auf die Gesamtüberlebenszeit dar. Eine höhere LMR sprach daher für eine geringere Wahrscheinlichkeit zu Versterben und konnte so mit einer längeren Überlebenszeit in Verbindung gebracht werden. Alle weiteren untersuchten Parameter stellten keinen statistisch signifikanten prognostischen Faktor in Bezug auf die Gesamtüberlebenszeit dar.

Tabelle 31: Univariable Cox-Regressionsanalyse für die statistische Berechnung eines möglichen prognostischen Zusammenhangs der NLR, der LMR, der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten, des Vorhandenseins eines Primärtumors oder eines Rezidivs, der Tumorgrößenkategorie T1 ($\leq 1,5$ cm im Durchmesser) und T2 ($> 1,5$ cm im Durchmesser) und des Geschlechts (weiblich versus männlich) mit der Gesamtüberlebenszeit

Gesamtüberlebenszeit			
Parameter	<i>p</i>	Exp(B)	95 % KI
NLR	0,161	1,130	0,953-1,341
LMR	0,047*	0,867	0,753-0,998
Neutrophile Granulozyten	0,510	1,028	0,946-1,117
Lymphozyten	0,897	0,980	0,718-1,337
Monozyten	0,066	4,849	0,900-26,123
Rezidiv	0,821	0,891	0,328-2,422
T2	0,929	0,958	0,374-2,454
Weiblich	0,422	1,379	0.630-3.020
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; T2, > 1.5 cm im Durchmesser; KI, Konfidenzintervall; *, signifikante Werte auf dem Signifikanzniveau von 5 %			

Die Ergebnisse der univariablen Cox-Regressionsanalyse für die Berechnung eines möglichen prognostischen Zusammenhangs der untersuchten Parameter mit der progressionsfreien Überlebenszeit sind in der Tabelle 32 dargestellt. 36 Katzen wurden in die Berechnung aufgenommen. In Bezug auf die progressionsfreie Überlebenszeit stellte die Anzahl der Monozyten einen statistisch signifikanten Parameter dar. Demnach stieg die Wahrscheinlichkeit einer Progression mit dem Anstieg der Anzahl der Monozyten. Eine erhöhte Anzahl an Monozyten konnte daher als ein negativer prognostischer Faktor in Bezug auf eine Tumprogression angesehen werden. Alle weiteren untersuchten Parameter stellten keinen statistisch signifikanten Faktor bezüglich der progressionsfreien Überlebenszeit dar.

Tabelle 32: Univariable Cox-Regressionsanalyse für die statistische Berechnung eines möglichen prognostischen Zusammenhangs der NLR, der LMR, der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten, des Vorhandenseins eines Primärtumors oder eines Rezidivs, der Tumorgrößenkategorie T1 ($\leq 1,5$ cm im Durchmesser) und T2 ($> 1,5$ cm im Durchmesser) und des Geschlechts (weiblich versus männlich) mit der progressionsfreien Überlebenszeit

Progressionsfreie Überlebenszeit			
Parameter	<i>p</i>	Exp(B)	95 % KI
NLR	0,564	1,067	0,856-1,329
LMR	0,623	0,960	0,817-1,129
Neutrophile Granulozyten	0,727	1,017	0,924-1,120
Lymphozyten	0,818	1,039	0,749-1,443
Monozyten	0,027*	12,244	1,326-113,056
Rezidiv	0,124	2,466	0,781-7,786
T2	0,745	0,827	0,263-2,600
Weiblich	0,639	1,267	0,471-3,408
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; T2, > 1.5 cm im Durchmesser; KI, Konfidenzintervall; *, signifikante Werte auf dem Signifikanzniveau von 5 %			

In der Tabelle 33 sind die Ergebnisse der univariablen Cox-Regressionsanalyse für die Berechnung einer möglichen prognostischen Bedeutung der untersuchten Parameter bezüglich der tumorfreien Überlebenszeit dargestellt. In diese Berechnung konnten 34 Katzen eingeschlossen werden. In Bezug auf die tumorfreie Überlebenszeit stellte keiner der untersuchten Parameter einen statistisch signifikanten Faktor dar.

Tabelle 33: Univariable Cox-Regressionsanalyse für die Berechnung eines möglichen prognostischen Zusammenhangs der NLR, der LMR, der Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten und der Monozyten, des Vorhandenseins eines Primärtumors oder eines Rezidivs, der Tumorgrößenkategorie T1 ($\leq 1,5$ cm im Durchmesser) und T2 ($> 1,5$ cm im Durchmesser) und des Geschlechts (weiblich versus männlich) mit der tumorfreien Überlebenszeit

Tumorfreie Überlebenszeit			
Parameter	<i>p</i>	Exp(B)	95 % KI
NLR	0,243	1,144	0,913-1,434
LMR	0,679	0,964	0,812-1,145
Neutrophile Granulozyten	0,538	1,030	0,937-1,133
Lymphozyten	0,765	0,942	0,637-1,393
Monozyten	0,147	6,798	0,510-90,685
Rezidiv	0,580	0,654	0,145-2,941
T2	0,845	0,891	0,279-2,844
Weiblich	0,918	0,944	0,316-2,821
Abkürzungen: NLR, Neutrophilen:Lymphozyten-Ratio; LMR, Lymphozyten:Monozyten-Ratio; T2, > 1.5 cm im Durchmesser; KI, Konfidenzintervall;			

V. DISKUSSION

Die Aufrechterhaltung eines entzündlichen Tumormikromilieus ist für die Tumorprogression, -invasion und -metastasierung von entscheidender Bedeutung. Daher wird der Zusammenhang zwischen einer Entzündung und der Onkogenese bereits lange diskutiert und erforscht (HANAHAAN & WEINBERG, 2000; BALKWILL & MANTOVANI, 2001; GRIVENNIKOV et al., 2010; HANAHAAN & WEINBERG, 2011; MANTOVANI et al., 2019).

Die Produktion entzündungsfördernder Zytokine wird von den Tumorzellen hochreguliert, um entzündliche Leukozyten zu rekrutieren und zu aktivieren. Diese Leukozyten sowie aktivierte Stromazellen produzieren dann ebenfalls entzündungs- und tumorwachstumsfördernde Chemokine, Zytokine und Wachstumsfaktoren und potenzieren somit die tumorwachstumsfördernde Entzündungsreaktion (MANTOVANI et al., 2008; MANTOVANI et al., 2017; GRETEN & GRIVENNIKOV, 2019).

Auch im Blut der Tumorpatienten spiegelt sich diese entzündungsfördernde Wechselwirkung wider. Dabei wird angenommen, dass die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten die Intensität der tumorinduzierten und tumorwachstumsfördernden Entzündung darstellt und somit einen Eindruck auf das Ausmaß der Tumorerkrankung geben könnte (ITOH et al., 2009; TEMPLETON et al., 2014; SKOR et al., 2017; PETRUCCI et al., 2021). Die Anzahl zirkulierender Leukozyten sowie deren Verhältnis zueinander wurden daher in verschiedenen Studien in der Humanmedizin und in der Tiermedizin bei einer Vielzahl onkologischer Erkrankungen auf ihre prognostische Aussagekraft für das Outcome der Tumorerkrankungen untersucht (SOTTNIK et al., 2010; TEMPLETON et al., 2014; MARCONATO et al., 2015; MUTZ et al., 2015; NISHIJIMA et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; MACFARLANE et al., 2016b; REJEC et al., 2017; SKOR et al., 2017; DAVIES et al., 2018; FERNÁNDEZ & CHON, 2018; HOWARD et al., 2019b; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; HENRIQUES et al., 2021; NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021; TAGAWA et al., 2021; TSOULOUI et al., 2021; VELUVOLU et al., 2021). Das prognostische Potenzial, zumindest der NLR, ist jedoch nicht für alle Tumorarten gleich und kann von verschiedenen demografischen Faktoren abhängen (TEMPLETON et al., 2014;

HOWARD et al., 2019b).

Daher war das Ziel dieser Studie die prognostische Bedeutung der Anzahl von zirkulierenden Leukozyten und deren Verhältnis zueinander bei Katzen zu untersuchen, die aufgrund eines kutanen Plattenepithelkarzinoms mittels externer Strahlentherapie behandelt wurden. Genauer untersucht wurden diesbezüglich die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten sowie deren Verhältnis zueinander (NLR und LMR).

Sowohl neutrophile Granulozyten als auch Monozyten können entweder tumorfördernde oder tumorhemmende Eigenschaften aufweisen, die von Tumor- und Stromazellen im Tumormikromilieu reguliert werden (COFFELT et al., 2016; OLINGY et al., 2019).

Der Beitrag der neutrophilen Granulozyten zur Tumorprogression und Metastasierung erfolgt nach der Polarisierung in TANs, die entweder eine tumorhemmende (N1) oder tumorfördernde (N2) Funktion annehmen (FRIDLENDER et al., 2009; ANDZINSKI et al., 2016; SHAUL et al., 2016). In frühen Krankheitsstadien sind diese TANs weniger tumorfördernd als in fortgeschrittenen Stadien (MISHALIAN et al., 2013). Neutrophile Granulozyten haben immunsuppressive Eigenschaften, eine proliferative Wirkung auf Tumorzellen und sind an der Metastasierung von Tumorzellen beteiligt, indem sie die Neoangiogenese, die Intravasation, die Extravasation und die Bildung der prämetastatischen Nische fördern (NOZAWA et al., 2006; FRIDLENDER et al., 2009; HOUGHTON et al., 2010; KOWANETZ et al., 2010; BALD et al., 2014; MISHALIAN et al., 2014; ANTONIO et al., 2015; COFFELT et al., 2016; SHAUL et al., 2016; SPIEGEL et al., 2016; WANG et al., 2017a; HEDRICK & MALANCHI, 2022).

Aufgrund des beschriebenen Zusammenhangs zwischen den zirkulierenden neutrophilen Granulozyten und den TANs (SHAUL & FRIDLENDER, 2018) und da die Anzahl der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten bei Hunden mit verschiedenen onkologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Hunden (ITOH et al., 2009; PERRY et al., 2011; REJEC et al., 2017) sowie bei Hunden mit fortgeschrittenen Tumorstadien erhöht ist, könnte eine erhöhte Anzahl der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten auf ein aggressiveres Tumorwachstum hinweisen (CHITI et al., 2021).

In der vorliegenden Studie stellte die Anzahl der neutrophilen Granulozyten keinen statistisch signifikanten Parameter und damit keinen prognostischen Faktor bezüglich der tumorfreien Überlebenszeit, der progressionsfreien Überlebenszeit und der Gesamtüberlebenszeit dar.

Im Vergleich zu diesen Ergebnissen zeigten andere Studien, dass bei Katzen mit einem operativ entfernten Mammakarzinom sowie einem FISS eine erhöhte Anzahl an neutrophilen Granulozyten mit einem erhöhten Rezidivrisiko und einem erhöhten Risiko aufgrund der Tumorerkrankung zu versterben behaftet ist (CHITI et al., 2020; PETRUCCI et al., 2021). Zudem stellte eine erhöhte Anzahl der neutrophilen Granulozyten, zumindest in der univariablen Cox-Regressionsanalyse, einen möglichen prognostischen Faktor in Bezug auf eine kürzere Gesamtüberlebenszeit bei Katzen mit operiertem FISS dar, der in der multivariablen Cox-Regressionsanalyse allerdings an Signifikanz verlor (CHITI et al., 2020).

Auch bei Hunden ist die Anzahl der neutrophilen Granulozyten von prognostischer Bedeutung (PERRY et al., 2011; MACFARLANE et al., 2016a; REJEC et al., 2017; SKOR et al., 2017; CHITI et al., 2021; VELUVOLU et al., 2021). Skor *et al.* beschreibt, dass eine bestehende Neutrophilie mit einer kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit und tumorspezifischen Überlebenszeit bei Hunden mit kutanen Mastzelltumoren assoziiert ist (SKOR et al., 2017). Auch bei Hunden mit operativ entfernten kutanen Gefäßwandtumoren steigt das Rezidivrisiko und die Aggressivität des Tumorverhaltens mit einer erhöhten Anzahl neutrophiler Granulozyten (CHITI et al., 2021). Darüber hinaus stellt eine erhöhte Anzahl an neutrophilen Granulozyten einen aussagekräftigen Faktor zur Unterscheidung dar, dass es sich mit erhöhter Wahrscheinlichkeit um einen malignen Weichteiltumor als um einen benignen Weichteiltumor handelt (MACFARLANE et al., 2016a). Eine geringere Ansprechrate auf die Chemotherapie und eine kürzere progressionsfreie Überlebenszeit konnte bei Hunden mit einem multizentrischem Lymphom mit einer Neutrophilie in Zusammenhang gebracht werden (VELUVOLU et al., 2021). Allerdings konnte dies in einer weiteren Studie mit am diffusen großzelligen B-Zell Lymphom erkrankten Hunden nicht bestätigt werden (HENRIQUES et al., 2021).

Diese unterschiedlichen Ergebnisse könnten auf eine tumorspezifische Variabilität in der Signifikanz prognostischer Marker zurückzuführen sein, wie in der

Humanmedizin für die NLR vorgeschlagen wurde (TEMPLETON et al., 2014; HOWARD et al., 2019b). Alternativ könnte diese Diskrepanz auch auf eine möglicherweise bestehende und bekannte bzw. unentdeckte Begleiterkrankung mit Auswirkung auf die Anzahl der Leukozyten zurückzuführen sein, wie von Davies *et al.* für die NLR und die LMR vorgeschlagen wurde (DAVIES et al., 2018). In der Studie von Petrucci *et al.* wurden Katzen mit Hinweisen auf eine Begleiterkrankung ausgeschlossen. Dadurch wurde eine mögliche Beeinflussung mit der Anzahl der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten durch diese Begleiterkrankungen im Vergleich zu der hier vorliegenden Studie minimiert (PETRUCCI et al., 2021).

Des Weiteren ist das Tumormikromilieu des kutanen Plattenepithelkarzinoms aufgrund seines destruktiven Verhaltens (GROSS et al., 2005) möglicherweise weniger systemisch aktiv als solide Tumore mit hohem Tumolvolumen wie das FISS. Dem gegenübergestellt konnte beim Menschen eine erhöhte Anzahl zirkulierender sowie intratumoraler neutrophiler Granulozyten mit dem Vorhandensein eines kutanen Plattenepithelkarzinoms von fortgeschrittenem Stadium in Verbindung gebracht werden (SEDDON et al., 2016). Ein solcher Vergleich zirkulierender neutrophiler Granulozyten und tumorinfiltrierender neutrophiler Granulozyten bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen könnte Aufschluss geben, ob die zirkulierenden neutrophilen Granulozyten das tatsächliche immunologische Geschehen im Tumormikromilieu des kutanen Plattenepithelkarzinoms zu genüge widerspiegeln.

Darüber hinaus korrelierte in der vorliegenden Studie eine erhöhte Anzahl neutrophiler Granulozyten mit einer Tumorgrößenkategorie von $>1,5$ cm, was darauf hindeutet, dass bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen ein größerer Tumor eine stärker ausgeprägte systemische Entzündung bewirken könnte. Daher könnte eine erhöhte Anzahl der neutrophilen Granulozyten in dieser Studienpopulation mit einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium in Verbindung gebracht werden. Eine größere Studienpopulation und eine längere Nachbeobachtungszeit mit weniger zensierten Patienten könnte zukünftig aufzeigen, ob die Anzahl der neutrophilen Granulozyten in Bezug auf die tumorfreie Überlebenszeit, die progressionsfreie Überlebenszeit und die Gesamtüberlebenszeit dennoch von Bedeutung ist.

Monozyten können vor oder nach ihrer Differenzierung in TAMs zum

Tumorstadium beitragen (RUFFELL et al., 2012; NOY & POLLARD, 2014; OLINGY et al., 2019). Zirkulierende und tumorinfiltrierende Monozyten sowie von Monozyten abstammende Zellen modulieren die Rekrutierung und Funktion von Lymphozyten im Tumormikromilieu und führen daher dazu, dass Tumorzellen der Erkennung und Eliminierung durch tumorhemmende Immunzellen entgehen (CHITTEZHATH et al., 2014; JAKUBZICK et al., 2017; OLINGY et al., 2019). Ähnlich wie die TANs tragen TAMs zur Immunsuppression, Tumorzellinvasion, Angiogenese, Intravasation sowie Extravasation und damit zur Tumorstadienprogression und Metastasierung bei (NOZAWA et al., 2006; WYCKOFF et al., 2007; MANTOVANI et al., 2008; QIAN et al., 2009; RUFFELL et al., 2012; NOY & POLLARD, 2014; MANTOVANI et al., 2017; OLINGY et al., 2019; PAN et al., 2020).

In der vorliegenden Studie konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zirkulierender Monozyten mit der progressionsfreien Überlebenszeit nachgewiesen werden, wobei eine höhere Anzahl der Monozyten mit einem höheren Progressionsrisiko einherging und daher für eine kürzere progressionsfreie Überlebenszeit sprechen könnte. Die Anzahl der zirkulierenden Monozyten zeigte gleichzeitig eine Tendenz für eine prognostische Aussagekraft bezüglich des Risikos zu Versterben, allerdings wurde hier das Signifikanzniveau nicht erreicht ($p=0,066$).

Die Anzahl der zirkulierenden Monozyten bei Katzen wurde bisher nur in der Studie von Petrucci *et al.* untersucht. Im Gegensatz zu den Ergebnissen in der hier vorliegenden Studie, konnte bei Katzen mit Mammakarzinomen kein prognostischer Zusammenhang mit der tumorfreien Überlebenszeit und auch nicht mit der tumorspezifischen Überlebenszeit festgestellt werden (PETRUCCI et al., 2021). Wie bereits in Bezug auf die neutrophilen Granulozyten erwähnt, könnten hier bekannte sowie subklinische Begleiterkrankungen ebenfalls verantwortlich für die unterschiedlichen Studienergebnisse sein. Eine intertumorale Variabilität ist hier ebenfalls nicht auszuschließen (TEMPLETON et al., 2014; HOWARD et al., 2019b).

Auch bei Hunden erzielten verschiedene Studien unterschiedliche Ergebnisse. Eine erhöhte Anzahl zirkulierender Monozyten ist bei Hunden mit verschiedenen onkologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Hunden beschrieben (ITO et al., 2009; PERRY et al., 2011). Der prognostische Wert einer erhöhten

Anzahl an Monozyten in Bezug auf die tumorfreie Überlebenszeit, progressionsfreie Überlebenszeit und tumorspezifische Überlebenszeit bei Hunden wird ebenfalls berichtet (SOTTNIK et al., 2010; PERRY et al., 2011; MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017). So wird die Anzahl der Monozyten bei Hunden mit B-Zell-Lymphomen und Mastzelltumoren als prognostisch für die Zeit bis zur Progression beschrieben (MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017). Zudem ist eine höhere Anzahl an Monozyten mit einer kürzeren tumorspezifischen Überlebenszeit bei Hunden mit Mastzelltumoren (SKOR et al., 2017) und einer kürzeren tumorfreien Überlebenszeit bei Hunden mit Osteosarkomen (SOTTNIK et al., 2010) und Non-Hodgkin-Lymphomen (PERRY et al., 2011) beschrieben. Mutz *et al.* beschreiben jedoch, dass die Anzahl der zirkulierenden Monozyten bei Hunden mit multizentrischem Lymphom keinen prognostischen Faktor für die tumorfreie Überlebenszeit darstellt (MUTZ et al., 2015). Auch in der Humanmedizin wurde die prognostische Bedeutung der Anzahl an Monozyten bei verschiedenen Tumorerkrankungen beschrieben (TADMOR et al., 2014; FENG et al., 2018). Eine größere Studienpopulation, mit einer geringeren Anzahl zensierter Studienpatienten und unter Ausschluss jeglicher Begleiterkrankungen, könnte weitere Informationen liefern, ob die Anzahl der Monozyten dennoch einen signifikanten prognostischen Faktor in Bezug auf die Gesamtüberlebenszeit und gegebenenfalls auch für die tumorfreie Überlebenszeit darstellt.

Die Hochregulierung zirkulierender Monozyten und neutrophilen Granulozyten durch das Tumormikromilieu (COFFELT et al., 2016; KISS et al., 2020) könnte die positive Korrelation der neutrophilen Granulozyten und der Monozyten in der vorliegenden Studie erklären. Da z. B. bei Menschen mit Prostatatumoren festgestellt wurde, dass die Anzahl zirkulierender Monozyten mit der intratumoralen Konzentration der Monozyten korreliert (HAYASHI et al., 2017), könnte davon ausgegangen werden, dass die Tumorgroße mit der Anzahl der zirkulierenden Monozyten korrelieren könnte, wie es in der vorliegenden Studie bei den neutrophilen Granulozyten festgestellt wurde. Allerdings konnte in der vorliegenden Studie kein Zusammenhang zwischen der Tumorgroße und der Anzahl der zirkulierenden Monozyten festgestellt werden. Dies könnte auf die hohe Proliferationskapazität von TAMs und dem geringeren Bedarf an aus Blut gewonnenen Monozyten zurückzuführen sein (FRANKLIN et al., 2014).

Zusätzlich wurde in der vorliegenden Studie keine genaue Tumorgröße bestimmt, sondern der Tumor lediglich in zwei Tumorgrößenkategorien eingeteilt. Weitere Studien, in denen die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten mit dem genauen Tumolvolumen und der Anzahl an intratumoralen Leukozyten verglichen wird, können diesbezüglich zusätzliche Informationen liefern.

Auch die Lymphozyten sind an der Kanzerogenese beteiligt. Ob die Lymphozyten einen tumorhemmenden oder tumorfördernden Beitrag in der Onkogenese leisten, ist abhängig vom Phänotyp der Effektor-Subpopulation (GRIVENNIKOV et al., 2010; NELSON et al., 2021). Da zirkulierende Lymphozyten als Repräsentanten der antitumoralen Immunität des Wirts angesehen werden (ITOH et al., 2009), wurde die Anzahl der Lymphozyten vor der Tumorbehandlung in mehreren Studien in der Human- und Tiermedizin als prognostischer Faktor untersucht (RAYCOQUARD et al., 2009; MUTZ et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021). Es wurde beschrieben, dass die Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten bei Hunden mit onkologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Hunden niedriger ist (WATABE et al., 2011; REJEC et al., 2017) und dass die absolute sowie relative Anzahl mit dem Fortschreiten der Tumorerkrankung weiter abnimmt (ITOH et al., 2009; WATABE et al., 2011). Eine weitere Studie berichtet allerdings keine signifikante Veränderung der Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten bei tumorkranken Hunden im Vergleich zu gesunden Hunden (KARAYANNOPOULOU et al., 2017).

In der vorliegenden Studie konnte für die Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten vor der Therapie keine prognostische Bedeutung bezüglich der Vorhersage der Gesamtüberlebenszeit, der tumorfreien Überlebenszeit und der progressionsfreien Überlebenszeit dargestellt werden. Bei Katzen mit FISS wird der Anzahl an Lymphozyten ebenfalls keine prognostische Wertigkeit bezüglich der Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu entwickeln und bezüglich der Gesamtüberlebenszeit zugeschrieben (CHITI et al., 2020). Dies stimmt mit Ergebnissen anderer Studien überein, in denen die Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten vor der Therapie bei Hunden mit onkologischen Erkrankungen ebenfalls keinen signifikanten prognostischen Faktor darstellt (MUTZ et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; CHITI et al., 2021). Zwar ist die Anzahl der Lymphozyten bei Hunden mit Weichteilsarkomen signifikant niedriger als bei Hunden mit benignen Weichteiltumoren, ein signifikanter Unterschied zwischen

den Tumorgraden konnte in dieser Studie aber nicht gefunden werden (MACFARLANE et al., 2016a).

Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen der Studien, die die Anzahl der Lymphozyten auf ihren prognostischen Wert untersuchten, könnte auf der Anwesenheit unterschiedlicher Lymphozyten-Subpopulationen basieren, wie bei Hunden und Katzen mit verschiedenen onkologischen Erkrankungen beschrieben wird (ITOH et al., 2009; O'NEILL et al., 2009; WATABE et al., 2011; ESTRELA-LIMA et al., 2012; KARAYANNOPOULOU et al., 2017; SPARGER et al., 2018; CHITI et al., 2020).

Die Vielfalt der zirkulierenden T-Lymphozyten-Subpopulationen verändert sich mit zunehmender Tumorlast, wobei das Verhältnis von CD4⁺/CD8⁺ T-Lymphozyten bei Hunden mit Tumoren und bei Hunden mit fortgeschrittenem Tumorstadium im Vergleich zu gesunden Hunden zunimmt (WATABE et al., 2011; KARAYANNOPOULOU et al., 2017). Es wird vermutet, dass dies auf eine Zunahme der zirkulierenden, tumorfördernden Tregs zurückzuführen ist (WATABE et al., 2011), deren Zunahme bei Katzen und Hunden sowie bei Menschen mit Tumorerkrankungen nachgewiesen ist (ICHIHARA et al., 2003; BILLER et al., 2007; SPARGER et al., 2018; QIU et al., 2023). Sparger *et al.* wiesen auf, dass bei Katzen mit oralen Plattenepithelkarzinomen die Anzahl der zirkulierenden Tregs im Vergleich zu gesunden Katzen erhöht ist. Diese Zellen konnten ebenfalls im Tumorgewebe nachgewiesen werden (SPARGER et al., 2018). Bei Hunden mit Karzinomen im Vergleich zu Hunden mit anderen Tumorarten ist der Anteil der zirkulierenden Tregs an zirkulierenden CD4⁺ T-Lymphozyten ebenfalls signifikant höher (O'NEILL et al., 2009). Gleichzeitig ist eine Abnahme der Anzahl der CD8⁺ T-Lymphozyten bei Hunden mit Tumorerkrankungen beschrieben (WATABE et al., 2011; KARAYANNOPOULOU et al., 2017), die mit der Progression des Tumors weiter abnimmt (ITOH et al., 2009; WATABE et al., 2011). Da CD8⁺ T-Lymphozyten eine wichtige tumorhemmende Rolle spielen, führt die Abnahme dieser Zellen bei gleichzeitigem Tumorwachstum zu einem steigenden Verhältnis von CD4⁺/CD8⁺ T-Lymphozyten und könnte somit eine beeinträchtigte antitumorale Immunität widerspiegeln (ITOH et al., 2009; WATABE et al., 2011; KARAYANNOPOULOU et al., 2017).

Obwohl nur schwach ausgeprägt, zeigte die Anzahl zirkulierender Lymphozyten in

der vorliegenden Studie eine unerwartete positive Korrelation mit der Anzahl zirkulierender Monozyten. Dies könnte ebenfalls auf die Vielfalt der Lymphozyten-Subpopulationen zurückzuführen sein und man könnte spekulieren, dass dies auf eine Zunahme der tumorfördernden regulatorischen Tregs hindeuten könnte (O'NEILL et al., 2009; WATABE et al., 2011). Eine weitere Differenzierung der zirkulierenden und tumorinfiltrierenden Lymphozyten-Subpopulationen könnten diesbezüglich weitere Informationen liefern.

Des Weiteren zeigte die Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten in der vorliegenden Studie eine negative Korrelation mit dem Alter. Eine abnehmende Anzahl zirkulierender Lymphozyten und Veränderungen der Lymphozyten-Subpopulationen mit zunehmendem Alter ist bei Hunden und Katzen bereits beschrieben (CAMPBELL et al., 2004; DAY, 2010; WATABE et al., 2011). Sowohl die LMR als auch die NLR korrelierten in der vorliegenden Studie mit dem Alter der Katzen, nicht jedoch die Anzahl der zirkulierenden Monozyten und neutrophilen Granulozyten. Dies könnte darauf hindeuten, dass altersbedingte Veränderungen der zirkulierenden Lymphozyten für den Zusammenhang mit der NLR und der LMR verantwortlich sein könnten. Es wird empfohlen, dies bei zukünftigen Studien zu berücksichtigen.

Darüber hinaus schien in der hier vorliegenden Studie die Anzahl zirkulierender Lymphozyten bei Katzen mit Primärtumor signifikant höher zu sein als bei Katzen mit einem Rezidiv. Da die absolute sowie die relative Anzahl bei Hunden mit der Tumorprogression sinkt (ITOH et al., 2009; WATABE et al., 2011), was eine verminderte antitumorale Immunität widerspiegeln könnte (ITOH et al., 2009), könnte dies darauf hindeuten, dass die Abnahme der Anzahl zirkulierender Lymphozyten bei Katzen auf ein immunsuppressiveres Verhalten von rezidivierenden Tumoren im Vergleich zu Primärtumoren hinweisen könnte. Dennoch muss hier erwähnt werden, dass lediglich sechs Katzen mit einem Rezidiv in die Studie aufgenommen wurden und diese Gruppengröße im Vergleich zu 32 Katzen mit einem Primärtumor klein war. Ein möglicher Unterschied der getesteten Parameter in diesen Gruppen sollte mit einheitlicheren Gruppengrößen erneut untersucht werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie und früherer Studien machen die Anzahl der Lymphozyten ohne weitere Differenzierung ihrer Subpopulationen und ohne

Berücksichtigung des Alters des Patienten zu einem eher weniger zuverlässigen prognostischen Faktor für die Vorhersage des Outcomes bei Katzen mit onkologischen Erkrankungen.

Die Verhältnisse der Leukozyten, die NLR und die LMR, haben aufgrund der gleichzeitigen Einbeziehung verschiedener Parameter eine größere Stabilität und daher einen höheren prognostischen Stellenwert als die einzelnen Parameter. Sie spiegeln sowohl die bestehende tumorwachstumsfördernde Entzündungsreaktion als auch die dem Tumorwachstum entgegenwirkende Immunreaktion wider (MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021).

Höhere NLR-Werte und niedrigere LMR-Werte stehen für einen höheren Entzündungsstatus bei gleichzeitig unterdrückter Immunantwort und haben sich bei verschiedenen soliden Tumoren beim Menschen (TEMPLETON et al., 2014; NISHIJIMA et al., 2015) und onkologischen Erkrankungen in der Tiermedizin als prognostisch bedeutsam erwiesen (MARCONATO et al., 2015; MACFARLANE et al., 2016a; MACFARLANE et al., 2016b; REJEC et al., 2017; SKOR et al., 2017; DAVIES et al., 2018; FERNÁNDEZ & CHON, 2018; CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021; HENRIQUES et al., 2021; NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021).

Während in der vorliegenden Studie ein höherer Wert der NLR mit einer Tumorgrößenkategorie T2 korrelierte, konnte für die NLR keine prognostische Bedeutsamkeit bezüglich der Gesamtüberlebenszeit, der tumorfreien Überlebenszeit und der progressionsfreien Überlebenszeit ermittelt werden. Dies steht im Gegensatz zu anderen Studien, die die NLR als prognostischen Faktor bei Katzen untersuchten. Gleich zwei Studien konnten den prognostischen Nutzen der NLR bei Katzen mit Mammakarzinomen darlegen. So überleben Katzen mit einer höheren NLR kürzer (NAITO et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021) und entwickeln früher ein Rezidiv (PETRUCCI et al., 2021) als Katzen mit einer niedrigeren NLR. Genauso ist eine erhöhte NLR, vor operativer Entfernung eines FISS, mit einem erhöhten Rezidivrisiko und, zumindest in der univariablen Cox-Regressionsanalyse, einer kürzeren Überlebenszeit verbunden (CHITI et al., 2020). Zudem zeigen Katzen mit einer Tumorerkrankung eine signifikant höherer NLR als Katzen mit nicht-neoplastischen Erkrankungen (TSOULOUI et al., 2021).

Auch bei Hunden mit onkologischen Erkrankungen ist die NLR als prognostischer Faktor beschrieben. Eine hohe NLR ist mit einer kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit und einer kürzeren tumorspezifischen Überlebenszeit bei Hunden mit kutanen Mastzelltumoren assoziiert (SKOR et al., 2017). Darüber hinaus spricht eine höhere NLR bei Hunden mit Mastzelltumoren, für ein höheres Risiko, an einem high-grade Mastzelltumor erkrankt zu sein (MACFARLANE et al., 2016b). Es wurde zwar kein signifikanter Unterschied der NLR in Bezug auf den Grad von kaninen Weichteilsarkomen gefunden, allerdings deutet eine erhöhte NLR auf eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Weichteilsarkoms anstelle eines benignen Weichteiltumors hin (MACFARLANE et al., 2016a). Gleichmaßen konnte bei Hunden mit oropharyngealen Tumoren eine signifikant höhere NLR als bei Hunden mit Parodontitis sowie bei gesunden Hunden nachgewiesen werden (REJEC et al., 2017). Hunde mit erfolgter operativer Entfernung eines kutanen Gefäßwandtumors zeigen ein höheres Rezidivrisiko bei steigender NLR (CHITI et al., 2021) und auch Hunde mit Multiplem Myelom haben eine signifikant kürzere Gesamtüberlebenszeit, progressionsfreie Überlebenszeit und tumorfreie Überlebenszeit bei höheren Werten der NLR (FERNÁNDEZ & CHON, 2018). Mutz *et al.* konnte bezüglich der progressionsfreien Überlebenszeit und der Gesamtüberlebenszeit bei Hunden mit einem multizentrischen Lymphom keine prognostische Relevanz der NLR darstellen (MUTZ et al., 2015). Im Gegensatz dazu wurde in aktuelleren Studien über kanine diffuse großzellige Lymphome beschrieben, dass ein Zusammenhang zwischen höheren Werten der NLR und einer kürzeren Überlebenszeit (DAVIES et al., 2018; HENRIQUES et al., 2021) sowie einer kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit besteht (HENRIQUES et al., 2021).

Im Gegensatz zu Fernández und Chon (FERNÁNDEZ & CHON, 2018), konnte Camerino *et al.* bei Hunden mit einem oralen malignen Melanom keine Korrelation der NLR mit verschiedenen, für diese Tumorart typischen, histologischen bzw. immunhistologischen negativ prognostischen Parametern oder der Überlebenszeit feststellen. Dieses Ergebnis kann ggf. darauf zurückzuführen sein, dass bei keinem der Patienten Fernmetastasen, sondern lediglich eine lokoregionale Metastasierung bestand. Daher wurde in der Studie diskutiert, dass die systemische inflammatorische Wirkung des Tumors nicht messbar von der NLR widerspiegelt wird (CAMERINO et al., 2021). In der vorliegenden Studie konnten ebenfalls keine

Fernmetastasen diagnostiziert werden. Möglicherweise ist die fehlende Signifikanz der NLR ebenfalls darauf zurückzuführen, dass das kutane Plattenepithelkarzinom womöglich weniger systemische Auswirkung hat.

Die Tatsache, dass weder die Anzahl der neutrophilen Granulozyten noch die Anzahl der Lymphozyten signifikante Ergebnisse für die jeweiligen Endpunkte generierten, könnte erklären, dass das Verhältnis, das diese beiden Werte inkludiert, ebenfalls nicht signifikant ist.

Wahrscheinlich ist die Korrelation der NLR mit der Tumorgößenkategorie auf die Anzahl der neutrophilen Granulozyten zurückzuführen, die im Gegensatz zu der Anzahl der Lymphozyten mit der Tumorgößenkategorie korrelierte.

In der vorliegenden Studie sprach eine höhere LMR für ein niedrigeres Risiko zu Versterben und damit für eine längere Gesamtüberlebenszeit. Dies stimmt mit Ergebnissen bei Katzen mit high-grade Lymphomen überein (TAGAWA et al., 2021) und ist vergleichbar mit einem längeren tumorspezifischen Überleben bei Hunden mit verschiedenen Tumorerkrankungen (MARCONATO et al., 2015; SKOR et al., 2017). Zudem wird dies durch die Studie von Tsouloufi *et al.* unterstützt, in der eine niedrigere LMR bei Katzen mit Tumorerkrankungen im Vergleich zu gesunden Katzen dargelegt wurde (TSOULOUI et al., 2021). Im Gegensatz zu den bisher genannten Studien, wurde z. B. bei Hunden mit einem oralen malignen Melanom kein Zusammenhang zwischen der LMR und der Gesamtüberlebenszeit gefunden (CAMERINO et al., 2021).

Die LMR wurde auch als prognostischer Faktor für die progressionsfreie Überlebenszeit bei Hunden mit kutanem Mastzelltumor (SKOR et al., 2017) und diffusem großzelligen B-Zell-Lymphom (MARCONATO et al., 2015) beschrieben. Diese Ergebnisse konnten allerdings weder in einer anderen Studie bei Hunden mit Lymphomen (HENRIQUES et al., 2021), noch in der vorliegenden Studie reproduziert werden.

Die Ursache für diese Diskrepanz bleibt unklar und könnte, wie für die einzelnen Parameter bereits erwähnt, mit einer nicht erkannten entzündlichen Begleiterkrankung zusammenhängen. Eine geringere Anzahl an Katzen, die hinsichtlich des prognostischen Wertes der LMR auf die tumorfreien und progressionsfreien Überlebenszeit untersucht wurden, könnte ebenfalls eine Ursache für die fehlende Signifikanz im Vergleich zur Gesamtüberlebenszeit

darstellen (DAVIES et al., 2018).

Die physiologische Neutrophilie und Lymphozytose sind bei Katzen besonders ausgeprägt und können die Anzahl der zirkulierenden neutrophilen Granulozyten auf das bis zu vierfache und die Anzahl der zirkulierenden Lymphozyten auf das bis zu zweifache des oberen Referenzwertes gesunder Katzen erhöhen (STOCKHAM et al., 2003). In dieser Studie wiesen nur fünf Katzen eine Neutrophilie auf, aber keiner dieser Katzen hatte gleichzeitig eine Lymphozytose. Dennoch sollte ein Anstieg der Leukozytenzahlen innerhalb des Referenzwertes als ein Faktor betrachtet werden, der die Anzahl der neutrophilen Granulozyten und der Lymphozyten und somit die NLR und LMR beeinträchtigt, auch wenn keine Neutrophilie oder Lymphozytose vorliegt (SOTTNIK et al., 2010).

Keiner der Leukozytenparameter korrelierte mit dem Geschlecht der Patienten. Es gab keinen statistisch signifikanten Unterschied bezüglich der Gesamtüberlebenszeit, der tumorfreien Überlebenszeit und der progressionsfreien Überlebenszeit, ob es sich bei der Katze um ein weibliches oder männliches Tier handelt. Zudem zeigte das Geschlecht auch keinen prognostischen Zusammenhang mit der Gesamtüberlebenszeit, der progressionsfreien Überlebenszeit und der tumorfreien Überlebenszeit. Bei Katzen mit FISS konnte bezüglich des Geschlechts ebenfalls kein prognostischer Zusammenhang mit der Gesamtüberlebenszeit festgestellt werden (CHITI et al., 2020) und auch bei Katzen mit Lymphomen konnte keine prognostische Bedeutsamkeit des Geschlechts für die progressionsfreie Überlebenszeit festgestellt werden (TAGAWA et al., 2021).

Ebenfalls vergleichbar ist dies mit der Studie von Gasymova *et al.*, in der das Outcome bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen beschrieben wird, die mit dem gleichen Therapieprotokoll behandelt wurden. In dieser Studie war das Geschlecht etwas gleichmäßiger verteilt (21/44 (47,7 %) weibliche und 23/44 (52,3 %) männliche Katzen) im Vergleich zu der vorliegenden Studie (15/38 (39,5 %) weibliche und 23/38 (60,5 %) männliche Katzen). Es wurde aber ebenfalls kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der tumorfreien Überlebenszeit und der Gesamtüberlebenszeit festgestellt (GASYMOVA et al., 2017).

Zusätzlich zu dem bereits angesprochenen Geschlechterverhältnis können auch weitere beschreibende Parameter der Studienpatienten verglichen werden, um die

Repräsentativität der hier untersuchten Studienpopulation einzuschätzen. In der Studie von Gasymova *et al.* und in der Studie von Melzer *et al.* wurden Katzen mit einem kutanen Plattenepithelkarzinom mit dem gleichen Therapieprotokoll behandelt wie in der vorliegenden Studie. In diesen beiden Studien waren ebenfalls die meisten Katzen Europäische Kurzhaarkatzen (MELZER *et al.*, 2006; GASYMOVA *et al.*, 2017). Das Durchschnittsalter der Katzen dieser Studien (Durchschnittsalter von 11,1 (MELZER *et al.*, 2006) 11,3 (GASYMOVA *et al.*, 2017) Jahren) ist ebenfalls vergleichbar mit dem Durchschnittsalter der vorliegenden Studie (11,71 Jahren). Ebenfalls vergleichbar ist das mediane Körpergewicht der Patienten (4,3 kg (MELZER *et al.*, 2006) und 4,7 kg (GASYMOVA *et al.*, 2017) in den genannten Studien mit dem Körpergewicht der Patienten der vorliegenden Studienpopulation (4,4 kg).

Im Vergleich zu vorherigen Studien, die dieses Bestrahlungsprotokoll anwandten, wurden in der hier vorliegenden Studie ähnliche Therapieerfolge verzeichnet. Die Ansprechrate von 94 % ist vergleichbar mit bereits publizierten Daten bezüglich der Anwendung dieses Bestrahlungsprotokolls bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen (MELZER *et al.*, 2006; GASYMOVA *et al.*, 2017). In der vorliegenden Studie konnte in 34/36 (94,4 %) Fällen eine komplette Remission erreicht werden. Melzer *et al.* und Gasymova *et al.* berichten eine komplette Remission von 94,1 % (MELZER *et al.*, 2006) bzw. 100 % (GASYMOVA *et al.*, 2017).

Die mediane Gesamtüberlebenszeit von 693 Tagen (KI:443,927-942,073) in der vorliegenden Studie war kürzer als in einer vorherigen Studie, die dieses Behandlungsprotokoll bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen anwandte (GASYMOVA *et al.*, 2017). In der vorliegenden Studie konnte eine Einjahresüberlebensrate von 65,8 % und eine Zweijahresüberlebensrate von 31,6 % erreicht werden. Gasymova *et al.* erzielte zwar eine nur etwas größere Einjahresüberlebensrate (79,3 %), die Zweijahresüberlebensrate war jedoch deutlich größer (58,4 %) (GASYMOVA *et al.*, 2017). Möglicherweise liegt dies an einer längeren medianen Nachverfolgungszeit oder daran, dass in der Studie von Gasymova *et al.* mehr Katzen (acht im Vergleich zu zwei Katzen in der vorliegenden Studie) nach Entwicklung eines Rezidivs eine weitere lebensverlängernde Therapie erhielten (GASYMOVA *et al.*, 2017).

Dieser Vergleich der Überlebenszeiten bei Katzen mit kutanen

Plattenepithelkarzinomen ist allerdings mit Vorsicht zu interpretieren, da der Zeitpunkt des Versterbens oft von der Entscheidung des Besitzers bzw. der Besitzerin abhängig ist. Der Zeitpunkt, an dem die Entscheidung getroffen wird, die Katze zu euthanasieren, kann nach einer Rezidiventwicklung oder nach der Diagnose von anderen, möglicherweise alternativ auftretenden Erkrankungen stark variieren. Dadurch wird die Überlebenszeit zusätzlich von dem Besitzer bzw. der Besitzerin beeinflusst (MELZER et al., 2006).

Ein möglicherweise besserer Vergleich verschiedener Studien basiert daher auf der tumorfreien Überlebenszeit (MELZER et al., 2006). Das Ergebnis dieses Endpunktes war in der vorliegenden Studie mit median 889 Tagen ähnlich (GASYMOVA et al., 2017) bzw. länger (MELZER et al., 2006) als bereits beschrieben. Die Anzahl an Katzen, die in der vorliegenden Studie nach einem bzw. zwei Jahren rezidivfrei waren, war deutlich niedriger als zuvor beschrieben (MELZER et al., 2006; GASYMOVA et al., 2017).

Von Bedeutung für den Vergleich der Ergebnisse der Endpunkte ist allerdings, dass in der Studie von Gasymova *et al.* einige Studienpatienten der Studie von Melzer *et al.* aufgenommen und diese mit einer längeren Nachbeobachtungszeit neu bewertet wurden.

Zudem wurden in der Studie von Melzer *et al.* keine Katzen eingeschlossen, die bereits eine Therapie des Tumors erhielten und in der von Gasymova *et al.* nur eine Katze mit zwei vorherigen chirurgischen Entfernungen des Tumors (MELZER et al., 2006; GASYMOVA et al., 2017). Im Vergleich wurden in der vorliegenden Studie sechs Katzen mit einem Rezidiv aufgenommen. Diesbezüglich muss hingegen erwähnt werden, dass eine geringe Anzahl der Katzen (n=6) in der Rezidivgruppe der vorliegenden Studie möglicherweise wenig oder keine Auswirkung auf das Outcome hat. Dies wird dadurch unterstützt, dass in der vorliegenden Studie auch statistisch kein signifikanter Unterschied in den drei Endpunkten der Studie zwischen den Katzen mit einem Primärtumor und einem Rezidiv gefunden werden konnte.

Die progressionsfreie Überlebenszeit mit dem in dieser Studie verwendeten Therapieprotokoll wurde bisher nicht in anderen Studien beschrieben.

Die vorliegende Studie bringt weitere Limitationen mit sich. Die wichtigste Einschränkung ist der retrospektive Charakter. Insbesondere das Fehlen eines

einheitlichen Studienprotokolls muss hier genannt werden. Dadurch ergab sich unvermeidlich eine unterschiedlich lange Zeit zwischen der hämatologischen Untersuchung und dem Start der Therapie der Katzen. Obwohl vergleichbar mit anderen Studien (CHITI et al., 2020; CHITI et al., 2021), hätte ein kürzeres und einheitliches Zeitintervall bei allen Katzen zwischen der Blutentnahme und dem Beginn der Behandlung zu einem genaueren Ergebnis führen können.

Des Weiteren wurde die Differenzierung der Leukozyten nicht durch eine Untersuchung eines Blutausstriches überprüft, so dass eine mögliche Ungenauigkeit der Messung des Analysegeräts nicht ausgeschlossen werden konnte. In drei Fällen lag ein Blutbild mit Differentialblutbild eines anderen Analysegerätes vor. Dies könnte die Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten sowie der Monozyten beeinflusst haben. Die NLR und die LMR sollten dadurch allerdings nicht beeinflusst sein.

Darüber hinaus könnte die unterschiedliche Dauer der Tumorerkrankung vor dem Start der Behandlung einen Einfluss auf die peripheren Leukozytenzahlen gehabt haben. Allerdings repräsentiert dies am ehesten ein realistisches Patientenaufkommen.

Auch das Fehlen eines standardisierten Untersuchungsprotokolls, das bei allen Katzen durchgeführt wurde, um subklinische Begleiterkrankungen auszuschließen, könnte die Leukozytenzahl im peripheren Blut beeinflusst haben. Die Tatsache, dass Katzen mit gleichzeitig bestehenden entzündlichen Erkrankungen, wie z. B. einer vermuteten oder diagnostizierten chronischen Nierenerkrankung (JEPSON, 2016) nicht ausgeschlossen wurden, muss berücksichtigt werden.

Chronisch rezidivierende respiratorische Symptome bei zwei Katzen wurden ebenfalls nicht weiter abgeklärt. Allerdings kann über die Ätiologie hier nur spekuliert werden. Infektionserkrankungen des respiratorischen Systems sind allerdings möglich und gehen mit einer Entzündungsreaktion und folglich mit Veränderungen des Differentialblutbildes einher (ARNOLD et al., 2022).

Diese entzündlichen Erkrankungen könnten die Anzahl der Leukozyten und damit die Ergebnisse dieser Studie beeinflusst haben.

Die Angabe der Tumorgroße war nicht bei allen Katzen verfügbar, was in einigen Fällen zu einer Kategorisierung durch visuelle Schätzung basierend auf Fotos oder

der Beschreibung des Besitzers bzw. der Besitzerin führte. Eine Kategorisierung nach Magne *et al.* (MAGNE *et al.*, 1997) wurde ebenfalls in Studien durchgeführt, die das gleiche Therapieprotokoll bei der Behandlung von Katzen mit einem kutanen Plattenepithelkarzinom beschreiben (MELZER *et al.*, 2006; GASYMOVA *et al.*, 2017). Dennoch wäre ein genauer Durchmesser oder eine Volumenmessung einer Kategorisierung in nur zwei Kategorien vorzuziehen und hätte akkuratere Ergebnisse bezüglich der Bedeutung der Tumorgroße erzeugt.

Auch ein standardisiertes Staging bei allen Katzen wäre von Vorteil gewesen, um eine mögliche Metastasierung mit mehr Sicherheit auszuschließen. Bei 12/38 (31,6 %) Katzen wurde eine FNA der Lymphknoten durchgeführt, bei denen sich kein Hinweis auf eine Metastase finden ließ.

Lediglich 5/38 (13,2 %) Katzen bekamen eine Ultraschalluntersuchung des Abdomens. Bei drei dieser Katzen fanden sich hypoechogene Bereiche in der Milz, die nicht weiter abgeklärt wurden. Allerdings sind Fernmetastasen bei kutanen Plattenepithelkarzinomen selten und betreffen in erster Linie die Lunge (THOMSON, 2007; DOS SANTOS *et al.*, 2023). Bei den Katzen, bei denen Röntgenaufnahmen des Thorax vorlagen, ließ sich ebenfalls kein Hinweis auf eine Metastasierung finden. Bei fünf Katzen konnte eine mögliche thorakale Metastasierung aufgrund des Fehlens einer röntgenologischen Untersuchung nicht beurteilt werden.

Das retrospektive Studiendesign und die fehlende einheitliche Planung von Nachuntersuchungen führten dazu, dass die Beurteilung des Ansprechens auf die Therapie sowie des weiteren Verlaufs der Erkrankung zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Therapie erfolgte. Von vielen Besitzern und Besitzerinnen wurde die Möglichkeit einer Nachfolgeuntersuchung nicht wahrgenommen und gleichzeitig führten unvollständige Aufzeichnungen der Vor- und Nachuntersuchungen zu Einschränkungen in der Datensammlung. Aufgrund ungenügender Gründlichkeit bei der Dokumentation der erfolgten Vor- und Nachuntersuchungen in der Datenbank, musste in einigen Fällen bei der Beurteilung verschiedener untersuchter Parameter, genauer des Therapieansprechens, des Auftretens eines Rezidivs bzw. einer Progression, des Todeszeitpunkt und der Todesursache, auf Informationen zurückgegriffen werden, die telefonisch erfragt wurden. In einigen Fällen lagen die erfragten Ereignisse bereits einzelne Jahre zurück, wodurch ein möglicherweise eingeschränktes

Erinnerungsvermögen der Besitzer und Besitzerinnen die Genauigkeit der Angaben beeinflusst haben könnte.

Eine Beeinflussung aufgrund von Umweltfaktoren und deren mögliche Auswirkungen auf die Anzahl der zirkulierenden Leukozyten konnte ebenfalls nicht bewertet werden. Hierzu würden z. B. Haltungsform, mögliche rauchende Personen im Haushalt oder Adipositas zählen (HOWARD et al., 2019a; HENRIQUES et al., 2021; PETRUCCI et al., 2021).

Die Schlussfolgerung dieser Studie ist, dass bei Katzen mit einem kutanen Plattenepithelkarzinom, die mit einer externen Strahlentherapie behandelt wurden, die LMR vor der Behandlung als prognostischer Faktor für die Gesamtüberlebenszeit und die Anzahl der Monozyten vor der Behandlung als prognostischer Faktor für die progressionsfreie Überlebenszeit angesehen werden können. Eine höhere LMR spricht für ein niedrigeres Risiko zu versterben und damit für eine längere Gesamtüberlebenszeit. Gleichzeitig spricht eine höhere Anzahl an Monozyten für ein höheres Progressionsrisiko und kann daher mit einer kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit in Zusammenhang gebracht werden. Eine prospektive Studie mit standardisiertem Studienprotokoll, einer größeren Studienpopulation, mit vergleichender Untersuchung der zirkulierenden und den Tumor infiltrierenden Leukozyten, inklusive Bestimmung der jeweiligen Subpopulation, mit genauen Tumormessungen und der Ausschluss von Katzen mit Hinweisen auf Begleiterkrankung ist ratsam, um die hier vorliegenden Ergebnisse zu validieren. Zusätzlich würden Längsschnittuntersuchungen Aufschluss über die Veränderung der Leukozytenzahlen nach der Therapie geben (COFFELT et al., 2016).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Das kutane Plattenepithelkarzinom ist einer der häufigsten Hauttumore bei Katzen. Da Entzündungen eine Schlüsselrolle in der Onkogenese spielen, werden in der Human- und Tiermedizin zunehmend Entzündungszellen und deren Verhältnisse zueinander als prognostische Faktoren erforscht. In der vorliegenden retrospektiven Studie wurde bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen, die eine Strahlentherapie erhielten, die Korrelation zwischen der prätherapeutischen Anzahl der neutrophilen Granulozyten, der Monozyten und der Lymphozyten sowie deren Verhältnis zueinander, das Lymphozyten-Monozyten-Verhältnis (LMR) und das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis (NLR), mit tumor- und patientenbezogenen Variablen untersucht. Zudem wurde evaluiert, ob diese Parameter einen prognostischen Parameter für die Gesamtüberlebenszeit, die progressionsfreie Überlebenszeit und die tumorfreie Überlebenszeit darstellen.

38 Katzen wurden in die Studie eingeschlossen. Die Anzahl der neutrophilen Granulozyten und die NLR korrelierten mit einer Tumorgroße von $>1,5$ cm. Die Anzahl der Lymphozyten, die NLR und die LMR korrelierten mit dem Alter. Die LMR und die Anzahl der Monozyten korrelierte mit der Anzahl der neutrophilen Granulozyten und die Anzahl der Lymphozyten mit der Anzahl der Monozyten. Eine höhere LMR konnte mit einem niedrigeren Risiko zu Versterben und eine erhöhte Anzahl der Monozyten mit einem höheren Progressionsrisiko in Verbindung gebracht werden. Somit kann eine höhere LMR für eine längere Gesamtüberlebenszeit und eine höhere Anzahl der Monozyten für eine kürzere progressionsfreie Überlebenszeit sprechen. Ein Therapieansprechen konnte bei 36/38 Katzen beurteilt werden. 34/36 (94,4 %) Katzen erreichten eine komplette Remission. Eine der 36 Katzen (2,7 %) war progressiv und eine Katze (2,7 %) zeigte ein partielles Ansprechen. Die mediane Gesamtüberlebenszeit lag bei 693 Tagen, die mediane progressionsfreie Überlebenszeit bei 893 Tagen und die mediane tumorfreie Überlebenszeit bei 889 Tagen.

Zusammenfassend sind die LMR und die Anzahl der Monozyten bei Katzen mit kutanen Plattenepithelkarzinomen, die bestrahlt werden, als prognostische Faktoren für die Gesamtüberlebenszeit bzw. die progressionsfreie Überlebenszeit anzusehen.

VII. SUMMARY

Cutaneous squamous cell carcinoma is one of the most common skin tumors in cats. Since inflammation plays a key role in oncogenesis, inflammatory cells and their ratios are increasingly being investigated as prognostic factors in human and veterinary medicine. In the present retrospective study, the correlation between the pretreatment neutrophil, monocyte and lymphocyte count, and their ratios, the lymphocyte-monocyte ratio (LMR) and the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR), with tumor as well as patient related variables were investigated. Additionally, the prognostic values of these parameters for overall survival time, progression-free survival time and tumor-free survival time were explored.

38 cats with cutaneous squamous cell carcinoma treated with radiation therapy were enrolled in the study. The neutrophil count and the NLR correlated with tumor size being >1.5 cm. The lymphocyte count, NLR, and LMR correlated with age. The LMR and the monocyte count correlated with the neutrophil count and the lymphocyte count correlated with the monocyte count. A higher LMR was associated with a lower risk of death and an increased monocyte count was associated with a higher risk of progression. Thus, a higher LMR may indicate a longer overall survival time and a higher monocyte count may indicate a shorter progression-free survival time. A response to therapy could be assessed in 36/38 cats. 34/36 (94.4%) cats achieved a complete remission. One of 36 (2.7%) cats had progressive disease, and one (2.7%) cat had partial response. The median overall survival time was 693 days, the median progression-free survival time was 893 days, and the median tumor-free survival time was 889 days.

In conclusion, pretreatment LMR and monocyte count may be used as prognostic factors for overall survival and progression free survival, respectively.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Akgül B, Cooke JC, Storey A. HPV-associated skin disease. *J Pathol* 2006; 208: 165-75.

Amsen D, Antov A, Flavell RA. The different faces of Notch in T-helper-cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 116-24.

Andzinski L, Kasnitz N, Stahnke S, Wu CF, Gereke M, von Köckritz-Blickwede M, Schilling B, Brandau S, Weiss S, Jablonska J. Type I IFNs induce anti-tumor polarization of tumor associated neutrophils in mice and human. *Int J Cancer* 2016; 138: 1982-93.

Antonio N, Bønnelykke-Behrndtz ML, Ward LC, Collin J, Christensen IJ, Steiniche T, Schmidt H, Feng Y, Martin P. The wound inflammatory response exacerbates growth of pre-neoplastic cells and progression to cancer. *Embo J* 2015; 34: 2219-36.

Armstrong BK, Kricker A. The epidemiology of UV induced skin cancer. *J Photochem Photobiol B* 2001; 63: 8-18.

Arnold HK, Hanselmann R, Duke SM, Sharpton TJ, Beechler BR. Chronic clinical signs of upper respiratory tract disease associate with gut and respiratory microbiomes in a cohort of domestic felines. *PLoS One* 2022; 17: e0268730.

Bald T, Quast T, Landsberg J, Rogava M, Glodde N, Lopez-Ramos D, Kohlmeyer J, Riesenberger S, van den Boorn-Konijnenberg D, Hömig-Hölzel C, Reuten R, Schadow B, Weighardt H, Wenzel D, Helfrich I, Schadendorf D, Bloch W, Bianchi ME, Lugassy C, Barnhill RL, Koch M, Fleischmann BK, Förster I, Kastenmüller W, Kolanus W, Hölzel M, Gaffal E, Tüting T. Ultraviolet-radiation-induced inflammation promotes angiotropism and metastasis in melanoma. *Nature* 2014; 507: 109-13.

Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357: 539-45.

Balkwill FR, Capasso M, Hagemann T. The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci* 2012; 125: 5591-6.

Benjamin CL, Ananthaswamy HN. p53 and the pathogenesis of skin cancer. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 224: 241-8.

Biller BJ, Elmslie RE, Burnett RC, Avery AC, Dow SW. Use of FoxP3 expression to identify regulatory T cells in healthy dogs and dogs with cancer. *Vet Immunol Immunopathol* 2007; 116: 69-78.

Boettcher S, Manz MG. Regulation of Inflammation- and Infection-Driven Hematopoiesis. *Trends Immunol* 2017; 38: 345-57.

Bolshakov S, Walker CM, Strom SS, Selvan MS, Clayman GL, El-Naggar A, Lippman SM, Kripke ML, Ananthaswamy HN. p53 mutations in human aggressive and nonaggressive basal and squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 228-34.

Brucklacher-Waldert V, Steinbach K, Lioznov M, Kolster M, Hölscher C, Tolosa E. Phenotypical characterization of human Th17 cells unambiguously identified by surface IL-17A expression. *J Immunol* 2009; 183: 5494-501.

Buchholz J, Wergin M, Walt H, Gräfe S, Bley CR, Kaser-Hotz B. Photodynamic therapy of feline cutaneous squamous cell carcinoma using a newly developed liposomal photosensitizer: preliminary results concerning drug safety and efficacy. *J Vet Intern Med* 2007; 21: 770-5.

Camerino M, Giacobino D, Iussich S, Ala U, Riccardo F, Cavallo F, Martano M, Morello E, Buracco P. Evaluation of prognostic impact of pre-treatment neutrophil to lymphocyte and lymphocyte to monocyte ratios in dogs with oral malignant melanoma treated with surgery and adjuvant CSPG4-antigen electrovaccination: an explorative study. *Vet Comp Oncol* 2021; 19: 353-61.

Campbell DJ, Rawlings JM, Koelsch S, Wallace J, Strain JJ, Hannigan BM. Age-related differences in parameters of feline immune status. *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 100: 73-80.

Canli Ö, Nicolas AM, Gupta J, Finkelmeier F, Goncharova O, Pesic M, Neumann T, Horst D, Löwer M, Sahin U, Greten FR. Myeloid Cell-Derived Reactive Oxygen Species Induce Epithelial Mutagenesis. *Cancer Cell* 2017; 32: 869-83.e5.

Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, Hanna RN, Glover L, Vizcay-Barrena G, Hedrick CC, Cook HT, Diebold S, Geissmann F. Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell* 2013; 153: 362-75.

Carlisle CH, Gould S. Response of squamous cell carcinoma of the nose of the cat to treatment with X rays. *Veterinary Radiology* 1982; 23: 186-92.

Cassetta L, Fragkogianni S, Sims AH, Swierczak A, Forrester LM, Zhang H, Soong DYH, Cotechini T, Anur P, Lin EY, Fidanza A, Lopez-Yrigoyen M, Millar MR, Urman A, Ai Z, Spellman PT, Hwang ES, Dixon JM, Wiechmann L, Coussens LM, Smith HO, Pollard JW. Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets. *Cancer Cell* 2019; 35: 588-602.e10.

Catalán E, Jaime-Sánchez P, Aguiló N, Simon MM, Froelich CJ, Pardo J. Mouse cytotoxic T cell-derived granzyme B activates the mitochondrial cell death pathway in a Bim-dependent fashion. *J Biol Chem* 2015; 290: 6868-77.

Caza T, Landas S. Functional and Phenotypic Plasticity of CD4(+) T Cell Subsets. *Biomed Res Int* 2015; 2015: 521957.

Chaput N, Louafi S, Bardier A, Charlotte F, Vaillant JC, Ménégau F, Rosenzweig M, Lemoine F, Klatzmann D, Taieb J. Identification of CD8+CD25+Foxp3+ suppressive T cells in colorectal cancer tissue. *Gut* 2009; 58: 520-9.

Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198: 1875-86.

Cher DJ, Mosmann TR. Two types of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by TH1 clones. *J Immunol* 1987; 138: 3688-94.

Cherwinski HM, Schumacher JH, Brown KD, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell clone. III. Further differences in lymphokine synthesis between Th1 and Th2 clones revealed by RNA hybridization, functionally monospecific bioassays, and monoclonal antibodies. *J Exp Med* 1987; 166: 1229-44.

Chiti LE, Martano M, Ferrari R, Boracchi P, Giordano A, Grieco V, Buracco P, Iussich S, Giudice C, Miniscalco B, Zani DD, Proverbio D, Morello E, Stefanello D. Evaluation of leukocyte counts and neutrophil-to-lymphocyte ratio as predictors of local recurrence of feline injection site sarcoma after curative intent surgery. *Vet Comp Oncol* 2020; 18: 105-16.

Chiti LE, Ferrari R, Boracchi P, Morello E, Marconato L, Roccabianca P, Avallone G, Iussich S, Giordano A, Ferraris EI, Agnoli C, Dondi F, Giacobino D, Godizzi F, Stefanello D. Prognostic impact of clinical, haematological, and histopathological variables in 102 canine cutaneous perivascular wall tumours. *Vet Comp Oncol* 2021; 19: 275-83.

Chittezhath M, Dhillon MK, Lim JY, Laoui D, Shalova IN, Teo YL, Chen J, Kamaraj R, Raman L, Lum J, Thamboo TP, Chiong E, Zolezzi F, Yang H, Van Ginderachter JA, Poidinger M, Wong AS, Biswas SK. Molecular profiling reveals a tumor-promoting phenotype of monocytes and macrophages in human cancer progression. *Immunity* 2014; 41: 815-29.

Ciampricotti M, Hau CS, Doornebal CW, Jonkers J, de Visser KE. Chemotherapy response of spontaneous mammary tumors is independent of the adaptive immune system. *Nat Med* 2012; 18: 344-6; author reply 6.

Coffelt SB, Tal AO, Scholz A, De Palma M, Patel S, Urbich C, Biswas SK, Murdoch C, Plate KH, Reiss Y, Lewis CE. Angiopoietin-2 regulates gene expression in TIE2-expressing monocytes and augments their inherent proangiogenic functions. *Cancer Res* 2010; 70: 5270-80.

Coffelt SB, Kersten K, Doornebal CW, Weiden J, Vrijland K, Hau CS, Verstegen NJM, Ciampricotti M, Hawinkels L, Jonkers J, de Visser KE. IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells and neutrophils conspire to promote breast cancer metastasis. *Nature* 2015; 522: 345-8.

Coffelt SB, Wellenstein MD, de Visser KE. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer* 2016; 16: 431-46.

Cohen J. The Significance of a Product Moment rs. In: *Statistical Power Analysis for the Behavioral Science*, 2 edn: Lawrence Erlbaum Associates 1988: 75-107.

Colotta F, Re F, Polentarutti N, Sozzani S, Mantovani A. Modulation of granulocyte survival and programmed cell death by cytokines and bacterial products. *Blood* 1992; 80: 2012-20.

Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, Gowing S, Chow S, Giannias B, Bourdeau F, Kubes P, Ferri L. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest* 2013; 123: 3446-58.

Cornel AM, Mimpen IL, Nierkens S. MHC Class I Downregulation in Cancer: Underlying Mechanisms and Potential Targets for Cancer Immunotherapy. *Cancers* (Basel) 2020; 12: 1760.

Cosmi L, Liotta F, Lazzeri E, Francalanci M, Angeli R, Mazzinghi B, Santarlasci V, Manetti R, Vanini V, Romagnani P, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Human CD8+CD25+ thymocytes share phenotypic and functional features with CD4+CD25+ regulatory thymocytes. *Blood* 2003; 102: 4107-14.

Crawford A, Macleod M, Schumacher T, Corlett L, Gray D. Primary T cell expansion and differentiation in vivo requires antigen presentation by B cells. *J Immunol* 2006; 176: 3498-506.

Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol* 2011; 29: 621-63.

Cunha SC, Carvalho LA, Canary PC, Reisner M, Corgozinho KB, Souza HJ, Ferreira AM. Radiation therapy for feline cutaneous squamous cell carcinoma using a hypofractionated protocol. *J Feline Med Surg* 2010; 12: 306-13.

Davies O, Szladovits B, Polton G, Garden OA, Leo C, Lara-Garcia A. Prognostic significance of clinical presentation, induction and rescue treatment in 42 cases of canine centroblastic diffuse large B-cell multicentric lymphoma in the United Kingdom. *Vet Comp Oncol* 2018; 16: 276-87.

Day MJ. Ageing, immunosenescence and inflammageing in the dog and cat. *J Comp Pathol* 2010; 142 Suppl 1: S60-9.

De Monte L, Reni M, Tassi E, Clavenna D, Papa I, Recalde H, Braga M, Di Carlo V, Doglioni C, Protti MP. Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer. *J Exp Med* 2011; 208: 469-78.

de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 24-37.

de Vos JP, Burm AG, Focker BP. Results from the treatment of advanced stage squamous cell carcinoma of the nasal planum in cats, using a combination of intralesional carboplatin and superficial radiotherapy: a pilot study. *Vet Comp Oncol* 2004; 2: 75-81.

Delves PJ, Roitt IM. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000; 343: 37-49.

DeNardo DG, Brennan DJ, Rexhepaj E, Ruffell B, Shiao SL, Madden SF, Gallagher WM, Wadhwani N, Keil SD, Junaid SA, Rugo HS, Hwang ES, Jirstrom K, West BL, Coussens LM. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer Discov* 2011; 1: 54-67.

Ding T, Xu J, Wang F, Shi M, Zhang Y, Li SP, Zheng L. High tumor-infiltrating macrophage density predicts poor prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma after resection. *Hum Pathol* 2009; 40: 381-9.

Dorn CR, Taylor DO, Schneider R. Sunlight exposure and risk of developing cutaneous and oral squamous cell carcinomas in white cats. *J Natl Cancer Inst* 1971; 46: 1073-8.

Dos Santos A, Lamego É C, Eisenhardt LM, de Vargas I, Flores MM, Figuera RA, Kommers GD. Prevalence and anatomopathological characterization of cutaneous squamous cell carcinomas with regional and distant metastases in dogs and cats: 20 cases (1985-2020). *Vet Comp Oncol* 2023; 21: 291-301.

Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passequé E, Song H, Vandenberg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G. HIF1alpha induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell* 2008; 13: 206-20.

Endharti AT, Rifa IM, Shi Z, Fukuoka Y, Nakahara Y, Kawamoto Y, Takeda K, Isobe K, Suzuki H. Cutting edge: CD8+CD122+ regulatory T cells produce IL-10 to suppress IFN-gamma production and proliferation of CD8+ T cells. *J Immunol* 2005; 175: 7093-7.

Estrela-Lima A, Araújo MS, da Costa-Neto JM, Ribeiro LG, Damasceno KA, D'Assis MJ, Martins-Filho OA, Teixeira-Carvalho A, Serakides R, Cassali GD. Understanding of the immunological heterogeneity of canine mammary carcinomas to provide immunophenotypic features of circulating leukocytes as clinically relevant prognostic biomarkers. *Breast Cancer Res Treat* 2012; 131: 751-63.

Feng F, Zheng G, Wang Q, Liu S, Liu Z, Xu G, Wang F, Guo M, Lian X, Zhang H. Low lymphocyte count and high monocyte count predicts poor prognosis of gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2018; 18: 148.

Fernández R, Chon E. Comparison of two melphalan protocols and evaluation of outcome and prognostic factors in multiple myeloma in dogs. *J Vet Intern Med* 2018; 32: 1060-9.

Fidel JL, Egger E, Blattmann H, Oberhänsli F, Kaser-Hotz B. Proton irradiation of feline nasal planum squamous cell carcinomas using an accelerated protocol. *Vet Radiol Ultrasound* 2001; 42: 569-75.

Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081-95.

Flavell RA, Sanjabi S, Wrzesinski SH, Licona-Limón P. The polarization of immune cells in the tumour environment by TGFbeta. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 554-67.

Flickinger I, Gasymova E, Dietiker-Moretti S, Tichy A, Rohrer Bley C. Evaluation of long-term outcome and prognostic factors of feline squamous cell carcinomas treated with photodynamic therapy using liposomal phosphorylated meta-tetra(hydroxylphenyl)chlorine. *J Feline Med Surg* 2018; 20: 1100-4.

Forlow SB, Schurr JR, Kolls JK, Bagby GJ, Schwarzenberger PO, Ley K. Increased granulopoiesis through interleukin-17 and granulocyte colony-stimulating factor in leukocyte adhesion molecule-deficient mice. *Blood* 2001; 98: 3309-14.

Franklin RA, Liao W, Sarkar A, Kim MV, Bivona MR, Liu K, Pamer EG, Li MO. The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages. *Science* 2014; 344: 921-5.

Fridlender ZG, Sun J, Kim S, Kapoor V, Cheng G, Ling L, Worthen GS, Albelda SM. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF-beta: "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell* 2009; 16: 183-94.

Fritz CO, Morris PE, Richler JJ. Effect size estimates: current use, calculations, and interpretation. *J Exp Psychol Gen* 2012; 141: 2-18.

Gaffen SL, Jain R, Garg AV, Cua DJ. The IL-23-IL-17 immune axis: from mechanisms to therapeutic testing. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 585-600.

Gasymova E, Meier V, Guscetti F, Cancedda S, Roos M, Rohrer Bley C. Retrospective clinical study on outcome in cats with nasal planum squamous cell carcinoma treated with an accelerated radiation protocol. *BMC Vet Res* 2017; 13: 86.

Giese MA, Hind LE, Huttenlocher A. Neutrophil plasticity in the tumor microenvironment. *Blood* 2019; 133: 2159-67.

Ginhoux F, Jung S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 392-404.

Giraud E, Inoue M, Hanahan D. An amino-bisphosphonate targets MMP-9-expressing macrophages and angiogenesis to impair cervical carcinogenesis. *J Clin Invest* 2004; 114: 623-33.

Goodfellow M, Hayes A, Murphy S, Brearley M. A retrospective study of (90)Strontium plesiotherapy for feline squamous cell carcinoma of the nasal planum. *J Feline Med Surg* 2006; 8: 169-76.

Gordon S, Plüddemann A. Tissue macrophages: heterogeneity and functions. *BMC Biol* 2017; 15: 53.

Granot Z, Henke E, Comen EA, King TA, Norton L, Benezra R. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung. *Cancer Cell* 2011; 20: 300-14.

Granot Z, Fridlender ZG. Plasticity beyond cancer cells and the "immunosuppressive switch". *Cancer Res* 2015; 75: 4441-5.

Greten FR, Grivennikov SI. Inflammation and Cancer: Triggers, Mechanisms, and Consequences. *Immunity* 2019; 51: 27-41.

Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-99.

Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK. Epidermal tumors. In: *Skin Diseases of the Dog and Cat: Clinical and Histopathologic Diagnosis*, 2 edn. Gross TL, Ihrke PJ, Walder EJ, Affolter VK, eds.: Blackwell Science 2005: 559-603.

Guilliams M, Ginhoux F, Jakubzick C, Naik SH, Onai N, Schraml BU, Segura E, Tussiwand R, Yona S. Dendritic cells, monocytes and macrophages: a unified nomenclature based on ontogeny. *Nature Reviews Immunology* 2014; 14: 571-8.

Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* 2018; 49: 595-613.

Gunderson AJ, Coussens LM. B cells and their mediators as targets for therapy in solid tumors. *Exp Cell Res* 2013; 319: 1644-9.

Gutiérrez-Melo N, Baumjohann D. T follicular helper cells in cancer. *Trends Cancer* 2023; 9: 309-25.

Hagn M, Schwesinger E, Ebel V, Sontheimer K, Maier J, Beyer T, Syrovets T, Laumonnier Y, Fabricius D, Simmet T, Jahrsdörfer B. Human B cells secrete granzyme B when recognizing viral antigens in the context of the acute phase cytokine IL-21. *J Immunol* 2009; 183: 1838-45.

Hanada T, Nakagawa M, Emoto A, Nomura T, Nasu N, Nomura Y. Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* 2000; 7: 263-9.

Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-74.

Hanna RN, Cekic C, Sag D, Tacke R, Thomas GD, Nowyhed H, Herrley E, Rasquinha N, McArdle S, Wu R, Peluso E, Metzger D, Ichinose H, Shaked I, Chodaczek G, Biswas SK, Hedrick CC. Patrolling monocytes control tumor metastasis to the lung. *Science* 2015; 350: 985-90.

Hashimoto D, Miller J, Merad M. Dendritic cell and macrophage heterogeneity in vivo. *Immunity* 2011; 35: 323-35.

Hashimoto D, Chow A, Noizat C, Teo P, Beasley MB, Leboeuf M, Becker CD, See P, Price J, Lucas D, Greter M, Mortha A, Boyer SW, Forsberg EC, Tanaka M, van Rooijen N, García-Sastre A, Stanley ER, Ginhoux F, Frenette PS, Merad M. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity* 2013; 38: 792-804.

Hauck ML, Oblack ML. Tumors of the Skin and Subcutaneous Tissues. In: Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology, 6 edn. Vail DM, Thamm D, Liptak J, eds.: Elsevier 2019: 352-66.

Hayashi T, Fujita K, Nojima S, Hayashi Y, Nakano K, Ishizuya Y, Wang C, Yamamoto Y, Kinouchi T, Matsuzaki K, Kawamura N, Jingushi K, Kawashima A, Nagahara A, Ujike T, Uemura M, Imamura R, Morii E, Nonomura N. Peripheral blood monocyte count reflecting tumor-infiltrating macrophages is a predictive factor of adverse pathology in radical prostatectomy specimens. *Prostate* 2017; 77: 1383-8.

He QF, Xu Y, Li J, Huang ZM, Li XH, Wang X. CD8⁺ T-cell exhaustion in cancer: mechanisms and new area for cancer immunotherapy. *Brief Funct Genomics* 2019; 18: 99-106.

Heaton PR, Blount DG, Mann SJ, Devlin P, Koelsch S, Smith BH, Stevenson J, Harper EJ, Rawlings JM. Assessing age-related changes in peripheral blood leukocyte phenotypes in domestic shorthaired cats using flow cytometry. *J Nutr* 2002; 132: 1607s-9s.

Hedrick CC, Malanchi I. Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted. *Nat Rev Immunol* 2022; 22: 173-87.

Henriques J, Felisberto R, Constantino-Casas F, Cabeçadas J, Dobson J. Peripheral blood cell ratios as prognostic factors in canine diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP protocol. *Vet Comp Oncol* 2021; 19: 242-52.

Hettinger J, Richards DM, Hansson J, Barra MM, Joschko AC, Krijgsveld J, Feuerer M. Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat Immunol* 2013; 14: 821-30.

Hiratsuka S, Nakamura K, Iwai S, Murakami M, Itoh T, Kijima H, Shipley JM, Senior RM, Shibuya M. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell* 2002; 2: 289-300.

Ho NT, Smith KC, Dobromylskyj MJ. Retrospective study of more than 9000 feline cutaneous tumours in the UK: 2006-2013. *J Feline Med Surg* 2018; 20: 128-34.

Houghton AM, Rzymkiewicz DM, Ji H, Gregory AD, Egea EE, Metz HE, Stolz DB, Land SR, Marconcini LA, Kliment CR, Jenkins KM, Beaulieu KA, Mouded M, Frank SJ, Wong KK, Shapiro SD. Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med* 2010; 16: 219-23.

Howard R, Scheiner A, Kanetsky PA, Egan KM. Sociodemographic and lifestyle factors associated with the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Ann Epidemiol* 2019a; 38: 11-21.e6.

Howard R, Kanetsky PA, Egan KM. Exploring the prognostic value of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in cancer. *Sci Rep* 2019b; 9: 19673.

Hui Z, Zhang J, Ren Y, Li X, Yan C, Yu W, Wang T, Xiao S, Chen Y, Zhang R, Wei F, You J, Ren X. Single-cell profiling of immune cells after neoadjuvant pembrolizumab and chemotherapy in IIIA non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cell Death Dis* 2022; 13: 607.

Ichihara F, Kono K, Takahashi A, Kawaida H, Sugai H, Fujii H. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 4404-8.

IRIS. International Renal Interest Society Staging of CKD. 2023: http://www.iris-kidney.com/pdf/2_IRIS_Staging_of_CKD_2023.pdf abgerufen am 25.05.2024

Itoh H, Horiuchi Y, Nagasaki T, Sakonju I, Kakuta T, Fukushima U, Uchide T, Yamashita M, Kuwabara M, Yusa S, Takase K. Evaluation of immunological status in tumor-bearing dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 132: 85-90.

Jakubzick C, Gautier EL, Gibbings SL, Sojka DK, Schlitzer A, Johnson TE, Ivanov S, Duan Q, Bala S, Condon T, van Rooijen N, Grainger JR, Belkaid Y, Ma'ayan A, Riches DW, Yokoyama WM, Ginhoux F, Henson PM, Randolph GJ. Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. *Immunity* 2013; 39: 599-610.

Jakubzick CV, Randolph GJ, Henson PM. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat Rev Immunol* 2017; 17: 349-62.

Jarnicki AG, Lysaght J, Todryk S, Mills KH. Suppression of antitumor immunity by IL-10 and TGF-beta-producing T cells infiltrating the growing tumor: influence of tumor environment on the induction of CD4+ and CD8+ regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 896-904.

Jepson RE. Current Understanding of the Pathogenesis of Progressive Chronic Kidney Disease in Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2016; 46: 1015-48.

Johnston RJ, Poholek AC, DiToro D, Yusuf I, Eto D, Barnett B, Dent AL, Craft J, Crotty S. Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation. *Science* 2009; 325: 1006-10.

Joshi NS, Cui W, Chandele A, Lee HK, Urso DR, Hagman J, Gapin L, Kaech SM. Inflammation directs memory precursor and short-lived effector CD8(+) T cell fates via the graded expression of T-bet transcription factor. *Immunity* 2007; 27: 281-95.

Juneja VR, McGuire KA, Manguso RT, LaFleur MW, Collins N, Haining WN, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-L1 on tumor cells is sufficient for immune evasion in immunogenic tumors and inhibits CD8 T cell cytotoxicity. *J Exp Med* 2017; 214: 895-904.

Kaech SM, Cui W. Transcriptional control of effector and memory CD8+ T cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2012; 12: 749-61.

Kalia V, Sarkar S, Subramaniam S, Haining WN, Smith KA, Ahmed R. Prolonged interleukin-2/Ralpha expression on virus-specific CD8⁺ T cells favors terminal-effector differentiation in vivo. *Immunity* 2010; 32: 91-103.

Karayannopoulou M, Anagnostou T, Margariti A, Kostakis C, Kritsepi-Konstantinou M, Psalla D, Savvas I. Evaluation of blood T-lymphocyte subpopulations involved in host cellular immunity in dogs with mammary cancer. *Vet Immunol Immunopathol* 2017; 186: 45-50.

Kiss M, Caro AA, Raes G, Laoui D. Systemic Reprogramming of Monocytes in Cancer. *Front Oncol* 2020; 10: 1399.

Knutson KL, Disis ML. Tumor antigen-specific T helper cells in cancer immunity and immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2005; 54: 721-8.

Kobayashi T, Hamaguchi Y, Hasegawa M, Fujimoto M, Takehara K, Matsushita T. B cells promote tumor immunity against B16F10 melanoma. *Am J Pathol* 2014; 184: 3120-9.

Koga Y, Matsuzaki A, Suminoe A, Hattori H, Hara T. Neutrophil-derived TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL): a novel mechanism of antitumor effect by neutrophils. *Cancer Res* 2004; 64: 1037-43.

Komarova EA, Krivokrysenko V, Wang K, Neznanov N, Chernov MV, Komarov PG, Brennan ML, Golovkina TV, Rokhlin OW, Kuprash DV, Nedospasov SA, Hazen SL, Feinstein E, Gudkov AV. p53 is a suppressor of inflammatory response in mice. *Faseb j* 2005; 19: 1030-2.

Kowanetz M, Wu X, Lee J, Tan M, Hagenbeek T, Qu X, Yu L, Ross J, Korsisaari N, Cao T, Bou-Reslan H, Kallop D, Weimer R, Ludlam MJ, Kaminker JS, Modrusan Z, van Bruggen N, Peale FV, Carano R, Meng YG, Ferrara N. Granulocyte-colony stimulating factor promotes lung metastasis through mobilization of Ly6G⁺Ly6C⁺ granulocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 21248-55.

Krahwinkel DJ, Jr. Cryosurgical treatment of skin diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1980; 10: 787-801.

Kryczek I, Wei S, Zou L, Altuwaijri S, Szeliga W, Kolls J, Chang A, Zou W. Cutting edge: Th17 and regulatory T cell dynamics and the regulation by IL-2 in the tumor microenvironment. *J Immunol* 2007; 178: 6730-3.

Kumar BV, Connors TJ, Farber DL. Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life. *Immunity* 2018; 48: 202-13.

Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol* 2015; 15: 149-59.

Ladányi A. Prognostic and predictive significance of immune cells infiltrating cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015; 28: 490-500.

Lana SE, Ogilvie GK, Withrow SJ, Straw RC, Rogers KS. Feline cutaneous squamous cell carcinoma of the nasal planum and the pinnae: 61 cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 1997; 33: 329-32.

Lança T, Silva-Santos B. The split nature of tumor-infiltrating leukocytes: Implications for cancer surveillance and immunotherapy. *Oncoimmunology* 2012; 1: 717-25.

Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature* 1992; 358: 15-6.

Lavin Y, Kobayashi S, Leader A, Amir ED, Elefant N, Bigenwald C, Remark R, Sweeney R, Becker CD, Levine JH, Meinhof K, Chow A, Kim-Shulze S, Wolf A, Medaglia C, Li H, Rytlewski JA, Emerson RO, Solovyov A, Greenbaum BD, Sanders C, Vignali M, Beasley MB, Flores R, Gnjjatic S, Pe'er D, Rahman A, Amit I, Merad M. Innate Immune Landscape in Early Lung Adenocarcinoma by Paired Single-Cell Analyses. *Cell* 2017; 169: 750-65.e17.

Le L, Tokumaru Y, Oshi M, Asaoka M, Yan L, Endo I, Ishikawa T, Futamura M, Yoshida K, Takabe K. Th2 cell infiltrations predict neoadjuvant chemotherapy response of estrogen receptor-positive breast cancer. *Gland Surg* 2021; 10: 154-65.

Lee KM, Stott RT, Zhao G, SooHoo J, Xiong W, Lian MM, Fitzgerald L, Shi S, Akrawi E, Lei J, Deng S, Yeh H, Markmann JF, Kim JI. TGF- β -producing regulatory B cells induce regulatory T cells and promote transplantation tolerance. *Eur J Immunol* 2014; 44: 1728-36.

Li X, Yao W, Yuan Y, Chen P, Li B, Li J, Chu R, Song H, Xie D, Jiang X, Wang H. Targeting of tumour-infiltrating macrophages via CCL2/CCR2 signalling as a therapeutic strategy against hepatocellular carcinoma. *Gut* 2017; 66: 157-67.

Lieschke GJ, Grail D, Hodgson G, Metcalf D, Stanley E, Cheers C, Fowler KJ, Basu S, Zhan YF, Dunn AR. Mice lacking granulocyte colony-stimulating factor have chronic neutropenia, granulocyte and macrophage progenitor cell deficiency, and impaired neutrophil mobilization. *Blood* 1994; 84: 1737-46.

Lin EY, Li JF, Bricard G, Wang W, Deng Y, Sellers R, Porcelli SA, Pollard JW. Vascular endothelial growth factor restores delayed tumor progression in tumors depleted of macrophages. *Mol Oncol* 2007; 1: 288-302.

Lino M, Lanore D, Lajoinie M, Jimenez A, Crouzet F, Queiroga FL. Prognostic factors for cats with squamous cell carcinoma of the nasal planum following high-dose rate brachytherapy. *J Feline Med Surg* 2019; 21: 1157-64.

Liu F, Poursine-Laurent J, Wu HY, Link DC. Interleukin-6 and the granulocyte colony-stimulating factor receptor are major independent regulators of granulopoiesis in vivo but are not required for lineage commitment or terminal differentiation. *Blood* 1997; 90: 2583-90.

Liu Z, Tugulea S, Cortesini R, Suciu-Foca N. Specific suppression of T helper alloreactivity by allo-MHC class I-restricted CD8⁺CD28⁻ T cells. *Int Immunol* 1998; 10: 775-83.

López-Lago MA, Posner S, Thodima VJ, Molina AM, Motzer RJ, Chaganti RS. Neutrophil chemokines secreted by tumor cells mount a lung antimetastatic response during renal cell carcinoma progression. *Oncogene* 2013; 32: 1752-60.

Macfarlane L, Morris J, Pratschke K, Mellor D, Scase T, Macfarlane M, McLauchlan G. Diagnostic value of neutrophil-lymphocyte and albumin-globulin ratios in canine soft tissue sarcoma. *J Small Anim Pract* 2016a; 57: 135-41.

Macfarlane MJ, Macfarlane LL, Scase T, Parkin T, Morris JS. Use of neutrophil to lymphocyte ratio for predicting histopathological grade of canine mast cell tumours. *Vet Rec* 2016b; 179: 491.

Magne ML, Rodriguez CO, Autry SA, Edwards BF, Theon AP, Madewell BR. Photodynamic therapy of facial squamous cell carcinoma in cats using a new photosensitizer. *Lasers Surg Med* 1997; 20: 202-9.

Mangalam AK, Luckey D, Giri S, Smart M, Pease LR, Rodriguez M, David CS. Two discreet subsets of CD8 T cells modulate PLP(91-110) induced experimental autoimmune encephalomyelitis in HLA-DR3 transgenic mice. *J Autoimmun* 2012; 38: 344-53.

Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-4.

Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454: 436-44.

Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14: 399-416.

Mantovani A, Ponzetta A, Inforzato A, Jaillon S. Innate immunity, inflammation and tumour progression: double-edged swords. *J Intern Med* 2019; 285: 524-32.

Marconato L, Martini V, Stefanello D, Moretti P, Ferrari R, Comazzi S, Laganga P, Riondato F, Aresu L. Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio as a useful prognostic factor in dogs with diffuse large B-cell lymphoma receiving chemoimmunotherapy. *Vet J* 2015; 206: 226-30.

Markiewski MM, DeAngelis RA, Benencia F, Ricklin-Lichtsteiner SK, Koutoulaki A, Gerard C, Coukos G, Lambris JD. Modulation of the antitumor immune response by complement. *Nat Immunol* 2008; 9: 1225-35.

Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 221-41.

Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008; 454: 428-35.

Melzer K, Guscetti F, Rohrer Bley C, Sumova A, Roos M, Kaser-Hotz B. Ki67 reactivity in nasal and periocular squamous cell carcinomas in cats treated with electron beam radiation therapy. *J Vet Intern Med* 2006; 20: 676-81.

Menjivar RE, Nwosu ZC, Du W, Donahue KL, Hong HS, Espinoza C, Brown K, Velez-Delgado A, Yan W, Lima F, Bischoff A, Kadiyala P, Salas-Escabillas D, Crawford HC, Bednar F, Carpenter E, Zhang Y, Halbrook CJ, Lyssiotis CA, Pasca di Magliano M. Arginase 1 is a key driver of immune suppression in pancreatic cancer. *Elife* 2023; 12: e80721.

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: 389-95.

Mishalian I, Bayuh R, Levy L, Zolotarov L, Michaeli J, Fridlender ZG. Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62: 1745-56.

Mishalian I, Bayuh R, Eruslanov E, Michaeli J, Levy L, Zolotarov L, Singhal S, Albelda SM, Granot Z, Fridlender ZG. Neutrophils recruit regulatory T-cells into tumors via secretion of CCL17--a new mechanism of impaired antitumor immunity. *Int J Cancer* 2014; 135: 1178-86.

Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20: 1126-67.

Mittrücker HW, Visekruna A, Huber M. Heterogeneity in the differentiation and function of CD8⁺ T cells. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2014; 62: 449-58.

Molineux G, Migdalska A, Szmitkowski M, Zsebo K, Dexter TM. The effects on hematopoiesis of recombinant stem cell factor (ligand for c-kit) administered in vivo to mice either alone or in combination with granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1991; 78: 961-6.

Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. B-1 B cell development in the fetus and adult. *Immunity* 2012; 36: 13-21.

Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.

Movahedi K, Laoui D, Gysemans C, Baeten M, Stangé G, Van den Bossche J, Mack M, Pipeleers D, In't Veld P, De Baetselier P, Van Ginderachter JA. Different tumor microenvironments contain functionally distinct subsets of macrophages derived from Ly6C(high) monocytes. *Cancer Res* 2010; 70: 5728-39.

Munday JS, Gibson I, French AF. Papillomaviral DNA and increased p16CDKN2A protein are frequently present within feline cutaneous squamous cell carcinomas in ultraviolet-protected skin. *Vet Dermatol* 2011; 22: 360-6.

Murdoch C, Tazzyman S, Webster S, Lewis CE. Expression of Tie-2 by human monocytes and their responses to angiopoietin-2. *J Immunol* 2007; 178: 7405-11.

Murphy KM, Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 933-44.

Murphy S. Cutaneous squamous cell carcinoma in the cat: current understanding and treatment approaches. *J Feline Med Surg* 2013; 15: 401-7.

Murugaiyan G, Saha B. Protumor vs antitumor functions of IL-17. *J Immunol* 2009; 183: 4169-75.

Mutz M, Boudreaux B, Kearney M, Stroda K, Gaunt S, Shiomitsu K. Prognostic value of baseline absolute lymphocyte concentration and neutrophil/lymphocyte ratio in dogs with newly diagnosed multi-centric lymphoma. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 337-47.

Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo JL, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ. The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J Exp Med* 2007; 204: 3037-47.

Naito E, Yuki M, Hirano T, Kainuma D, Aoyama R. Prognostic utility of preoperative neutrophil-lymphocyte ratio in cats with malignant mammary tumors. *Res Vet Sci* 2021; 135: 349-54.

Nakamura K, Kitani A, Fuss I, Pedersen A, Harada N, Nawata H, Strober W. TGF-beta 1 plays an important role in the mechanism of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell activity in both humans and mice. *J Immunol* 2004; 172: 834-42.

Nakazawa H, English D, Randell PL, Nakazawa K, Martel N, Armstrong BK, Yamasaki H. UV and skin cancer: specific p53 gene mutation in normal skin as a biologically relevant exposure measurement. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 360-4.

Narayanan DL, Saladi RN, Fox JL. Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int J Dermatol* 2010; 49: 978-86.

Nelson BH. CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 2010; 185: 4977-82.

Nelson MA, Ngamcherdtrakul W, Luoh SW, Yantasee W. Prognostic and therapeutic role of tumor-infiltrating lymphocyte subtypes in breast cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2021; 40: 519-36.

Netea MG, Joosten LA, Latz E, Mills KH, Natoli G, Stunnenberg HG, O'Neill LA, Xavier RJ. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* 2016; 352: aaf1098.

Nguyen SM, Thamm DH, Vail DM, London CA. Response evaluation criteria for solid tumours in dogs (v1.0): a Veterinary Cooperative Oncology Group (VCOG) consensus document. *Vet Comp Oncol* 2015; 13: 176-83.

Niogret J, Berger H, Rebe C, Mary R, Ballot E, Truntzer C, Thibaudin M, Derangère V, Hibos C, Hampe L, Rageot D, Accogli T, Joubert P, Routy B, Harker J, Vegran F, Ghiringhelli F, Chalmin F. Follicular helper-T cells restore CD8(+)-dependent antitumor immunity and anti-PD-L1/PD-1 efficacy. *J Immunother Cancer* 2021; 9: e002157.

Nishijima TF, Muss HB, Shachar SS, Tamura K, Takamatsu Y. Prognostic value of lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2015; 41: 971-8.

Noy R, Pollard JW. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy. *Immunity* 2014; 41: 49-61.

Nozawa H, Chiu C, Hanahan D. Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12493-8.

Nurieva RI, Chung Y, Martinez GJ, Yang XO, Tanaka S, Matskevitch TD, Wang YH, Dong C. Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells. *Science* 2009; 325: 1001-5.

O'Neill K, Guth A, Biller B, Elmslie R, Dow S. Changes in regulatory T cells in dogs with cancer and associations with tumor type. *J Vet Intern Med* 2009; 23: 875-81.

O'Neill SH, Newkirk KM, Anis EA, Brahmabhatt R, Frank LA, Kania SA. Detection of human papillomavirus DNA in feline premalignant and invasive squamous cell carcinoma. *Vet Dermatol* 2011; 22: 68-74.

Ocana A, Nieto-Jiménez C, Pandiella A, Templeton AJ. Neutrophils in cancer: prognostic role and therapeutic strategies. *Mol Cancer* 2017; 16: 137.

Ogilvie GK, Moore AS, Obradovich JE, Elmslie RE, Vail DM, Straw RC, Salmon MD, Klein MK, Atwater SW, Ciekot PE. Toxicoses and efficacy associated with administration of mitoxantrone to cats with malignant tumors. *J Am Vet Med Assoc* 1993; 202: 1839-44.

Olingy CE, San Emeterio CL, Ogle ME, Krieger JR, Bruce AC, Pfau DD, Jordan BT, Peirce SM, Botchwey EA. Non-classical monocytes are biased progenitors of wound healing macrophages during soft tissue injury. *Sci Rep* 2017; 7: 447.

Olingy CE, Dinh HQ, Hedrick CC. Monocyte heterogeneity and functions in cancer. *J Leukoc Biol* 2019; 106: 309-22.

Owen LN. TNM classification of tumours in domestic animals. 1 edn: Geneva, World Health Organization 1980: 12-13

Pan Y, Yu Y, Wang X, Zhang T. Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. *Front Immunol* 2020; 11: 583084.

Pandiyani P, Zheng L, Ishihara S, Reed J, Lenardo MJ. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4⁺ T cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 1353-62.

Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, Zychlinsky A. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2010; 191: 677-91.

Park HJ, Park JS, Jeong YH, Son J, Ban YH, Lee BH, Chen L, Chang J, Chung DH, Choi I, Ha SJ. PD-1 upregulated on regulatory T cells during chronic virus infection enhances the suppression of CD8⁺ T cell immune response via the interaction with PD-L1 expressed on CD8⁺ T cells. *J Immunol* 2015; 194: 5801-11.

Park J, Wysocki RW, Amoozgar Z, Maiorino L, Fein MR, Jorns J, Schott AF, Kinugasa-Katayama Y, Lee Y, Won NH, Nakasone ES, Hearn SA, Küttner V, Qiu J, Almeida AS, Perurena N, Kessenbrock K, Goldberg MS, Egeblad M. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps. *Sci Transl Med* 2016; 8: 361ra138.

Patel AA, Zhang Y, Fullerton JN, Boelen L, Rongvaux A, Maini AA, Bigley V, Flavell RA, Gilroy DW, Asquith B, Macallan D, Yona S. The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *J Exp Med* 2017; 214: 1913-23.

Perry JA, Thamm DH, Eickhoff J, Avery AC, Dow SW. Increased monocyte chemotactic protein-1 concentration and monocyte count independently associate with a poor prognosis in dogs with lymphoma. *Vet Comp Oncol* 2011; 9: 55-64.

Petrucci GN, Lobo L, Queiroga F, Martins J, Prada J, Pires I, Henriques J. Neutrophil-to-lymphocyte ratio is an independent prognostic marker for feline mammary carcinomas. *Vet Comp Oncol* 2021; 19: 482-91.

Philip M, Schietinger A. CD8(+) T cell differentiation and dysfunction in cancer. *Nat Rev Immunol* 2021; 2: 209-223.

Pipkin ME, Sacks JA, Cruz-Guilloty F, Lichtenheld MG, Bevan MJ, Rao A. Interleukin-2 and inflammation induce distinct transcriptional programs that promote the differentiation of effector cytolytic T cells. *Immunity* 2010; 32: 79-90.

Pollard JW. Trophic macrophages in development and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 259-70.

Ponzetta A, Carriero R, Carnevale S, Barbagallo M, Molgora M, Perucchini C, Magrini E, Gianni F, Kunderfranco P, Polentarutti N, Pasqualini F, Di Marco S, Supino D, Peano C, Cananzi F, Colombo P, Pilotti S, Alomar SY, Bonavita E, Galdiero MR, Garlanda C, Mantovani A, Jaillon S. Neutrophils Driving Unconventional T Cells Mediate Resistance against Murine Sarcomas and Selected Human Tumors. *Cell* 2019; 178: 346-60.e24.

Qian B, Deng Y, Im JH, Muschel RJ, Zou Y, Li J, Lang RA, Pollard JW. A distinct macrophage population mediates metastatic breast cancer cell extravasation, establishment and growth. *PLoS One* 2009; 4: e6562.

Qian BZ, Li J, Zhang H, Kitamura T, Zhang J, Campion LR, Kaiser EA, Snyder LA, Pollard JW. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis. *Nature* 2011; 475: 222-5.

Qiu J, Shi W, Zhang J, Gao Q, Feng L, Zhuang Z. Peripheral CD4(+)CD25(hi)CD127(low) regulatory T cells are increased in patients with gastrointestinal cancer. *BMC Gastroenterol* 2023; 23: 168.

Qu C, Edwards EW, Tacke F, Angeli V, Llodrá J, Sanchez-Schmitz G, Garin A, Haque NS, Peters W, van Rooijen N, Sanchez-Torres C, Bromberg J, Charo IF, Jung S, Lira SA, Randolph GJ. Role of CCR8 and other chemokine pathways in the migration of monocyte-derived dendritic cells to lymph nodes. *J Exp Med* 2004; 200: 1231-41.

Quail DF, Olson OC, Bhardwaj P, Walsh LA, Akkari L, Quick ML, Chen IC, Wendel N, Ben-Chetrit N, Walker J, Holt PR, Dannenberg AJ, Joyce JA. Obesity alters the lung myeloid cell landscape to enhance breast cancer metastasis through IL5 and GM-CSF. *Nat Cell Biol* 2017; 19: 974-87.

Quail DF, Dannenberg AJ. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nat Rev Endocrinol* 2019; 15: 139-54.

Rastogi I, Jeon D, Moseman JE, Muralidhar A, Potluri HK, McNeel DG. Role of B cells as antigen presenting cells. *Front Immunol* 2022; 13: 954936.

Ray-Coquard I, Cropet C, Van Glabbeke M, Sebban C, Le Cesne A, Judson I, Tredan O, Verweij J, Biron P, Labidi I, Guastalla JP, Bachelot T, Perol D, Chabaud S, Hogendoorn PC, Cassier P, Dufresne A, Blay JY. Lymphopenia as a prognostic factor for overall survival in advanced carcinomas, sarcomas, and lymphomas. *Cancer Res* 2009; 69: 5383-91.

Rejec A, Butinar J, Gawor J, Petelin M. Evaluation of Complete Blood Count Indices (NLR, PLR, MPV/PLT, and PLCRi) in Healthy Dogs, Dogs With Periodontitis, and Dogs With Oropharyngeal Tumors as Potential Biomarkers of Systemic Inflammatory Response. *J Vet Dent* 2017; 34: 231-40.

Robbins CS, Chudnovskiy A, Rauch PJ, Figueiredo JL, Iwamoto Y, Gorbatov R, Etzrodt M, Weber GF, Ueno T, van Rooijen N, Mulligan-Kehoe MJ, Libby P, Nahrendorf M, Pittet MJ, Weissleder R, Swirski FK. Extramedullary hematopoiesis generates Ly-6C(high) monocytes that infiltrate atherosclerotic lesions. *Circulation* 2012; 125: 364-74.

Rodriguez PC, Quiceno DG, Zabaleta J, Ortiz B, Zea AH, Piazuelo MB, Delgado A, Correa P, Brayer J, Sotomayor EM, Antonia S, Ochoa JB, Ochoa AC. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses. *Cancer Res* 2004; 64: 5839-49.

Rohrer Bley C, Wolf F, Gonçalves Jorge P, Grilj V, Petridis I, Petit B, Böhlen TT, Moeckli R, Limoli C, Bourhis J, Meier V, Vozenin MC. Dose- and Volume-Limiting Late Toxicity of FLASH Radiotherapy in Cats with Squamous Cell Carcinoma of the Nasal Planum and in Mini Pigs. *Clin Cancer Res* 2022; 28: 3814-23.

Rolny C, Mazzone M, Tugues S, Laoui D, Johansson I, Coulon C, Squadrito ML, Segura I, Li X, Knevels E, Costa S, Vinckier S, Dresselaer T, Åkerud P, De Mol M, Salomäki H, Phillipson M, Wyns S, Larsson E, Buysschaert I, Botling J, Himmelreich U, Van Ginderachter JA, De Palma M, Dewerchin M, Claesson-Welsh L, Carmeliet P. HRG inhibits tumor growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization through downregulation of PlGF. *Cancer Cell* 2011; 19: 31-44.

Rossetti RAM, Lorenzi NPC, Yokochi K, Rosa M, Benevides L, Margarido PFR, Baracat EC, Carvalho JP, Villa LL, Lepique AP. B lymphocytes can be activated to act as antigen presenting cells to promote anti-tumor responses. *PLoS One* 2018; 13: e0199034.

Rotondo R, Barisione G, Mastracci L, Grossi F, Orenco AM, Costa R, Truini M, Fabbi M, Ferrini S, Barbieri O. IL-8 induces exocytosis of arginase 1 by neutrophil polymorphonuclears in nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2009; 125: 887-93.

Rubtsov YP, Rasmussen JP, Chi EY, Fontenot J, Castelli L, Ye X, Treuting P, Siewe L, Roers A, Henderson WR, Jr., Muller W, Rudensky AY. Regulatory T cell-derived interleukin-10 limits inflammation at environmental interfaces. *Immunity* 2008; 28: 546-58.

Ruffell B, Affara NI, Coussens LM. Differential macrophage programming in the tumor microenvironment. *Trends Immunol* 2012; 33: 119-26.

Ryder M, Ghossein RA, Ricarte-Filho JC, Knauf JA, Fagin JA. Increased density of tumor-associated macrophages is associated with decreased survival in advanced thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15: 1069-74.

Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, Tanaka A, Ichiyama K, Ohkura N. Regulatory T Cells and Human Disease. *Annu Rev Immunol* 2020; 38: 541-66.

Sawanobori Y, Ueha S, Kurachi M, Shimaoka T, Talmadge JE, Abe J, Shono Y, Kitabatake M, Kakimi K, Mukaida N, Matsushima K. Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *Blood* 2008; 111: 5457-66.

Schietinger A, Philip M, Krisnawan VE, Chiu EY, Delrow JJ, Basom RS, Lauer P, Brockstedt DG, Knoblaugh SE, Hämmerling GJ, Schell TD, Garbi N, Greenberg PD. Tumor-Specific T Cell Dysfunction Is a Dynamic Antigen-Driven Differentiation Program Initiated Early during Tumorigenesis. *Immunity* 2016; 45: 389-401.

Schlecker E, Stojanovic A, Eisen C, Quack C, Falk CS, Umansky V, Cerwenka A. Tumor-infiltrating monocytic myeloid-derived suppressor cells mediate CCR5-dependent recruitment of regulatory T cells favoring tumor growth. *J Immunol* 2012; 189: 5602-11.

Seddon A, Hock B, Miller A, Frei L, Pearson J, McKenzie J, Simcock J, Currie M. Cutaneous squamous cell carcinomas with markers of increased metastatic risk are associated with elevated numbers of neutrophils and/or granulocytic myeloid derived suppressor cells. *J Dermatol Sci* 2016; 83: 124-30.

Semerad CL, Liu F, Gregory AD, Stumpf K, Link DC. G-CSF is an essential regulator of neutrophil trafficking from the bone marrow to the blood. *Immunity* 2002; 17: 413-23.

Seymour JF, Lieschke GJ, Grail D, Quilici C, Hodgson G, Dunn AR. Mice lacking both granulocyte colony-stimulating factor (CSF) and granulocyte-macrophage CSF have impaired reproductive capacity, perturbed neonatal granulopoiesis, lung disease, amyloidosis, and reduced long-term survival. *Blood* 1997; 90: 3037-49.

Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmacili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT, Sahebkar A. Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol* 2018; 233: 6425-40.

Shaul ME, Levy L, Sun J, Mishalian I, Singhal S, Kapoor V, Horng W, Fridlender G, Albelda SM, Fridlender ZG. Tumor-associated neutrophils display a distinct N1 profile following TGF β modulation: A transcriptomics analysis of pro- vs. antitumor TANs. *Oncoimmunology* 2016; 5: e1232221.

Shaul ME, Fridlender ZG. Cancer-related circulating and tumor-associated neutrophils - subtypes, sources and function. *Febs j* 2018; 285: 4316-42.

Shen M, Sun Q, Wang J, Pan W, Ren X. Positive and negative functions of B lymphocytes in tumors. *Oncotarget* 2016; 7: 55828-39.

Skor O, Fuchs-Baumgartinger A, Tichy A, Kleiter M, Schwendenwein I. Pretreatment leukocyte ratios and concentrations as predictors of outcome in dogs with cutaneous mast cell tumours. *Vet Comp Oncol* 2017; 15: 1333-45.

Smith KM, Pottage L, Thomas ER, Leishman AJ, Doig TN, Xu D, Liew FY, Garside P. Th1 and Th2 CD4⁺ T cells provide help for B cell clonal expansion and antibody synthesis in a similar manner in vivo. *J Immunol* 2000; 165: 3136-44.

Sottnik JL, Rao S, Lafferty MH, Thamm DH, Morley PS, Withrow SJ, Dow SW. Association of blood monocyte and lymphocyte count and disease-free interval in dogs with osteosarcoma. *J Vet Intern Med* 2010; 24: 1439-44.

Sparger EE, Murphy BG, Kamal FM, Arzi B, Naydan D, Skouritakis CT, Cox DP, Skorupski K. Investigation of immune cell markers in feline oral squamous cell carcinoma. *Vet Immunol Immunopathol* 2018; 202: 52-62.

Spiegel A, Brooks MW, Houshyar S, Reinhardt F, Ardolino M, Fessler E, Chen MB, Krall JA, DeCock J, Zervantonakis IK, Iannello A, Iwamoto Y, Cortez-Retamozo V, Kamm RD, Pittet MJ, Raulet DH, Weinberg RA. Neutrophils Suppress Intraluminal NK Cell-Mediated Tumor Cell Clearance and Enhance Extravasation of Disseminated Carcinoma Cells. *Cancer Discov* 2016; 6: 630-49.

Spugnini EP, Vincenzi B, Citro G, Tonini G, Dotsinsky I, Mudrov N, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: a preliminary report. *Vet J* 2009; 179: 117-20.

Spugnini EP, Pizzuto M, Filipponi M, Romani L, Vincenzi B, Menicagli F, Lanza A, De Girolamo R, Lomonaco R, Fanciulli M, Spriano G, Baldi A. Electroporation Enhances Bleomycin Efficacy in Cats with Periocular Carcinoma and Advanced Squamous Cell Carcinoma of the Head. *J Vet Intern Med* 2015; 29: 1368-75.

Stark MA, Huo Y, Burcin TL, Morris MA, Olson TS, Ley K. Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17. *Immunity* 2005; 22: 285-94.

Steinbach KH, Schick P, Trepel F, Raffler H, Döhrmann J, Heilgeist G, Heltzel W, Li K, Past W, van der Woerd-de Lange JA, Theml H, Flidner TM, Begemann H. Estimation of kinetic parameters of neutrophilic, eosinophilic, and basophilic granulocytes in human blood. *Blut* 1979; 39: 27-38.

Stockham SL, Scott MA. Leukocytes. In: *Fundamentals of veterinary clinical pathology*, 2 edn: Iowa state press 2002: 53-106.

Stockham SL, Keeton KS, Szladovits B. Clinical assessment of leukocytosis: distinguishing leukocytoses caused by inflammatory, glucocorticoid, physiologic, and leukemic disorders or conditions. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 1335-57.

Su J, Xie Q, Xu Y, Li XC, Dai Z. Role of CD8(+) regulatory T cells in organ transplantation. *Burns Trauma* 2014; 2: 18-23.

Swan MB, Morrow DM, Lurie DM. Pilot study evaluating stereotactic body radiation therapy for feline facial squamous cell carcinomas. *J Feline Med Surg* 2021: 1098612x21994391.

Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000; 100: 655-69.

Szczerba BM, Castro-Giner F, Vetter M, Krol I, Gkountela S, Landin J, Scheidmann MC, Donato C, Scherrer R, Singer J, Beisel C, Kurzeder C, Heinzelmann-Schwarz V, Rochlitz C, Weber WP, Beerenwinkel N, Aceto N. Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression. *Nature* 2019; 566: 553-7.

Tadmor T, Bari A, Sacchi S, Marcheselli L, Liardo EV, Avivi I, Benyamini N, Attias D, Pozzi S, Cox MC, Baldini L, Brugiattelli M, Federico M, Polliack A. Monocyte count at diagnosis is a prognostic parameter in diffuse large B-cell lymphoma: results from a large multicenter study involving 1191 patients in the pre- and post-rituximab era. *Haematologica* 2014; 99: 125-30.

Tagawa M, Shimbo G, Miyahara K. Prognostic role of lymphocyte to monocyte ratio in feline high-grade lymphomas. *Can Vet J* 2021; 62: 1095-103.

Takahashi H, Ogata H, Nishigaki R, Broide DH, Karin M. Tobacco smoke promotes lung tumorigenesis by triggering IKKbeta- and JNK1-dependent inflammation. *Cancer Cell* 2010; 17: 89-97.

Tassi E, Gavazzi F, Albarello L, Senyukov V, Longhi R, Dellabona P, Doglioni C, Braga M, Di Carlo V, Protti MP. Carcinoembryonic antigen-specific but not antiviral CD4+ T cell immunity is impaired in pancreatic carcinoma patients. *J Immunol* 2008; 181: 6595-603.

Teifke JP, Löhr CV. Immunohistochemical detection of P53 overexpression in paraffin wax-embedded squamous cell carcinomas of cattle, horses, cats and dogs. *J Comp Pathol* 1996; 114: 205-10.

Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, Leibowitz-Amit R, Sonpavde G, Knox JJ, Tran B, Tannock IF, Amir E. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106: dju124.

Théon AP, Madewell BR, Shearn VI, Moulton JE. Prognostic factors associated with radiotherapy of squamous cell carcinoma of the nasal plane in cats. *J Am Vet Med Assoc* 1995; 206: 991-6.

Théon AP, VanVechten MK, Madewell BR. Intratumoral administration of carboplatin for treatment of squamous cell carcinomas of the nasal plane in cats. *Am J Vet Res* 1996; 57: 205-10.

Thomson M. Squamous cell carcinoma of the nasal planum in cats and dogs. *Clin Tech Small Anim Pract* 2007; 22: 42-5.

Tiemessen MM, Jagger AL, Evans HG, van Herwijnen MJ, John S, Taams LS. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce alternative activation of human monocytes/macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 19446-51.

Tosolini M, Kirilovsky A, Mlecnik B, Fredriksen T, Mauger S, Bindea G, Berger A, Bruneval P, Fridman WH, Pagès F, Galon J. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 1263-71.

Tsouloufi TK, Frezoulis PS, Soubasis N, Kritsepi-Konstantinou M, Oikonomidis IL. Diagnostic and prognostic value of peripheral blood leucocyte ratios in sick cats. *Acta Vet Hung* 2021;

Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179-89.

Veluvolu S, Pellin M, Vos N. Evaluation of neutrophilia as a prognostic factor in dogs with multicentric lymphoma treated with a cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone-based chemotherapy protocol. *J Am Vet Med Assoc* 2021; 259: 494-502.

Venneri MA, De Palma M, Ponzoni M, Pucci F, Scielzo C, Zonari E, Mazzieri R, Doglioni C, Naldini L. Identification of proangiogenic TIE2-expressing monocytes (TEMs) in human peripheral blood and cancer. *Blood* 2007; 109: 5276-85.

Vozenin MC, De Fornel P, Petersson K, Favaudon V, Jaccard M, Germond JF, Petit B, Burki M, Ferrand G, Patin D, Bouchaab H, Ozsahin M, Bochud F, Bailat C, Devauchelle P, Bourhis J. The Advantage of FLASH Radiotherapy Confirmed in Mini-pig and Cat-cancer Patients. *Clin Cancer Res* 2019; 25: 35-42.

Walker LSK. The link between circulating follicular helper T cells and autoimmunity. *Nat Rev Immunol* 2022; 22: 567-75.

Wang RX, Yu CR, Dambuza IM, Mahdi RM, Dolinska MB, Sergeev YV, Wingfield PT, Kim SH, Egwuagu CE. Interleukin-35 induces regulatory B cells that suppress autoimmune disease. *Nat Med* 2014; 20: 633-41.

Wang TT, Zhao YL, Peng LS, Chen N, Chen W, Lv YP, Mao FY, Zhang JY, Cheng P, Teng YS, Fu XL, Yu PW, Guo G, Luo P, Zhuang Y, Zou QM. Tumour-activated neutrophils in gastric cancer foster immune suppression and disease progression through GM-CSF-PD-L1 pathway. *Gut* 2017a; 66: 1900-11.

Wang X, Lu XJ, Sun B. The pros and cons of dying tumour cells in adaptive immune responses. *Nat Rev Immunol* 2017b; 17: 591.

Watabe A, Fukumoto S, Komatsu T, Endo Y, Kadosawa T. Alterations of lymphocyte subpopulations in healthy dogs with aging and in dogs with cancer. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 142: 189-200.

Weaver CT, Harrington LE, Mangan PR, Gavrieli M, Murphy KM. Th17: an effector CD4 T cell lineage with regulatory T cell ties. *Immunity* 2006; 24: 677-88.

Wilson CB, Rowell E, Sekimata M. Epigenetic control of T-helper-cell differentiation. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 91-105.

Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, Basham B, Smith K, Chen T, Morel F, Lecron JC, Kastelein RA, Cua DJ, McClanahan TK, Bowman EP, de Waal Malefyt R. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 950-7.

Wing JB, Ise W, Kurosaki T, Sakaguchi S. Regulatory T cells control antigen-specific expansion of Tfh cell number and humoral immune responses via the coreceptor CTLA-4. *Immunity* 2014; 41: 1013-25.

Wong KL, Tai JJ, Wong WC, Han H, Sem X, Yeap WH, Kourilsky P, Wong SC. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood* 2011; 118: e16-31.

Wyckoff J, Wang W, Lin EY, Wang Y, Pixley F, Stanley ER, Graf T, Pollard JW, Segall J, Condeelis J. A paracrine loop between tumor cells and macrophages is required for tumor cell migration in mammary tumors. *Cancer Res* 2004; 64: 7022-9.

Wyckoff JB, Wang Y, Lin EY, Li JF, Goswami S, Stanley ER, Segall JE, Pollard JW, Condeelis J. Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors. *Cancer Res* 2007; 67: 2649-56.

Xu Z, Ho S, Chang CC, Zhang QY, Vasilescu ER, Vlad G, Suci-Foca N. Molecular and Cellular Characterization of Human CD8 T Suppressor Cells. *Front Immunol* 2016; 7: 549.

Yasuoka H, Asai A, Ohama H, Tsuchimoto Y, Fukunishi S, Higuchi K. Increased both PD-L1 and PD-L2 expressions on monocytes of patients with hepatocellular carcinoma was associated with a poor prognosis. *Sci Rep* 2020; 10: 10377.

Yona S, Kim KW, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, Strauss-Ayali D, Viukov S, Guillemins M, Misharin A, Hume DA, Perlman H, Malissen B, Zelzer E, Jung S. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity* 2013; 38: 79-91.

Yu Y, Ma X, Gong R, Zhu J, Wei L, Yao J. Recent advances in CD8(+) regulatory T cell research. *Oncol Lett* 2018; 15: 8187-94.

Zhang Y, Morgan R, Podack ER, Rosenblatt J. B cell regulation of anti-tumor immune response. *Immunol Res* 2013; 57: 115-24.

Zhang Y, Morgan R, Chen C, Cai Y, Clark E, Khan WN, Shin SU, Cho HM, Al Bayati A, Pimentel A, Rosenblatt JD. Mammary-tumor-educated B cells acquire LAP/TGF- β and PD-L1 expression and suppress anti-tumor immune responses. *Int Immunol* 2016; 28: 423-33.

Zhao Y, Zou W, Du J, Zhao Y. The origins and homeostasis of monocytes and tissue-resident macrophages in physiological situation. *J Cell Physiol* 2018; 233: 6425-39.

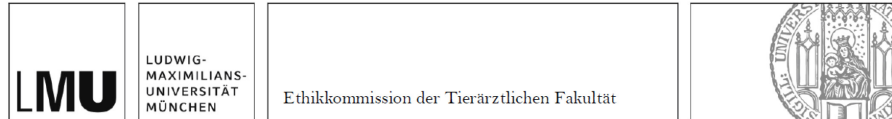
Zhou L, Ivanov, II, Spolski R, Min R, Shenderov K, Egawa T, Levy DE, Leonard WJ, Littman DR. IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways. *Nat Immunol* 2007; 8: 967-74.

Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, Leenen PJ, Liu YJ, MacPherson G, Randolph GJ, Scherberich J, Schmitz J, Shortman K, Sozzani S, Strobl H, Zembala M, Austyn JM, Lutz MB. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 2010; 116: e74-80.

Ziegler-Heitbrock L. Reprint of: Monocyte subsets in man and other species. *Cell Immunol* 2014; 291: 11-5.

IX. ANHANG

1. Beurteilung des Ethikkommissionsantrag



Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät
Ludwig-Maximilians-Universität München

An
Prof. Dr. Johannes Hirschberger
Farina Anath Kerneck
Medizinische Kleintierklinik der LMU München

Prof. Dr. Ralf S. Mueller
Vorsitzender der
Ethikkommission
Tierärztliche Fakultät

der LMU München
Telefon +49 (0)89 2180-2654
Telefax +49 (0)89 2180-6240

r.mueller@medizinische-
kleintierklinik.de

Studie „Das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis als prognostischer Faktor bei Katzen mit Plattenepithelkarzinomen“, AZ 235-03-11-2020

München, 03.11.2020

Sehr geehrter Herr Prof. Hirschberger, sehr geehrte Frau Kerneck,

Sie haben die Studie „Das Neutrophilen-Lymphozyten-Verhältnis als prognostischer Faktor bei Katzen mit Plattenepithelkarzinomen“ bei der Ethikkommission der Tierärztlichen Fakultät der LMU München zur Beurteilung eingereicht. Gemäß der von Ihnen vorgelegten Informationen findet in dieser Studie keine Intervention an lebenden Tieren statt. Damit besteht auch nicht die Möglichkeit, dass durch diese Studie Tieren Leiden oder Schmerzen zugefügt werden. Daher sehen wir die Studie aus tierschutzrechtlicher Sicht als unbedenklich an. Sie ist im Sinne des Deutschen Tierschutzgesetzes kein Tierversuch und eine Beurteilung durch die Ethikkommission ist daher nicht erforderlich.

Hochachtungsvoll

Ralf Mueller

Prof. Dr. Ralf S. Mueller
Vorsitzender der Ethikkommission
Tierärztliche Fakultät, LMU München

Dienstgebäude
Veterinärstr. 13
80539 München

U-Bahn: Linie U3 oder U6,
Haltestelle Universität,
Bushaltestelle Universität (Linie 154).

Bayerische Landesbank München
Kto. 24 868 BLZ 700 500 00
UST-IdNr. DE 811 205 325

X. DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Betreuer, Prof. Dr. Johannes Hirschberger, für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die professionelle, geduldige und immer freundliche Betreuung und Unterstützung bei der Anfertigung dieser Doktorarbeit.

Zudem bedanke ich mich bei dem gesamten Team der Medizinischen Kleintierklinik der Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, insbesondere dem Team der Strahlentherapie und den Mitarbeitern im Labor, die in den Jahren 2011 bis 2020, durch die Ausführung der Laboruntersuchungen sowie der Untersuchung, Therapie und der Nachuntersuchungen der Katzen inklusive der Dokumentation der Daten, diese retrospektive Doktorarbeit möglich gemacht haben.

Ein großer Dank für die statistische Beratung geht an Eric und meine Schwester Lianna.

Zudem möchte ich mich ganz besonders bei Karin, Ralph, Jelena und Nora für den fachlichen Austausch und die motivierenden Worte bedanken.

Danke an Christine, Laura, Eva, Lena, Lianna, Alina, Uwe und Niklas für die orthographische Korrektur dieser Doktorarbeit.

Ein besonders großer Dank geht an meine Eltern, Christine und Jens, die mir das Studium und die Promotionszeit durch ihre unermüdliche Unterstützung ermöglicht und immer an mich geglaubt haben. Außerdem möchte ich mich bei meinem Bruder, Benjamin und bei Lena für die großzügige Unterstützung während dieser Zeit bedanken.

Auch meinem Freund Uwe möchte ich für seine ausdauernde und liebevolle Unterstützung und immerwährende Motivation und Aufmunterung danken.

Danke auch an meine Freundinnen und Freunde, die zu mir gehalten und an mich geglaubt haben.