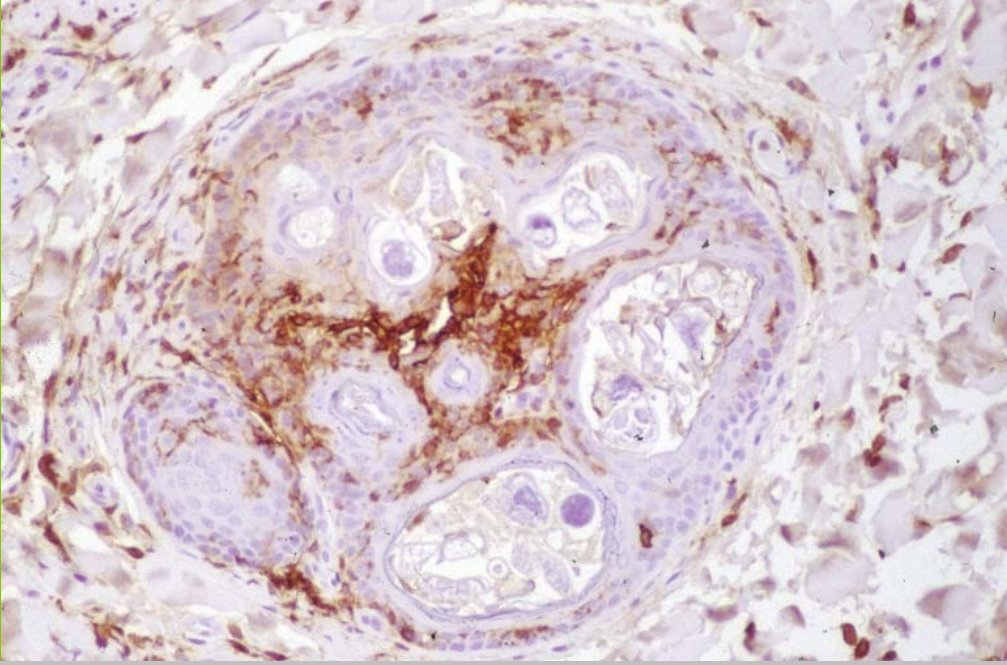


Maike Huisinga



**Immunhistologische Untersuchung
zur MHC II-Expression
bei Dermatitisen
von Hunden und Katzen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet. beim Fachbereich
Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. M. Reinacher

**Immunhistologische Untersuchung zur MHC II-Expression
bei Dermatitisen von Hunden und Katzen**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
Maïke Huisinga
Tierärztin aus Friedberg Hessen

Gießen, 2008

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Gutachter:

Prof. Dr. M. Reinacher

Prof. Dr. Dr. S. Arnhold

Tag der Disputation: 21.02.2008

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Literaturübersicht | 2 |
| 2.1 | Der Haupthistokompatibilitätskomplex | 2 |
| 2.2 | Besonderheiten des MHC II beim Hund | 6 |
| 2.3 | Besonderheiten des MHC bei der Katze | 7 |
| 2.4 | Das Immunsystem der Haut und die Bedeutung der MHC - Antigene in der Haut | 7 |
| 2.5 | Expression der MHC II-Antigene bei Dermatitiden | 13 |
| 2.5.1 | Humane Dermatitiden | 14 |
| 2.5.2 | Canine Dermatitiden | 15 |
| 2.5.3 | Feline Dermatitiden | 16 |
| 2.6 | Diagnosen auf der Basis histopathologischer Muster (pattern analysis) | 17 |
| 3 | Material und Methoden | 18 |
| 3.1 | Untersuchungsmaterial | 18 |
| 3.2 | Vorberichte | 18 |
| 3.3 | Bearbeitung von Formalin-fixiertem Material für die lichtmikroskopische Untersuchung | 19 |
| 3.4 | Histopathologie | 19 |
| 3.5 | Immunhistologie | 19 |
| 3.5.1 | Seren und Antiseren | 19 |
| 3.5.1.1 | Ratten-, Kaninchen-, Pferde- und Schweineserum | 19 |
| 3.5.1.2 | Antiseren | 20 |
| 3.5.1.2.1 | Primärantikörper | 20 |
| 3.5.1.2.2 | Verwendete Sekundärantikörper | 21 |
| 3.5.1.2.3 | Tertiärantikörper und Detektionssysteme | 21 |
| 3.5.1.3 | Antigen-Demaskierung | 22 |
| 3.5.2 | Immunhistologischer Nachweis von MHC II | 22 |

| | | |
|------------|---|----|
| 3.5.2.1 | Immunhistologischer Nachweis der α -Kette des MHC II des Menschen (HLA-DR) | 22 |
| 3.5.2.2 | Immunhistologischer Nachweis der β -Kette des felines MHC II | 23 |
| 3.5.3 | Immunhistologischer Nachweis des von-Willebrandt-Faktors | 24 |
| 3.5.4 | Immunhistologischer Nachweis von Laminin | 25 |
| 3.5.5 | Immunhistologische Phänotypisierung von Leukozyten | 25 |
| 3.5.5.1 | Immunhistologischer Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens (Calprotectin) | 25 |
| 3.5.5.2 | Immunhistologischer Nachweis des CD3-Antigens (Pan-T-Zell-Marker) | 26 |
| 3.5.5.3 | Immunhistologischer Nachweis des CD79 α -Antigens | 26 |
| 3.5.5.4 | Immunhistologischer Nachweis des CD 45R-Antigens (B220 (Ly 5)) (Pan-B-Zell-Marker) | 27 |
| 3.5.6 | Nachweis von Vimentin | 28 |
| 3.5.7 | Doppelmarkierung des MHC II und des von Willebrandt-Faktors | 29 |
| 3.5.7.1 | Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen HLA-DR und den von Willebrandt-Faktor | 29 |
| 3.5.7.2 | Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen die β -Kette des felines MHC II und den von Willebrandt-Faktor | 30 |
| 3.5.8 | Doppelmarkierung von MHC II und caninem IgG | 30 |
| 3.5.8.1 | Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen HLA-DR und IgG | 30 |
| 3.5.8.2 | Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen die β -Kette des felines MHC II und gegen canines IgG | 31 |
| 3.5.9 | Immunhistologische Kontrollen | 31 |
| 3.5.10 | Beurteilung der Immunhistologie | 31 |
| 3.5.10.1 | Nachweis der MHC II-Antigene | 31 |
| 3.5.10.2 | Nachweis der übrigen Antigene | 31 |
| 3.5.10.3 | Quantitative Auswertung der MHC II-Expression | 32 |
| 3.5.10.3.1 | Beurteilung der MHC II-Expression auf den Langerhans-Zellen der Epidermis | 32 |
| 3.5.10.3.2 | Beurteilung der MHC II-Expression auf Keratinozyten | 33 |
| 3.5.10.3.3 | Beurteilung der MHC II-Gesamtexpression | 33 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 3.5.10.4 | Statistische Analyse | 33 |
| 4 | Ergebnisse | 35 |
| 4.1 | Ergebnisse Hund | 35 |
| 4.1.1 | Histopathologische Untersuchung an HE-gefärbten und PAS-gefärbten Schnitten | 35 |
| 4.1.1.1 | Follikulitiden | 35 |
| 4.1.1.2 | Interface Dermatitiden | 37 |
| 4.1.1.3 | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitiden mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten | 37 |
| 4.1.1.4 | Sonstige perivaskuläre Dermatitiden | 37 |
| 4.1.1.5 | Pustulöse Dermatitiden | 38 |
| 4.1.1.6 | Noduläre und diffuse Dermatitiden | 38 |
| 4.1.1.7 | Pannikulitiden | 39 |
| 4.1.1.8 | Nekrotisierende Dermatitis | 39 |
| 4.1.1.9 | Atrophische Dermatosen | 39 |
| 4.1.1.10 | Verhornungsstörungen | 40 |
| 4.1.1.11 | Hautveränderungen mit dermalen Ablagerungen | 40 |
| 4.1.1.12 | Dysplastische Veränderungen der Haarfollikel | 40 |
| 4.1.1.13 | Biopsien ohne eindeutiges Veränderungsmuster | 40 |
| 4.1.2 | Immunhistologische Untersuchung | 40 |
| 4.1.2.1 | MHC II-Nachweis auf Zellen des Immunsystems | 41 |
| 4.1.2.1.1 | Langerhans-Zellen | 41 |
| 4.1.2.1.2 | Weitere Zellen des Immunsystems | 42 |
| 4.1.2.2 | MHC II-Nachweis auf Keratinozyten | 46 |
| 4.1.2.2.1 | MHC II-Nachweis auf epidermalen und follikulären Keratinozyten | 46 |
| 4.1.2.2.2 | MHC II-Nachweis auf epidermalen Keratinozyten | 46 |
| 4.1.2.2.3 | MHC II-Nachweis auf follikulären Keratinozyten | 48 |
| 4.1.2.3 | MHC II Nachweis auf Endothelzellen | 53 |
| 4.1.2.4 | MHC II-Nachweis auf weiteren Zellen der Haut | 55 |
| 4.1.2.5 | MHC II-Gesamtexpression | 56 |
| 4.2 | Ergebnisse Katze | 57 |
| 4.2.1 | Histopathologische Untersuchung an HE-gefärbten und PAS-gefärbten Schnitten | 57 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 4.2.1.1 | Folikulitiden | 58 |
| 4.2.1.1.1 | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitiden mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten | 58 |
| 4.2.1.1.2 | Sonstige perivaskuläre Dermatitiden | 59 |
| 4.2.1.1.3 | Noduläre und diffuse Dermatitiden | 59 |
| 4.2.1.1.4 | Pannikulitiden | 60 |
| 4.2.1.1.5 | Interface Dermatitiden | 60 |
| 4.2.1.1.6 | Bullöse Erkrankungen der Epidermis | 60 |
| 4.2.1.1.7 | Pustulöse Dermatitiden | 60 |
| 4.2.1.1.8 | Biopsien ohne eindeutiges Veränderungsmuster | 61 |
| 4.2.2 | Immunhistologische Untersuchung | 61 |
| 4.2.2.1 | MHC II-Nachweis auf Zellen des Immunsystems | 61 |
| 4.2.2.1.1 | Langerhans-Zellen | 61 |
| 4.2.2.1.2 | Weitere Zellen des Immunsystems | 63 |
| 4.2.2.2 | MHC II-Nachweis auf Keratinozyten | 65 |
| 4.2.2.2.1 | MHC II-Nachweis auf epidermalen und follikulären Keratinozyten | 65 |
| 4.2.2.2.2 | MHC II-Nachweis auf epidermalen Keratinozyten | 66 |
| 4.2.2.2.3 | MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten | 67 |
| 4.2.2.3 | MHC II-Nachweis auf Endothelzellen | 69 |
| 4.2.2.4 | MHC II-Nachweis auf weiteren Zellen der Haut | 71 |
| 4.2.2.5 | MHC II-Gesamtexpression | 72 |
| 5 | Diskussion | 75 |
| 5.1 | MHC II-Antigene auf Zellen des Immunsystems | 75 |
| 5.2 | MHC II-Antigene auf Keratinozyten | 78 |
| 5.3 | MHC II-Antigene auf Endothelzellen | 84 |
| 5.4 | MHC II-Expression auf weiteren Zellen der Haut | 86 |
| 5.5 | Unterschiede in der Detektierbarkeit von MHC II-Proteinen | 87 |
| 5.6 | Speziesvergleich | 89 |
| 6 | Zusammenfassung / Summary | 91 |
| 6.1 | Zusammenfassung | 91 |
| 6.2 | Summary | 93 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 95 |

| | |
|---|------------|
| A Tabellen | 113 |
| B Lösungen, Puffer und Bezugsquellen | 136 |
| B.1 Lösungen und Puffer | 136 |
| B.2 Bezugsquellen für Chemikalien | 137 |
| C Liste der verwendeten Abkürzungen | 140 |

1 Einleitung

Das histopathologische Erscheinungsbild von Hautentzündungen ist häufig nicht eindeutig. Überlappungen von verschiedenen Entzündungsformen oder von Dermatosen und Dermatitisen sind keine Seltenheit. Auch ist anhand des histologischen Bildes nicht immer eine Ursache ergründbar. Da die Haut in direktem Kontakt zur Außenwelt steht und sich daher ununterbrochen mit Antigenen aus der Umwelt auseinandersetzt, sind auch in der gesunden Haut geringe Mengen an Entzündungszellen zu finden. Letzteres führt zu dem Problem der eindeutigen Abgrenzung von Dermatitisen gegenüber der nicht entzündeten Haut.

Die MHC II-Moleküle spielen eine zentrale und extrem wichtige Rolle in der Induktion und Regulation der Immunantwort (Benacerraf und McDevitt, 1972). Sie kommen im gesunden Organismus konstitutionell auf professionellen antigenpräsentierenden Zellen (APC) wie den Makrophagen, den dendritischen Zellen, den B-Lymphozyten und bei Hund und Katze auch auf den T-Lymphozyten vor (Doveren et al., 1986; Cobbold und Metcalfe, 1994). Unter bestimmten Umständen sind sie auch auf verschiedenen epithelialen und mesenchymalen Zellen zu finden (Muller et al., 1985; Wood et al., 1985; Abbas und Lichtmann, 2005c). Sie präsentieren in erster Linie extrazelluläre Antigene. Die Antigene werden dabei von auf der Zelloberfläche der APC vorkommenden Rezeptoren gebunden und internalisiert. Nach einer Prozessierung binden die Antigene an MHC II-Moleküle und werden auf der Zelloberfläche exponiert. Dort können CD4⁺ T-Lymphozyten das Antigen erkennen und dadurch aktiviert werden (Abbas und Lichtmann, 2005b).

Ziel dieser Arbeit war es, eine Methode zu etablieren, die eine genauere Charakterisierung und Differenzierung von Dermatitisen von Hunden und Katzen ermöglicht, um neue Erkenntnisse über den Zusammenhang von verschiedenen Hautentzündungen, deren Pathogenese und deren Ursachen zu erhalten. Weiterhin sollte ein Vergleich der Ergebnisse mit jenen der Humanmedizin erfolgen, um speziesspezifische Unterschiede zu dokumentieren. Da die MHC II-Moleküle eine zentrale Rolle in der Immunantwort spielen und ihre Expression als ein wesentlicher Indikator für das Vorhandensein von bestimmten Entzündungstypen betrachtet werden kann, scheinen sie besonders geeignet zur Etablierung eines erweiterten Untersuchungsverfahrens von Dermatitisen.

2 Literaturübersicht

2.1 Der Haupthistokompatibilitätskomplex

Ursprünglich wurde der Haupthistokompatibilitätskomplex (Major Histocompatibility Complex, MHC) von Gorer (1938) im Rahmen von Transplantationsexperimenten bei Mäusen entdeckt und für die Abstoßung von transplantiertem allogenem Gewebe verantwortlich gemacht (Gorer, 1938). Heute ist bekannt, dass die MHC-Moleküle eine zentrale und extrem wichtige Rolle in der Induktion und Regulation der Immunantwort spielen (Benacerraf und McDevitt, 1972).

Beim Haupthistokompatibilitätskomplex handelt es sich um eine Gruppe von polymorphen Genen, die in erster Linie auf der Zelloberfläche gebundene Glycoproteinrezeptoren – die sogenannten MHC-Antigene – kodieren. Da die MHC-Antigene vor allem auf den Leukozyten vorkommen, ist beim Menschen der synonyme Begriff „human leukocyte antigen“ (HLA) (Abbas und Lichtmann, 2005a) eingeführt worden.

Zwei Gruppen von MHC-Antigenen sind zu unterscheiden, nämlich die MHC I- und die MHC II-Antigene:

(1) Die MHC I-Antigene befinden sich auf allen kernhaltigen Zellen und präsentieren Peptide, die durch Proteolyse intrazellulär synthetisierter Proteine entstehen. Dieser Prozess der Proteolyse führt dazu, dass jede Körperzelle ihrer Umgebung einen Satz von Proteinen präsentiert, durch den sie als „selbst“ erkennbar ist. Werden Körperzellen z.B. von Viren befallen, welche den Proteinbiosyntheseapparat in ihren Dienst stellen, präsentieren die körpereigenen Zellen das virale Protein. Die befallenen Zellen können so erkannt und eliminiert werden (Zinkernagel und Doherty, 1974; Zinkernagel und Doherty, 1975). Zytotoxische T-Zellen ($CD4^-$, $CD8^+$) erkennen von MHC I-Molekülen präsentierte Antigene (Bach und van Rood, 1976).

(2) Die MHC II-Antigene kommen im gesunden Organismus konstitutionell auf professionellen antigenpräsentierenden Zellen (APC) wie den Makrophagen, den dendritischen Zellen und den B-Lymphozyten vor. Inkonstant sind sie auf verschiedenen epithelialen und mesenchymalen Zellen sowie aktivierten T-Lymphozyten zu finden (Muller et al., 1985; Wood et al., 1985; Abbas und Lichtmann, 2005c). Sie präsentieren in erster Linie extrazelluläre Antigene. Die Antigene werden dabei von auf der Zelloberfläche der APC vorkommenden

Rezeptoren gebunden und internalisiert. Der Mechanismus der Antigenaufnahme ist abhängig von der Art der APC und erfolgt entweder durch rezeptorvermittelte Endozytose (B-Lymphozyten), Pinozytose (dendritische Zellen) oder Phagozytose (vor allem Makrophagen). Der dabei entstehende Vesikel fusioniert mit einem Lysosom zum sekundären Lysosom oder sauren Endosom. Die im sekundären Lysosom enthaltenen Enzyme fragmentieren das Antigen, so dass es $CD4^+$ T-Lymphozyten gezeigt werden kann (Schwartz, 1985). Der Gruppe von Enzymen, welche das Antigen fragmentieren, gehören in erster Linie Cathepsine (Aspartatendoproteasen und Cysteinproteasen) an. Die Cathepsine haben eine weit reichende Substratspezifität und unterschiedliche Funktionen im Rahmen der Antigenprozessierung. Dabei wird angenommen, dass die Art der Antigenprozessierung eine Schlüsselfunktion bezüglich der Qualität und der Quantität der induzierten $CD4^+$ T-Zellantwort darstellt. (Wolf und Ploegh, 1995; Watts, 2004; Chapman, 2006).

Die MHC II-Heterodimere werden gleichzeitig mit einem obligaten Chaperonprotein im endoplasmatischen Retikulum synthetisiert. Dieses Protein wird als invariante Kette (Ii) bezeichnet und dient der Regulierung des intrazellulären Transportes von MHC II-Molekülen sowie der Regulierung der Peptidbindung. Die Ii ist ein Transmembranprotein, bestehend aus drei Untereinheiten, deren luminaire C-terminale Domänen mit je einer Peptidbindungsstelle eines MHC II-Moleküls interagieren (Cresswell, 1996). Dadurch wird verhindert, dass andere, im endoplasmatischen Retikulum synthetisierte Proteine eine Bindung mit den MHC II-Molekülen eingehen (Roche et al., 1992). Auf dem Weg zur Zelloberfläche fusionieren die MHC II-haltigen Vesikel mit prozessiertes Antigen enthaltenden sekundären Lysosomen und bilden das sogenannte MIIC (MHC class II compartment). Damit Antigenfragmente an MHC II-Moleküle binden können, muss die Ii degradiert werden. Dies geschieht durch die gleichen proteolytischen Enzyme, welche auch das Antigen zerlegt haben (Watts, 2004; Riese et al., 1996). Bei der Fragmentierung bleibt zunächst ein kleiner, 24 Aminosäuren langer Rest (class II-associated invariant chain peptide, CLIP) an der Peptidbindungsstelle des MHC II-Moleküls zurück. Die Entfernung des CLIP wird durch ein dem MHC-Protein homologes Molekül, das HLA-DM-Molekül, katalysiert (Denzin und Cresswell, 1995; Sloan et al., 1995; Sherman et al., 1995). Sobald die Peptidbindungsstelle des MHC II-Proteins frei ist, können die Antigenfragmente binden und es kommt zum Transport des Vesikels zur Zelloberfläche. Dort wird der Vesikel in die Zellmembran eingebaut, so dass das MHC II-gebundene Antigen auf der Zelloberfläche in Erscheinung tritt und von $CD4^+$ T-Lymphozyten erkannt werden kann (Schwartz, 1985). Die Aufnahme von Antigen durch APC sowie die Antigenprozessierung und die Antigenpräsentation sind in Abbildung 1 schematisch dargestellt.

Die meisten durch MHC II-Proteine präsentierten Peptide stammen von extrazellulären

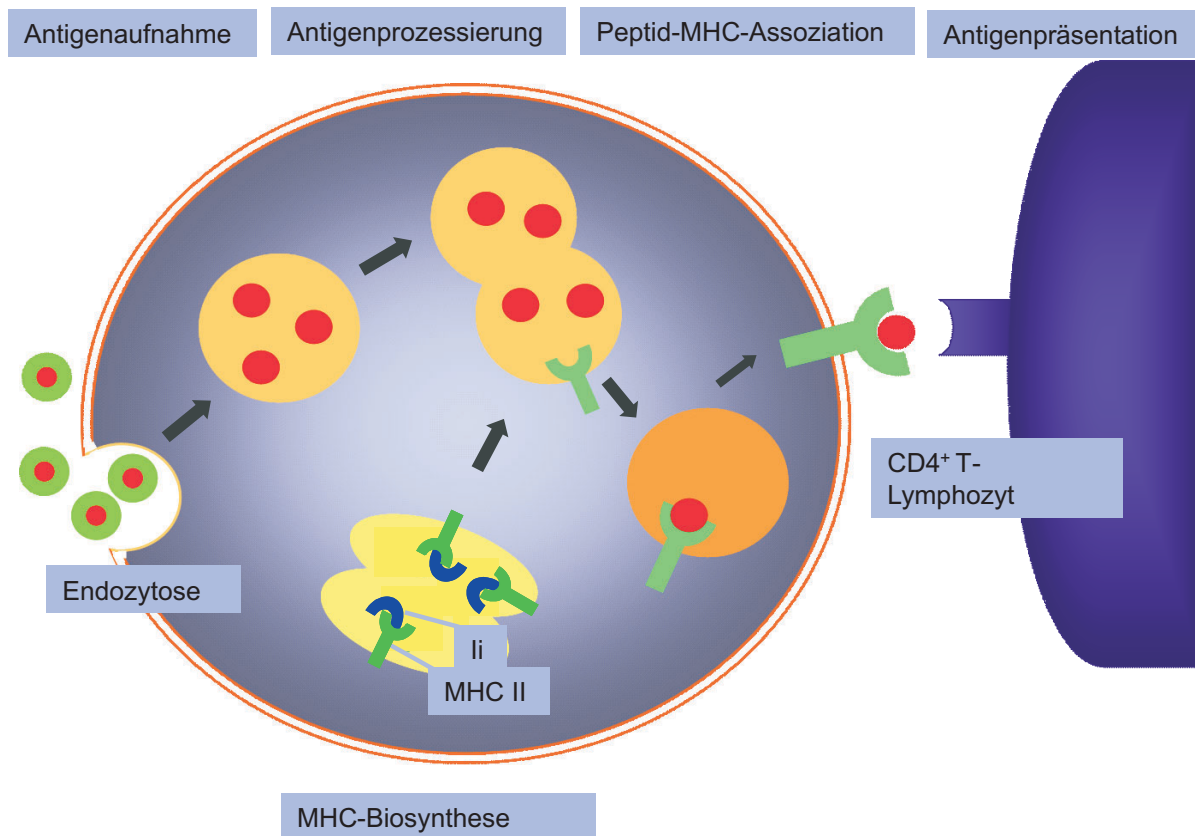


Abbildung 1: Aufnahme, Prozessierung und Präsentation von Antigenen.

Antigenen ab. Gleichwohl können auch zytoplasmatische Antigene über MHC II-Moleküle präsentiert werden (Rudensky et al., 1991; Li et al., 2005). In einigen Fällen scheint es sich dabei um einen normalen Prozess im Rahmen des Zellstoffwechsels zu handeln. Bei diesem Prozess werden zytoplasmatische Proteine in sogenannte Autophagosomen aufgenommen, die wiederum mit Lysosomen und anschließend mit MHC II-haltigen Vesikeln fusionieren (Abbas und Lichtmann, 2005d).

Die zentrale Aufgabe der MHC II-Antigene liegt deshalb in der Antigenpräsentation im Rahmen der Immunantwort. So werden intrazellulär und extrazellulär auftretende Antigene gebunden und den T-Lymphozyten dargeboten.

Der Nachweis von MHC II-Antigenen erfolgt durch immunhistologische Methoden, bei denen gegen das MHC II-Molekül gerichtete spezifische Antikörper eingesetzt werden. Aus diesem Grund ist der Polymorphismus dieser Moleküle sowie das Vorhandensein verschiedener Allele von Bedeutung.

Die MHC-Gene weisen den größten Polymorphismus aller bisher analysierten Gene auf und sind beim Menschen auf Chromosom 6 lokalisiert (Giles und Capra, 1985). Für ein MHC II-

Molekül kodieren drei Paare von α - und β -Kettengenen sowie eine zusätzliche β -Kette, deren Produkt sich an die DR α -Kette anlagern kann. Die Genloci der MHC Klasse II werden als DP, DQ und DR bezeichnet (Klein und Sato, 2000). Da die Gene extrem polymorph sind, ist die Zahl der Allele entsprechend hoch.

Das MHC II-Protein besteht aus einer α - und einer β -Kette; beide Ketten sind nicht kovalent mit einander verbunden (Springer et al., 1977; Ferrone et al., 1978), wobei die C-terminalen Enden über eine Transmembranregion in der Zellmembran verankert sind. Die N-terminalen Domänen sind polymorph und stellen die Peptidbindungsstelle dar (Kaufman und Strominger, 1979; Ferrone et al., 1978; Silver und Ferrone, 1979). Der Polymorphismus beruht auf einer Aminosäuresubstitution. Neben der Tatsache, dass jedes heterozygote Individuum 20 - 30 verschiedene MHC II-Varianten besitzt, trägt auch die Unspezifität der Bindung von Antigenen an die MHC II-Proteine dazu bei, dass die große Vielfalt der antigenen Strukturen abgedeckt wird (Madden, 1995). Die T-Lymphozyten binden über das CD4 Molekül an eine nicht polymorphe Region der β -Kette.

Die Expression von MHC II kann durch Zytokine gesteigert werden. Die Zytokine agieren dabei durch die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren, welche dann mit dem „class II transcription activator“ (CIITA) reagieren und als Komplex an den Klasse II-Promotor binden. CIITA entsteht in gesteigertem Maße unter dem Einfluss von Interferon γ (IFN γ), welches als Folge des Antigenkontaktes vermehrt produziert wird (Steimle et al., 1994).

Die CIITA-Expression wird vornehmlich auf dem Transkriptionslevel reguliert. Dabei kann die Transkription über die Aktivierung dreier verschiedener Promotoren gesteuert werden. Der pI-Promotor ist vor allem in Makrophagen und dendritischen Zellen zu finden, während der pIII-Promotor die CIITA und damit auch die MHC II-Expression in Lymphozyten steuert. Der pIV-Promotor ist in erster Linie in nicht hämatopoetischen Zellen wie Endothelzellen, Epithelzellen und Astrozyten von Bedeutung und ist durch IFN γ induzierbar (Muhlethaler-Mottet et al., 1997; Reith et al., 2005). Untersuchungen aus den letzten Jahren weisen jedoch darauf hin, dass die Aktivierung der verschiedenen Promotoren in den einzelnen Zellen kein statisches Ereignis ist. So zeigten Pai et al. (2002) z. B., dass in dendritischen Zellen sowohl der pIII- als auch der pIV-Promotor durch IFN γ aktivierbar ist (Pai et al., 2002). Auf humanen und felines B-Lymphozytenzelllinien ist eine Zunahme von MHC II auf der Zelloberfläche nach einer Inkubation mit Interleukin-4 (IL4) nachweisbar. Da jedoch keine gleichzeitige Zunahme von CIITA dokumentiert werden konnte, geht man derzeit davon aus, dass IL4 einen posttranslationalen Einfluss auf die MHC II-Expression hat (Pai et al., 2002; Gomes-Keller et al., 2002).

Neben der Bedeutung der MHC-Antigene für die Immunantwort und die Transplantatabstoßung kommt ihnen auch eine Rolle bei der positiven und negativen Selektion der T-Zellen bei der T-Zellreifung im Thymus zu. Von der Vielzahl der ursprünglich vorhandenen T-Zellen werden nur diejenigen in die Blutbahn freigegeben, welche die Struktur des MHC-Moleküls erkennen (positive Selektion), nicht jedoch die von den MHC-Molekülen präsentierten körpereigenen Peptide (negative Selektion). T-Zellen, die diesen Kriterien nicht entsprechen, gehen durch Apoptose zugrunde (Rothenberg, 1994).

2.2 Besonderheiten des MHC II beim Hund

Die MHC-Antigene des Hundes werden als „dog leukocyte antigen“ (DLA) bezeichnet. Sie sind genau wie die MHC II-Antigene des Menschen in hohem Maße polymorph. Eine Differenzierung auf genetischer Ebene führte zu der Einteilung und Bezeichnung der Genloci in DLA-DRA1, DLA-DRB1, DLA-DQA1 und DLA-DQB1. Bis heute sind insgesamt 88 Allele notiert. Dabei scheint jede Hunderasse einen begrenzten Satz an Haplotypen aufzuweisen. Bei keiner Rasse wurden alle Haplotypen detektiert (Kennedy et al., 2007a). Der Erbmodus folgt einem einfachen Mendelschen Erbgang (Wagner et al., 2002). Ähnlich wie beim Menschen, konnte auch beim Hund eine Assoziation zwischen dem DLA-Typ und der Autoimmunerkrankung Diabetes mellitus und der autoimmun bedingten Hypothyreose festgestellt werden (Kennedy et al., 2007b).

Verteilung der MHC II-Antigene auf Zellen

Im Unterschied zur MHC II-Expression auf menschlichen Zellen werden MHC II-Moleküle beim Hund nicht nur von B-Lymphozyten und aktivierten T-Lymphozyten, sondern auch von nicht aktivierten T-Lymphozyten exprimiert (Doveren et al., 1986; Cobbold und Metcalfe, 1994). Letzteres konnten Doveren et al. (1985) durch den Nachweis von MHC II auf T-Lymphozyten von Hunden aus spezifisch pathogenfreien Beständen und an neonatalen Zellen nachweisen (Doveren et al., 1985).

Immunhistologische Untersuchungen zur Gewebeverteilung von MHC II-Antigenen beim Hund (Elwood et al., 1997; Cobbold und Metcalfe, 1994; Rabanal et al., 1995) führten zu dem Ergebnis, dass neben den B- und T-Lymphozyten auch APC wie Makrophagen, spezialisierte Makrophagen (Kupffer-Zellen der Leber, Langerhans-Zellen der Haut) und andere dendritische Zellen MHC II exprimieren. Zudem ist das Vorhandensein von MHC II auf Enterozyten, Zellen des Niereninterstitiums, Thymozyten und epithelialen Zellen des Thymusmarkes dokumentiert.

In der Haut ist ein MHC II-Nachweis auf Fibroblasten der Dermis möglich. Auf Endothelzellen des gesunden Individuums konnten hingegen keine MHC-Proteine der Klasse II nachgewiesen werden (Rabanal et al., 1995).

2.3 Besonderheiten des MHC bei der Katze

Die MHC-Antigene der Katze werden als „feline leukocyte antigens“ (FLA) bezeichnet. Die Beobachtung, dass Katzen nach Transplantationen nur sehr langsam eine Abstoßungsreaktion entwickeln und dass auch nach wiederholten Bluttransfusionen keine zytotoxischen Antikörper nachweisbar sind (Pollack et al., 1982), führte zu der Vermutung, dass Katzen keine oder nur geringe Polymorphismen in den MHC Genen aufweisen. Diese Vermutung konnte jedoch widerlegt werden. Die domestizierte Katze besitzt 28 klassische MHC II Gene, wobei die den HLA - DR Genen des Menschen homologen Abschnitte aktiv sind. Dagegen zeigen die den HLA - DQ und - DP Genen homologen Bereiche keine funktionelle Aktivität (Yuhki et al., 2003). Die Vererbung der einzelnen Haplotypen erfolgt nach den Mendelschen Regeln (Winkler et al., 1989).

Verteilung der MHC II-Antigene auf Zellen

Das Verteilungsmuster der MHC II-Antigene auf Zellen der Katze entspricht weitgehend dem anderer Spezies. Die stärkste Expression ist auf B-Lymphozyten zu finden, gefolgt von Monozyten und CD4⁺ und CD8⁺ T-Lymphozyten. Genau wie beim Hund exprimieren die T-Lymphozyten sowohl im aktivierten als auch im ruhenden Zustand MHC II. Auf Granulozyten sind keine MHC II-Antigene nachweisbar (Rideout et al., 1990).

Die Analyse von Gewebeproben zeigte ein Vorkommen von MHC II auf Makrophagen der Darmschleimhaut (Waly et al., 2001), auf Kupffer-Zellen der Leber (Day, 1998), auf Langerhans-Zellen sowie auf Endothelzellen einiger Blutgefäße der Haut (Rideout et al., 1990). Eine MHC II-Expression weisen des Weiteren verschiedene Zellen epithelialer Herkunft, wie epitheliale Zellen der Thymusrinde, Enterozyten und Epithelien der Gallengänge auf (Rideout et al., 1990; Day, 1998; Waly et al., 2001).

2.4 Das Immunsystem der Haut und die Bedeutung der MHC-Antigene in der Haut

Die Haut ist das größte Organ und eine ihrer Hauptaufgaben dient der Grenzziehung zur Umwelt. So verwundert es nicht, dass die Haut über ein spezielles immunologisches System

verfügt, das so genannte „skin immune system“ (SIS) (Bos, 2005). Dem SIS gehören sowohl humorale als auch zelluläre sowie residente und nicht residente Komponenten an. Sie sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Viele dieser Komponenten unterscheiden sich in ihrem Vorkommen, ihrer Funktion und ihrem Zusammenwirken nicht vom systemischen Immunsystem. Gleichwohl verfügt das SIS über einige besondere Komponenten, auf die im Rahmen dieser Arbeit einzugehen ist, weil deren Funktionen für die Diskussion der Arbeit grundlegend sind.

Tabelle 1: Zelluläre und humorale Bestandteile des Immunsystems der Haut
(nach Bos, 2005)

| Immunantwort | Resident | Nicht resident | Rezirkulierend | Humorale Bestandteile |
|--------------|---------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| Unspezifisch | Keratinocyten | Monozyten | Natürliche Killerzellen | Defensine, Cathelicidine |
| | Endothelzellen | Basophile Granulozyten | Dendritische Zellen | Komplement-system |
| | Lymphgefäße | Eosinophile Granulozyten | | Mannose bindende Lektine |
| | | Neutrophile Granulozyten | | Zytokine, Chemokine |
| | | Mastzellen | Mastzellen | Neuropeptide |
| | | Histiozyten | Aktivierte Makrophagen | Eicosanoide, Prostaglandine |
| | | | | Freie Radikale |
| Spezifisch | T-Lymphocyten | T-Lymphocyten | T-Lymphocyten | Immunglobuline |
| | Dendritische Zellen | B-Lymphocyten | | |

Langerhans-Zellen

Eine besondere Komponente des SIS sind die epidermalen Langerhans-Zellen (LHZ), von denen angenommen wird, dass sie eine Subpopulation dendritischer Zellen sind. Sie liegen im mehrschichtigen Plattenepithel von Haut und kutaner Schleimhaut bei Säugetieren (Teunissen, 1992). Dort nehmen sie Proteinantigen auf und transportieren es zum regionären Lymphknoten, wo es den T-Lymphocyten präsentiert werden kann (Abbas und Lichtmann, 2005c). Das charakteristische und einzigartige Merkmal dieser Zellen sind die Birbeck Granula (Birbeck, 1961). Neben den Birbeck Granula gelten auch die Expression von MHC II-Antigenen sowie von CD1a als charakteristisch für LHZ (Klareskog et al., 1977; Murphy et al., 1981). Funktionell gesehen handelt es sich bei den Birbeck Granula vermutlich um frühe, extrazelluläres Antigen enthaltende, endozytotische Vesikel (Bos, 2005). Warum sich die endozytotischen Vesikel der LHZ jedoch von endozytotischen Vesikeln anderer dendritischer

Zellen unterscheiden, ist bislang nicht geklärt. Bei den residenten LHZ in der Epidermis des Menschen handelt es sich um unreife dendritische Zellen. Diese exprimieren konstitutiv HLA-DR, HLA-DP und HLA-DQ (Sontheimer et al., 1986). Allerdings zeigten elektronenmikroskopische Untersuchungen, dass sich die MHC II-Moleküle vorwiegend intrazellulär im endoplasmatischen Retikulum (ER), im MHC-Klasse II-Kompartiment (MIIC) und auf der Zelloberfläche der Dendriten befinden, nicht jedoch auf der Zelloberfläche des Zellkörpers (Kleijmeer et al., 1994; Mommaas et al., 1995). Des Weiteren exprimieren residente LHZ der Epidermis verschiedene Oberflächenmoleküle, wie zum Beispiel den FC γ RII und die CD-Moleküle 11b und 11c. Diese sind in den Mechanismus der Endozytose involviert. Die für den Vorgang der Antigenpräsentation wichtigen Co-Faktoren CD80 und CD86 (B7-1 und B7-2) sind dagegen nicht (CD80) oder nur in geringer Menge (CD86) auf der Zelloberfläche vorzufinden.

Zahlreiche in vitro Versuche zeigten, dass isolierte residente LHZ unter bestimmten Bedingungen die Eigenschaften von leistungsstarken APC annehmen und es wird vermutet, dass diese Veränderung der Reifung der LHZ auf dem Weg zum regionären Lymphknoten entspricht. So nimmt zum Beispiel das Vorhandensein der charakteristischen Birbeck Granula und der CD1a-Moleküle ab und die für die Endozytose wichtigen Cofaktoren werden herunter reguliert (Teunissen et al., 1990; Romani et al., 1989b). Währenddessen werden die für die Antigenpräsentation und die Stimulation von T-Lymphozyten wichtigen Strukturen und Cofaktoren wie MHC II, ICAM-3, CD80 und CD86 sowie ICAM-1 umso stärker exprimiert (Teunissen et al., 1990; Teunissen et al., 1994; Girolomoni et al., 1994; Symington et al., 1993). Zusätzlich beginnen die LHZ Zytokine wie IL-12 (Kang et al., 1996) und IL-18 (Nakagawa et al., 1999) zu produzieren, welche die Ausschüttung von IFN γ steigern. Letzteres ist wiederum für die Erzeugung einer Th1 dominierten Immunantwort von Bedeutung (Trinchieri, 1993; Okamura et al., 1995). Daneben wurde gezeigt, dass die „reifen“ LHZ in der Lage sind, naive T-Zellen zu stimulieren (Romani et al., 1989a).

Andere dendritische Zellen der Haut

Von den epidermalen dendritischen Zellen können die dermalen dendritischen Zellen abgegrenzt werden. Dermale dendritische Zellen stammen, wie auch die LHZ, von myeloischen Vorläufern ab. Sie stellen im Gegensatz zu den LHZ eher eine heterogene Zellgruppe dar (Meunier et al., 1993) und liegen meist perivaskulär in der oberen Dermis. Sie lassen sich aufgrund ihrer Oberflächenantigene von den LHZ unterscheiden. Abschließend ist jedoch noch nicht geklärt, ob es sich bei den verschiedenen dendritischen Zellen und den LHZ wirklich um unterschiedliche Zellpopulationen oder um verschiedene Differenzierungsstadien und

Reifestadien derselben Zellpopulation handelt. Für letzteres spricht, dass dermale dendritische Zellen unter bestimmten Einflüssen (z. B. M-CSF) zu Gewebemakrophagen werden und diese wiederum unter dem Einfluss von TGF- β alle Eigenschaften einer LHZ annehmen (Teunissen, 2005).

Lymphozytenpopulation der Haut

Neben den dendritischen Zellen sind auch die Lymphozyten ein wichtiger Bestandteil des SIS. In der normalen menschlichen Haut kommen vorwiegend T-Lymphozyten vor. Sie sind hauptsächlich um die Gefäßplexus der Dermis lokalisiert und liegen nur zu einem kleinen Teil in der Epidermis (Bos et al., 1987). Die Zellen exprimieren vorwiegend den $\alpha\beta$ T-Zellrezeptor (TCR) und nur zu einem geringen Prozentsatz (1-15%) den $\gamma\delta$ TCR. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Lymphozyten der gesunden Haut primär dem Gedächtniszelltyp - das heißt CD45RO-positiv und CD45RA-negativ - angehören. Aufgrund der fehlenden MHC II-Expression auf diesen Zellen wurde erklärt, dass es sich um nicht aktivierte T-Lymphozyten handelt (Foster et al., 1990). Im Gegensatz zur menschlichen Haut besitzt die Haut von Mäusen eine Population von residenten T-Zellen vom $\gamma\delta$ -Typ, welche ein dendritisches Erscheinungsbild aufweisen (Hayday und Tigelaar, 2003). Studien zur atopischen Dermatitis beim Hund legten dar, dass die Lymphozytenpopulation in gesunder caniner Haut der Lymphozytenpopulation in gesunder humaner Haut ähnelt. So konnten beim Hund ebenfalls überwiegend T-Lymphozyten, welche den $\alpha\beta$ TCR exprimieren, nachgewiesen werden. Nur vereinzelt traten T-Lymphozyten vom $\gamma\delta$ -Typ auf (Olivry et al., 1997). Der Vergleich humaner Dermatitis mit caninen Dermatitis zeigt, dass der Hund im allgemeinen jedoch deutlich stärker mit einem plasmazellulären Infiltrat reagiert, weshalb angenommen wird, dass den B-Lymphozyten der Haut beim Hund eine größere Bedeutung als beim Menschen zukommt (Scott et al., 2001c).

Die Recherche zur Lymphozytenpopulation in gesunder Katzenhaut erbrachte keine Ergebnisse.

Obwohl es sich bei den meisten in der gesunden Haut vorkommenden Lymphozyten wahrscheinlich um nicht residente Zellen handelt, kann nicht ausgeschlossen werden, dass es auch bei anderen Spezies als der Maus eine residente Lymphozytenpopulation der Haut gibt. Für letzteres spricht unter anderem eine Studie von Homey (2002), in der gezeigt wurde, dass Keratinozyten normaler Haut in niedriger Konzentration das Chemokin CCL27 exprimieren, welches an den CCR10 Rezeptor bindet. Das Chemokin CCL27 lässt sich ausschließlich auf CLA (cutaneous lymphocyte-associated antigen)-positiven T-Gedächtniszellen detektieren. (Homey et al., 2002).

Mastzellen

Die Mastzellen gehören neben den epidermalen und dermalen dendritischen Zellen und den Lymphozyten zur Zellpopulation der nicht entzündeten Haut. Sie sollen hier aufgrund ihrer potentiellen antigenpräsentierenden Eigenschaften erläutert werden.

Mastzellen stellen wichtige Effektorzellen bei allergischen Reaktionen sowohl vom Soforttyp als auch vom verzögerten Typ dar (Biedermann et al., 2000; Scott et al., 2001d). Sie synthetisieren eine Reihe von Entzündungsmediatoren, wie zum Beispiel Histamin und Leukotriene, die nach der Aktivierung der Zellen durch die Bindung von IgE-Molekülen an FcεRI-Rezeptoren ausgeschüttet werden (Galli, 1993). Beim Hund und bei der Katze sind drei verschiedene Subtypen in der Haut beobachtet worden. Diese konnten aufgrund ihres Gehaltes an proteolytischen Enzymen sowie ihrer Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Fixationslösungen unterschieden werden und enthielten entweder Tryptase und Chymase, nur Tryptase, oder nur Chymase (Kube et al., 1998; Noli et al., 2003).

Neben ihrer Fähigkeit die unterschiedlichsten Entzündungsmediatoren zu generieren, kommt den Mastzellen auch eine Funktion als APC zu. Diese Funktion wurde in verschiedenen *in vitro* Versuchen an murinen Mastzellen gezeigt. So konnten in sekretorischen Granula von aus dem Knochenmark stammenden Mastzellen (bone-marrow-derived mast cells, BMMC) MHC II-Moleküle detektiert werden, die jedoch zu einem Großteil noch eine gebundene Ii aufwiesen. Die Stimulierung der Mastzellen zur Ausschüttung der Granula führte zu einer extremen Zunahme von MHC II-Molekülen auf der Mastzelloberfläche. Daraus resultierte die Hypothese, dass Stimuli, welche zur Aktivierung von Mastzellen führen, auch die Funktion der Mastzellen als APC regulieren (Vincent-Schneider et al., 2001). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass BMMC IgE-Antigen-Komplexe über rezeptorvermittelte (FcεRI) Endozytose aufnehmen und das Antigen nach Stimulierung der Zellen mit IFN γ präsentieren und zusätzlich T-Lymphozyten aktivieren (Tkaczyk et al., 1999). Ob Mastzellen *in vivo* zur schnellen Eliminierung und Präsentation von Antigenen sowie zur Aktivierung von T-Zellen beitragen, ist bislang jedoch noch nicht geklärt.

Keratinocyten

Ein weiterer wichtiger Bestandteil des Immunsystems der Haut sind die Keratinocyten. Insbesondere aufgrund ihrer Fähigkeit MHC II-Proteine (Lampert et al., 1981), ICAM-1 (Griffiths et al., 1989a) und B7-H1 (Dong et al., 1999) zu exprimieren, als auch aufgrund ihrer Möglichkeit der Zytokinproduktion werden Keratinocyten als akzessorische immunologische Zellen diskutiert (Chu und Morris, 2005; Scott et al., 2001a). Die MHC II-Expression auf Keratinocyten wurde erstmals von Lampert et al. (1981) bei einer Transplantatabstoßung

beobachtet (Lampert et al., 1981). Im Rahmen zahlreicher *in vitro* Experimente konnte nachgewiesen werden, dass Keratinozytenzelllinien HLA-DR und HLA-DQ Proteine unter Einfluss von $\text{IFN}\gamma$ exprimieren, wobei ein Unterschied im Verteilungsmuster von HLA-DR und HLA-DQ bestand. Der immunhistologische Nachweis von HLA-DR auf Keratinozyten fiel deutlich stärker aus (80 bis 90 % positiv), während HLA-DQ auf der Zelloberfläche nur schwach in Erscheinung trat (Barker et al., 1988b; Griffiths et al., 1989b; Banerjee et al., 2004). Eine Induktion von HLA-DQ und -DP durch $\text{IFN}\gamma$ auf epidermalen Keratinozyten scheint nicht möglich, auf Keratinozyten der oralen Schleimhaut hingegen schon (Li et al., 1996). Albanesi et al. (1998) zeigten, dass durch $\text{IFN}\gamma$ stimulierte Keratinozyten nicht nur MHC II exprimieren, sondern auch das den MHC-Proteinen homologe HLA-DM-Protein und den Klasse II-Transaktivator RFX5 (Albanesi et al., 1998). HLA-DM katalysiert die Bindung von Antigen im MIIC (Sloan et al., 1995; Sherman et al., 1995; Denzin und Cresswell, 1995). Zusätzlich zeigten Albanesi et al. (1998), dass die MHC II-Moleküle auf der Oberfläche von Keratinozyten sehr resistent gegenüber Dodecylsulfat sind. Letzteres wird als Kennzeichen einer ordnungsgemäßen Bindung von Antigen an das MHC II-Molekül betrachtet (Albanesi et al., 1998).

Ob Keratinozyten eine Rolle als APC zukommt, wird gleichwohl kontrovers diskutiert. Luger et al. (1983) gehen davon aus, dass Keratinozyten zur Phagozytose und Endozytose befähigt sind (Luger et al., 1983). Weiterhin zeigten verschiedene Experimente an humanen und murinen Keratinozyten, dass diese in der Lage sind, eine Proliferation von T-Zellen zu induzieren, sowie in Kultur zugegebene Molekülfragmente zu präsentieren. Ganze Moleküle konnten jedoch nicht präsentiert werden. Diese Ergebnisse führten zu der Vermutung, dass Keratinozyten zwar in der Lage sein könnten, Antigen zu präsentieren, jedoch nicht in der Lage zu sein scheinen, es zu prozessieren (de Bueger et al., 1993; Gaspari und Katz, 1988).

Endothelzellen

Die Gefäße der Haut liegen in der Dermis. Das papilläre Kapillarnetz, vor allem die postkapillären Venolen, sind stark auf eine immunologische Funktion spezialisiert. Sie besitzen eine geschlossene Endothelschicht, die an den der Epidermis sowie den Adnexen zugewandten Spitzen der Kapillarschlingen fenestriert ist (Higgins und Eady, 1981; Braverman und Keh-Yen, 1981). Sie sind Quelle vieler Gerinnungsfaktoren, Metaboliten der Arachidonsäure aber auch zahlreicher Zytokine, wie IL-1, IL-8, $\text{IFN}\gamma$ und $\text{TNF}\alpha$ (Pasyk et al., 2005). Zusätzlich sind sie in der Lage, als APC zu agieren.

In vivo exprimieren humane mikrovaskuläre Endothelzellen konstitutiv auf einem basalen Niveau MHC II-Moleküle (Page et al., 1992), was möglicherweise auf geringe Mengen

zirkulierenden $\text{IFN}\gamma$ zurückzuführen ist (Pober et al., 2001).

Beim Hund dagegen deuten Untersuchungen von Groenewegen et al. (1985) darauf hin, dass canine Endothelzellen nur unter Einfluss bestimmter Zytokine eine MHC II-Expression aufweisen (Groenewegen et al., 1985). Auf der anderen Seite konnte in einer Studie zur MHC II-Expression bei Hunden mit Staupevirus-Infektionen auch bei den Kontrolltieren eine geringe Menge MHC II auf Endothelzellen detektiert werden (Alldinger et al., 1996).

Gefäßendothelien von Gefäßen im Gehirn von SPF-Katzen wiesen bei einer Untersuchung zur felines infektiösen Peritonitis ebenfalls vereinzelt eine schwache MHC II-Expression auf (Kipar, 2002). Weiterhin zeigte eine Untersuchung von Collins et al. (1984), dass MHC II-Moleküle in Endothelzellen an eine Ii gekoppelt sind (Collins et al., 1984).

Ob und in welcher Form Endothelzellen Antigen prozessieren, ist nicht bekannt. Dennoch scheinen Endothelzellen an MHC II-Moleküle gekoppeltes Antigen zu exprimieren und T-Lymphozyten zu stimulieren (Vora et al., 1994). Ein interessanter Aspekt in diesem Zusammenhang ist außerdem, dass Endothelzellen zwar für die Antigenpräsentation wichtige Co-Faktoren exprimieren, z. B. LFA3 (Hughes et al., 1990), jedoch kein CD80 und CD86 aufweisen (Page et al., 1994). Dessen Bindung an CD28 gilt als essentiell für die effektive Stimulierung von T-Lymphozyten durch APC (Linsley und Ledbetter, 1993; Mueller et al., 1989). Weitere Versuche zeigten, dass Endothelzellen nicht in der Lage sind, naive T-Zellen zu aktivieren (Wagner et al., 1984). T-Gedächtniszellen können sie dagegen stimulieren. Dadurch unterscheiden sich die Endothelzellen wesentlich von den professionellen APC ebenso wie von Zellen anderer Gewebe, die zwar MHC II exprimieren können, jedoch keine T-Lymphozyten zu aktivieren vermögen (Epperson und Pober, 1994).

2.5 Expression der MHC II-Antigene bei Dermatitis

Die Expression von MHC II-Antigenen bei Dermatitis ist in verschiedenen Studien untersucht worden. Im Vordergrund stehen neben den Untersuchungsergebnissen beim Hund und bei der Katze auch Ergebnisse von an Hautproben des Menschen durchgeführte Untersuchungen. Ein Vergleich der Ergebnisse und der Nachweis eventuell vorhandener speziesspezifischer Unterschiede machen einen zentralen Teil der vorliegenden Arbeit aus.

Unter den Umständen einer Entzündung, in diesem Fall einer Hautentzündung, kann es in Zellen, die normalerweise keine MHC II-Antigene exprimieren, zur Expression kommen. Im Folgenden ist diesbezüglich vor allem auf die Keratinozyten und die Endothelzellen einzugehen. Außerdem kann im Falle der Entzündung die Oberflächenexpression der MHC II-Antigene auf Zellen, die konstitutionell MHC II tragen, zunehmen. Auch dieser Sachverhalt

ist hier zu erklären.

2.5.1 Humane Dermatitiden

Die MHC II-Expression bei humanen Dermatitiden war Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Dabei beobachteten Smolle (1985) in einer Studie mit 9 verschiedenen Hauterkrankungen und Auböck (1986) in einer Studie mit 52 verschiedenen Hauterkrankungen MHC II-Moleküle (HLA-DR) nicht nur auf den konstitutionell MHC II-positiven Zellen, sondern auch auf Keratinozyten. Letztere traten bei Dermatitiden unterschiedlichster Ätiologie in Augenschein. So konnten sie in den meisten Fällen von Lupus erythematoses, bei lymphozytären Vaskulitiden, in Biopsien mit Lichen ruber planus, in granulomatösen Dermatitiden, vereinzelt im Falle von Kontaktdermatitiden sowie bei einigen anderen Hauterkrankungen eine MHC II-Expression auf Keratinozyten beobachten. Dermatitiden der hier aufgezählten Gruppen exprimierten in den meisten Fällen MHC II, jedoch nicht in allen. Interessanterweise konnte bei bullösen autoimmunbedingten Dermatitiden keine MHC II-Expression auf Keratinozyten detektiert werden. Das Expressionsmuster variierte von der Markierung einzelner Keratinozytengruppen, bis hin zur Markierung der gesamten Epidermis und es war nicht spezifisch für eine bestimmte zugrunde liegende Erkrankung (Auböck et al., 1986; Smolle, 1985). Weiterhin ist dokumentiert, dass die Keratinozyten von Patienten mit Psoriasis in Zonen einer aktiven Entzündung (Terui et al., 1987) und Patienten mit Papillomavirus- und Herpesvirusinfektionen (Drijkoningen et al., 1988) MHC II exprimieren können. Im Falle von Alopecia areata ist das Vorhandensein von MHC II auf Epithelzellen der Matrixzellen des Haarbulbus, sowie vereinzelt auf Epithelzellen der inneren und äußeren Wurzelscheide beschrieben (Messenger und Bleehen, 1985). Studien zur Expression von Produkten unterschiedlicher Abschnitte des MHC II-Gens *in vivo* stimmen mit den aus *in vitro* Versuchen gewonnenen Ergebnissen überein (siehe auch Abschnitt 2.4). Die Expression von HLA-DR fällt auch in Biopsien von Patienten mit Dermatitiden am stärksten aus, während HLA-DQ nur selten und HLA-DP überhaupt nicht detektiert werden konnten (Volc-Platzer et al., 1987; Gawkrödger et al., 1987).

Bei allen Untersuchungen koinzidierte das Vorhandensein von zellulären Infiltrationen und die Expression von MHC II auf Keratinozyten. Die Immunzellen waren lymphozytärer Natur und in erster Linie perivaskulär orientiert. In Fällen von perivaskulären Infiltrationen mit überwiegend neutrophilen Granulozyten konnte kein MHC II-Nachweis auf Keratinozyten geführt werden. Auböcke et al. (1986) und Barker et al. (1988a) zeigten, dass es sich bei den Lymphozyten zu 80% um aktivierte T-Helferzellen ($CD4^+$, $CD8^-$) handelt (Auböck et al., 1986; Barker et al., 1988a). Auf Grund dieser Ergebnisse vermuteten sie, dass die Ex-

pression von MHC II auf Keratinozyten indirekt auf aktivierten T-Helferzellen beruht, die $\text{IFN}\gamma$ sezernieren. Auf der anderen Seite beobachteten Banerjee et al. (2004) eine Proliferation von naiven T-Lymphozyten in Gegenwart von durch $\text{IFN}\gamma$ oder Allergene aktivierten Keratinozyten. Sie nahmen daher an, dass die Aktivierung der T-Lymphozyten Folge und nicht Ursache der MHC II Expression auf Keratinozyten ist und sprachen den Keratinozyten damit eine Rolle in der Antigenpräsentation zu (Banerjee et al., 2004) (siehe auch Abschnitt 2.4).

2.5.2 Canine Dermatitiden

Die Nachforschungen auf dem Gebiet der MHC II-Expression bei Dermatitiden des Hundes sind sehr begrenzt und beziehen sich auf wenige spezielle Krankheiten.

Day (1996) untersuchte Hautbiopsien von 42 Hunden mit unterschiedlichen Dermatitiden (Pemphigus foliaceus, Lupus erythematoses discoides, atopische Dermatitis vom Typ I und tiefe Pyodermie) auf das Vorhandensein von MHC II auf Zellen der Cutis. In einer von neun Proben mit Pemphigus foliaceus stellte er eine deutliche Oberflächenexpression von MHC II auf epidermalen und follikulären Keratinozyten fest. Von den Zellen des entzündlichen Infiltrates wurde MHC II von Makrophagen, dendritischen Zellen und Fibroblasten exprimiert, nicht jedoch von neutrophilen Granulozyten, eosinophilen Granulozyten und Plasmazellen (Day, 1996).

Die Untersuchung von Hunden mit Demodikose und verschiedenen Formen der Leishmaniose ergab folgende Ergebnisse: Durch Demodex-Milben verursachte Hautläsionen zeigten in pyogranulomatösen Bereichen um die Haarfollikel MHC II-positive Makrophagen, dermale dendritische Zellen und Fibroblasten (Day, 1997).

Tiere mit lokalisierter kutaner Leishmaniose exprimierten vereinzelt MHC II auf Keratinozyten, während bei Hunden mit ulzerativen Hautveränderungen eine große Zahl MHC II-positiver Keratinozyten bei gleichzeitigem Fehlen von LHZ auftrat. Die diffuse kutane Leishmaniose äußerte sich durch das Auftreten von wenigen LHZ und keinen MHC II-positiven Keratinozyten sowie massenhaft parasitenbeladenen Makrophagen. Eventuell sind diese unterschiedlichen Erscheinungsbilder auf eine unterschiedliche immunologische Situation der Tiere zurückzuführen (Fondevila et al., 1997). Eine weitere Untersuchung zur kutanen Leishmaniose beim Hund zeigte, dass auch Tiere mit einer exfoliativen Dermatitis MHC II-positive Keratinozyten aufweisen. Diese traten jedoch nur in Lokalisationen, in denen sich die Dermatitis manifestierte, auf (Papadogiannakis et al., 2005). Interessanterweise exprimierten Hunde mit Leishmanieninfektion und generalisierter Demodikose keine MHC II-Antigene auf Keratinozyten. Im Zusammenhang mit den ebenfalls niedrigen Zahlen an T-Lymphozyten und

LHZ kann dieser Befund die Hypothese von Fondevila et al. (1997) bestätigen (Mozos et al., 1999).

An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass bei Hunden mit viszeraler Leishmaniose ein statistisch signifikant häufigeres Auftreten des DLA-DRB1-Genotypes beobachtet werden konnte (Quinnell et al., 2003).

In einer immunhistologischen Untersuchung von zwei Hunden mit uveodermatologischem Syndrom konnten MHC II-Antigene auf den infiltrierenden Entzündungszellen in der Dermis (Makrophagen und dendritische Zellen) sowie in einem der beiden Fälle auf Keratinozyten der Epidermis beobachtet werden (Carter et al., 2005).

Die Analyse von mit *Sarcoptes scabiei* variatio canis infizierten Hunden belegte eine deutliche Zunahme von MHC II auf der Oberfläche von Zellen der Epidermis, Dermis und dem Follikelepithel. Wahrscheinlich handelte es sich bei diesen Zellen um LHZ sowie infiltrierende Lymphozyten und Makrophagen (Stemmer et al., 1996).

Letztendlich soll auch auf die Tatsache hingewiesen werden, dass es Untersuchungen gibt, die unter bestimmten Umständen einen Verlust der MHC II-Expression auf Zellen dokumentieren. So wiesen Harrus et al. (2003) das Verschwinden von MHC II auf der Oberfläche von Zellen *in vitro* nach, die zuvor mit *Ehrlichia canis* infiziert wurden. Die Ergebnisse legen nahe, dass es sich bei diesem Phänomen um einen Überlebensmechanismus zum Persistieren des Erregers durch ein Entrinnen vor der Immunantwort handelt. Eine ähnliche Beobachtung wurde kürzlich bei mit *Toxoplasma gondii* infizierten Zelllinien gemacht. Hier wurde eine verminderte Expression von MHC II sowie eine verminderte Transkriptionsrate von CIITA trotz Stimulation mit $\text{IFN}\gamma$ gesehen. Dies führte ebenfalls zu der Vermutung, dass der Parasit einen bislang unbekanntem Faktor produziert, der die $\text{IFN}\gamma$ -vermittelte MHC II-Expression hemmt (Luder et al., 2003).

2.5.3 Feline Dermatitiden

Untersuchungen zur MHC II-Expression bei Dermatitiden der Katze beschränken sich auf zwei Studien zu diesem Sachverhalt bei Katzen mit allergischen Hauterkrankungen, bzw. atopischen Katzen nach einem Allergietest. Sowohl in den Biopsien von Katzen mit allergisch bedingten Veränderungen, als auch bei Katzen die im Allergietest positiv reagierten, ließ sich ein signifikanter Anstieg der MHC II-positiven Zellen in Epidermis und Dermis feststellen. Die MHC II-positiven Zellen in der Epidermis wurden als LHZ interpretiert (Roosje et al., 1997; Roosje et al., 2004). Zusätzlich dokumentiert eine Studie von Pérez et al. (1999) eine MHC II-Expression auf Keratinozyten von Katzen mit aktinischer Keratose und auf Tumorzellen von Katzen mit Plattenepithelkarzinomen (Perez et al., 1999).

Aus der hier zusammengetragenen Literatur und den diesbezüglichen Befunden geht eindeutig hervor, dass es einen Zusammenhang zwischen Dermatitisstypen und der Expression von MHC II-Molekülen gibt. Dieser scheint jedoch nicht trivial zu sein, wodurch weitere Nachforschungen auf diesem Gebiet notwendig werden. Was die Expression von MHC II betrifft, scheinen deutliche speziesspezifische Unterschiede vorzuliegen. So konnte beim Menschen z. B. bei den meisten Dermatitisen eine MHC II-Expression auf Keratinozyten beobachtet werden, während dies beim Hund nur im Falle der Leishmaniose, in einem Fall eines uveodermatologischen Syndroms und bei einem Patienten mit Pemphigus foliaceus der Fall war.

2.6 Diagnosen auf der Basis histopathologischer Muster (pattern analysis)

Untersuchungen zu histopathologischen Mustern („pattern analysis“) sind zwar nicht Gegenstand dieser Arbeit, aber auf der Basis der „pattern analysis“ erfolgte die Diagnosestellung der hier zusammengetragenen Dermatitisen und die Einteilung in bestimmte Gruppen. Deshalb soll im Folgenden kurz auf diese Untersuchungsmethode für Hautbiopsien eingegangen werden. Im Rahmen der „pattern analysis“ werden die Dermatitisen auf der Basis des Erscheinungsbildes kategorisiert. Anschließend erfolgt unter Berücksichtigung zahlreicher Details eine spezifische Diagnosestellung (Scott et al., 2001b). So erfolgt zum Beispiel bei einer Biopsie von einem Hund mit Lupus erythematoses zunächst die Zuordnung zu den Interface Dermatitisen. Anschließend kann der Lupus erythematoses zum Beispiel anhand der Lokalisation der apoptotischen Keratinozyten in der Epidermis vom Erythema multiforme – welches ebenfalls durch das Vorliegen einer Interface Dermatitis charakterisiert ist – abgegrenzt werden. Häufig ist an dieser Stelle auch nur die Angabe verschiedener Differentialdiagnosen möglich, für die weitere Spezifizierung kann dann das Zusammenbringen der erhobenen Befunde mit den klinischen Daten hilfreich sein (Yager und Wilcock, 1988; Gross et al., 1992). Die Einführung dieser Untersuchungsmethode führte zu erfolgversprechenderen Ergebnissen in der Veterinär-Dermatopathologie (Scott et al., 2001b).

Weiterhin sollte darauf hingewiesen werden, dass eine Hautentzündung kein statisches Ereignis ist, und dass eine bestimmte Erkrankung im zeitlichen Verlauf verschiedene Erscheinungsformen annehmen, und damit unterschiedlichen Gruppen zugeordnet werden kann. Manche „Muster“, wie zum Beispiel die perivaskuläre Dermatitis, treten zudem bei fast allen Dermatitisen (einzeln, oder in Zusammenhang mit anderen Mustern) auf und sind damit weniger aussagekräftig als andere (Yager und Wilcock, 1994).

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchungsmaterial

Die Untersuchung erfolgte an insgesamt 169 Hautbiopsien von Hunden und 94 Hautbiopsien von Katzen am Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen. Die Hautproben erhielt das Institut in den Jahren 2003 bis 2006 im Rahmen der Routinediagnostik. Ein kleiner Teil der untersuchten Biopsien stammte aus der Routinediagnostik des Institutes für Tierpathologie der Universität Bern (mit „I“ benannte Proben).

Es handelte sich sowohl um Stanzbiopsien mit einem Durchmesser von 0,4 bis 0,8 cm als auch um Skalpellbiopsien. In die Untersuchung wurden neben Biopsien mit entzündlichen Veränderungen auch Biopsien mit atrophischen und degenerativen Veränderungen einbezogen. Letztere sollten der besseren Einordnung der Ergebnisse dienen.

Als Kontrollgruppe dienten Hautproben aus jeweils verschiedenen Lokalisationen von 10 Hunden und 12 Katzen aus dem Sektionsgut des Institutes, die keine makroskopischen und mikroskopischen pathologischen Veränderungen der Haut aufwiesen (siehe Tabelle 15 und 22).

3.2 Vorberichte

Die Angaben zum Signalement der Tiere sowie zu Lokalisation und Art der Hautveränderung und zur Lokalisation der Biopsieentnahme wurden den Tagebüchern des Institutes für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen beziehungsweise den schriftlichen Befunden zu den Biopsien des Institutes für Tierpathologie der Universität Bern entnommen. Bei mangelhaften Angaben im Vorbericht erfolgte die Kontaktaufnahme zum einsendenden Tierarzt, um die für die Interpretation histopathologischer Veränderungen in der Haut notwendigen Informationen einzuholen. Die Daten sind im Anhang in Tabelle 11 und 16 zusammengefasst.

3.3 Bearbeitung von Formalin-fixiertem Material für die lichtmikroskopische Untersuchung

Die Biopsien wurden in 10 %igem Formalin fixiert, routinemäßig im Einbettungsautomaten prozessiert und schließlich in Paraffin eingebettet. Von den in Paraffin eingebetteten Geweben wurden möglichst dünne Schnitte angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt oder für die Immunhistologie verwendet.

Die Bezugsquellen für alle verwendeten Chemikalien, Materialien und Geräte sind im Anhang B.2 aufgeführt

3.4 Histopathologie

Die histopathologische Untersuchung zur Charakterisierung der Entzündung (Art der infiltrierenden Zellen, Verteilungsmuster, Grad der Entzündung, evtl. zu erkennende Ursache wie Parasitenanschnitte oder Fremdmaterial, sonstige charakteristische Anzeichen für eine bestimmte Erkrankung) erfolgte immer an HE-gefärbten sowie an Perjodsäure-Schiff(PAS)-gefärbten Schnitten. Gegebenenfalls wurden weitere Spezialfärbungen (Grocott, Ziehl-Neelsen, Giemsa, Kossa) angefertigt und zur Beurteilung heran gezogen. Die histopathologische Beurteilung und Einordnung der Biopsien erfolgte nach der „pattern analysis“ (Jubb et al., 1993; Yager, 1994; Scott et al., 2001b).

3.5 Immunhistologie

Für die immunhistologische Untersuchung wurden die Schnitte auf SuperFrost/Plus-Objektträger aufgezogen und bei Raumtemperatur getrocknet.

3.5.1 Seren und Antiseren

3.5.1.1 Ratten-, Kaninchen-, Pferde- und Schweineserum

Vollblut von gesunden Ratten, Kaninchen, Pferden und Schlachtschweinen wurde nach einer Standzeit von zwei bis vier Stunden bei Raumtemperatur für 10 min bei 1500 x g zentrifugiert und das Serum anschließend filtriert. Das Schweineserum wurde zusätzlich filtriert und mit 0,05 % Merthiolat als Konservierungsmittel versetzt. Die Seren wurden portioniert und bis zur Verwendung bei -20 °C gelagert.

3.5.1.2 Antiseren

3.5.1.2.1 Primärantikörper

Die verwendeten Antiseren und ihre Bezugsquellen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Verwendete Primärantikörper und ihre Bezugsquellen

| Antikörper/Klon | Bezugsquelle [Bestell-Nummer] | Verdünnung, Methode | Vorbereitung, Blocken |
|--|---|--------------------------------|--|
| Maus anti-human HLA-DR (α -Kette des MHC II) Klon TAL.1B5 | DakoCytomation, Hamburg [M746] | 1:25 PAP | - ZP (pH 6,0) - 10% Rattenserum |
| Maus anti-felines MHC II (β -Kette des MHC II) Klon F71D4F6H4 | I. von Bothmer, Institut für Veterinär-Pathologie, Universität Gießen | 1:500 PAP | - ZP (pH 6,0) - 10% Rattenserum |
| Kaninchen anti-Hund IgG (H+L) Polyklonal | Dianova GmbH, Hamburg [304-005-003] | 1:6000 ABC-AP | - bakt. Protease Typ XXIV - 20% SS |
| Kaninchen anti-FVIII-related Ag (Endothelzellen) Polyklonal | DakoCytomation, Hamburg [A 0082] | 1:1000 ABC/ ABC-AP | - bakt. Protease Typ XXIV - 20%SS |
| Kaninchen anti-Laminin (Basalmembranen) Polyklonal | Sigma-Aldrich, Seinheim [L-9393] | 1:100 PAP | - bakt. Protease Typ XXIV - 20% SS |
| Maus anti-myeloid/histiocyte Ag (Makrophagen, neutrophile Granulozyten) Klon MAC 387 | DakoCytomation, Hamburg [MO747] | 1:1000 PAP | - bakt. Protease Typ XXIV - 20% SS |
| Kaninchen anti-human CD3 (Pan-T-Zell-Marker) Polyklonal | DakoCytomation, Hamburg [A0452] | 1:200 PAP | - bakt. Protease Typ XXIV - 20%SS |
| Maus anti-human CD79 α _{cy} (B-Zell-Marker) Klon HM57 | DakoCytomation, Hamburg [S1699] | 1:50 ABC | - ZP (pH 6,0) - unverd. Pferdeserum |
| Ratte anti-Maus CD45R (Pan-B-Zell-Marker) Klon B220 (Ly5) | Cedar Lane Lab. Ltd.; Hornby, Canada [CL8990AP] | 1:1000 ABC | - ZP (pH 6,0) - unverd. Pferdeserum |
| Maus anti-Vimentin Klon V9 | DakoCytomation, Hamburg [M725] | 1:50 ABC | - keine - unverd. Pferdeserum |

Ig: Immunglobulin; Ag: Antigen; PAP: Peroxidase anti-Peroxidase;
ABC: Avidin-Biotin-Komplex; ABC-AP: Avidin-Biotin-Komplex-Alkalische Phosphatase;
ZP: Zitratpuffer; SS: Schweineserum

3.5.1.2.2 Verwendete Sekundärantikörper

Die verwendeten Sekundärantikörper und ihre Bezugsquellen sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3: Verwendete Sekundärantikörper und ihre Bezugsquellen

| Antikörper | Bezugsquelle [Bestellnummer] | Verdünnung |
|---|--|-----------------------|
| Ratte anti-Maus IgG (H+L) | Dianova GmbH, Hamburg [415005100] | 1:100 in TBS |
| Ziege anti-Kaninchen IgG, biotinyliert | Vector Laboratories, Burlingame, Kalifornien, USA [BA-1000] | in TBS (9 µl/1000 µl) |
| Schwein anti-Kaninchen IgG | DakoCytomation, Hamburg [Z0196] | 1:100 in 20 % SS |
| Pferd anti-Maus IgG, biotinyliert | Vector Laboratories, Burlingame, Kalifornien, USA [BA-2000] | in TBS (9 µl/1000 µl) |
| Kaninchen anti-Ratte IgG | Dianova GmbH, Hamburg, [BA-4000] | in TBS (9 µl/1000 µl) |

Ig: Immunglobulin; SS: Schweineserum

3.5.1.2.3 Tertiärantikörper und Detektionssysteme

Die verwendeten Tertiärantikörper und Detektionssysteme sowie ihre Bezugsquellen sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tabelle 4: Verwendete Tertiärantikörper und Detektionssysteme sowie ihre Bezugsquellen

| Detektionssystem | Bezugsquelle [Bestellnummer] | Verdünnung |
|---|--|-------------------------------------|
| PAP von der Maus | Dianova GmbH, Hamburg [223005025] | 1:500 in TBS |
| Avidin-Biotin-Komplex (ABC) | Vector Laboratories, Burlingame, Kalifornien, USA [Vectastain ABC Kit PK-4000M] | in TBS (9 µl A und 9 µl B /1000 µl) |
| Avidin-Biotin-Komplex- Alkalische Phosphatase (ABC-AP) | Vector Laboratories, Burlingame, Kalifornien, USA [Vectastain ABC-AP Kit PK-4000M] | in TBS (9 µl A und 9 µl B /1000 µl) |
| PAP vom Kaninchen | DakoCytomation, Hamburg [Z0113] | 1:100 in 20% SS |

PAP: Peroxidase anti-Peroxidase;

ABC: Avidin-Biotin-Komplex; ABC-AP: Avidin-Biotin-Komplex-Alkalische Phosphatase;

SS: Schweineserum

3.5.1.3 Antigen-Demaskierung

Die verwendeten Demaskierungsmethoden sind in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Verwendete Demaskierungsmethoden

| Vorbehandlung | Konzentration | Methode | Dauer | Detektiertes Antigen |
|--|--|------------------------------|--------|--|
| Zitratpuffer pH 6,0 (siehe Anhang) | 10 mM | Bei 97 °C im Wasserbad | 23 min | MHC II, CD79 α cy, CD45R |
| Protease (bakt. Protease Typ XXIV; Sigma, Deisenhofen) | 0,05 % Protease in PBS (pH 7,4; s. Anhang) | Bei 37 °C im Wärmeschrank | 5 min | FVIII, Laminin, IgG, CD3 myeloid/histiocyte Antigen |

3.5.2 Immunhistologischer Nachweis von MHC II

Der immunhistologische Nachweis von MHC II-Antigen erfolgte beim Hund mit einem kreuzreagierenden monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette des humanen HLA-DR (Vilafranca et al., 1995; Day, 1996), bei der Katze erfolgte der Nachweis parallel mit zwei verschiedenen Antikörpern: dem kreuzreagierenden monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette des humanen HLA-DR und einem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II-Moleküls (von Bothmer, 2007). Den zweiten Antikörper stellte Frau Gräfin Isabel von Bothmer im Rahmen des DFG-Projektes „Expression von Proteinen des Felinen Leukämievirus (FeLV) in verschiedenen Zellen und Geweben bei unterschiedlichen Krankheitsbildern nach spontaner Infektion“ (Re 532/5-1) her. Es wurde die PAP-Methode angewandt (von Bothmer, 2007; Sternberger et al., 1970).

3.5.2.1 Immunhistologischer Nachweis der α -Kette des MHC II des Menschen (HLA-DR)

1. Entparaffinieren der Schnitte in Xylol-Ersatz (Roti-Histol[®]) für 10 min; Entfernen des Xylol-Ersatzes in Alkohol (2 x Isopropanol, 1 x 96 % Alkohol, 1 x 80 % Alkohol für je 3 min);
2. Inaktivierung der endogenen Peroxidase in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5 % H₂O₂ (Perhydrol[®] 30 % H₂O₂ p. a.) für 30 min bei Raumtemperatur;
3. Waschen der Schnitte in TBS (pH 7,8; s. Anhang);
4. Zitratpuffer-Behandlung: Erhitzen von 10 mM Zitratpuffer (pH 6,0; s. Anhang) in Plastikküvetten im Wasserbad auf 96 °C; Inkubation der Schnitte für 23 min bei 96 °C

- in den Küvetten; anschließendes Abkühlen der Schnitte in den Küvetten außerhalb des Wasserbades für 15 min bei Raumtemperatur; Waschen der Schnitte in TBS;
5. Aufbringen der Objektträger auf CoverplatesTM und Einführung der CoverplatesTM in die Halterung;
 6. Inkubation mit 10 % Rattenserum in TBS für 10 min bei Raumtemperatur;
 7. Auftragen des Primärantikörpers Maus anti-human HLA-DR (1:25 in TBS) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte mit TBS;
 8. Auftragen des Sekundärantikörpers Ratte anti-Maus IgG (1:100); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
 9. Auftragen des Maus-PAP (1:500 in TBS); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
 10. Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette mit 0,05 % 3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) mit 0,01 % H₂O₂ (s. oben) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH: 7,1; s. Anhang) für 10 min bei Raumtemperatur ;
 11. Waschen der Schnitte 3 x für je 5 min in TBS und 1 x für 3 min in Aqua dest.;
 12. Inkubation der Schnitte für 5 min in Kardasewitch zur Entfernung von Formalinpigment und anschließendes Waschen für 10 min in Aqua dest.;
 13. Gegenfärben mit Papanicolaous Hämatoxylin (1:10 in Aqua dest.) für etwa 20 s und Bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 min;
 14. Entwässern der Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe und zweimaliges Klären in Roti-Histol[®]; Eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec[®]).

3.5.2.2 Immunhistologischer Nachweis der β -Kette des felines MHC II

1. – 6. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
7. Auftragen des Primärantikörpers Maus anti-felines MHC II (1:500 in TBS) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte mit TBS;
8. – 14. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben.

3.5.3 Immunhistologischer Nachweis des von-Willebrandt-Faktors

Die immunhistologische Darstellung von Endothelzellen erfolgte bei Hunden und Katzen mit einem polyklonalen Antikörper gegen den von-Willebrandt-Faktor (Faktor VIII-related Antigen) (Preziosi et al., 2004; Miller et al., 1992) unter Anwendung der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex(ABC)-Methode (Hsu et al., 1981).

1. Entparaffinieren der Schnitte in Xylol-Ersatz (Roti-Histol®) für 10 min; Entfernen des Xylol-Ersatzes in Alkohol (2 x Isopropanol, 1 x 96 % Alkohol, 1 x 80 % Alkohol für je 3 min);
2. Inaktivierung der endogenen Peroxidase in Methanol mit frisch zugesetztem 0,5 % H₂O₂ (Perhydrol® 30 % H₂O₂ p. a.) für 30 min bei Raumtemperatur;
3. Waschen der Schnitte in TBS (pH 7,8; s. Anhang);
4. Protease Behandlung: Spülen und Vorwärmen der Schnitte in PBS (pH 7,4; s. Anhang) bei 37 °C für etwa 5 min; Inkubation in 0,05 % bakterieller Protease Typ XXIV in PBS bei 37 °C für 5 min; 3 x Waschen in eiskaltem TBS für je 5 min;
5. Aufbringen der Objektträger auf Coverplates™ und Einführung der Coverplates™ in die Halterung;
6. Inkubation mit 20 % Schweineserum in TBS für 20 min bei Raumtemperatur;
7. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-Faktor VIII-related Antigen (1:1000 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum in der gleichen Verdünnung (Negativkontrollschnitte); Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
8. Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers Ziege anti-Kaninchen IgG (9 µl auf 1000 µl TBS mit 20 % Schweineserum); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
9. Auftragen des Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplexes (9 µl Avidin und 9 µl Biotin auf 1000 µl TBS); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
10. Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette mit 0,05 % 3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) mit 0,01 % H₂O₂ (s. oben) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH: 7,1; s. Anhang) für 10 min bei Raumtemperatur ;
11. Waschen der Schnitte 3 x für je 5 min in TBS und 1 x für 3 min in Aqua dest.;

12. Inkubation der Schnitte für 5 min in Kardasewitch zur Entfernung von Formalinpigment und anschließendes Waschen für 10 min in Aqua dest.;
13. Gegenfärben mit Papanicolaous Hämatoxylin (1:10 in Aqua dest.) für etwa 20 s und Bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 min;
14. Entwässern der Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe und zweimaliges Klären in Roti-Histol®; Eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec®).

3.5.4 Immunhistologischer Nachweis von Laminin

Die immunhistologische Darstellung von Laminin zum Nachweis von Basalmembranen erfolgte bei Hunden und Katzen mit einem polyklonalen Antikörper gegen Laminin unter Anwendung der PAP-Methode (Sternberger et al., 1970).

1. – 6. Wie unter 3.5.3 beschrieben;
7. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-Laminin (1:100 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum in der gleichen Verdünnung (Negativkontrollschnitte); Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
8. Auftragen des Sekundärantikörpers Schwein anti-Kaninchen IgG (1:100 in TBS mit 20 % Schweineserum); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
9. Auftragen des Kaninchen-PAP (1:100 in TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
10. – 14. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben.

3.5.5 Immunhistologische Phänotypisierung von Leukozyten

3.5.5.1 Immunhistologischer Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens (Calprotectin)

Zur Darstellung von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten wurde ein kreuzreagierender Antikörper gegen das humane myeloid/histiocyte-Antigen (Calprotectin, leucocyte protein L1; (Dale et al., 1983; Brandtzaeg et al., 1992) unter Anwendung der PAP-Methode eingesetzt (Sternberger et al., 1970).

1. – 5. Wie unter 3.5.3 beschrieben;
6. Inkubation mit 10 % Rattenserum in TBS für 10 min bei Raumtemperatur;

7. Auftragen des Primärantikörpers Maus anti-human myeloid/histiocyte Antigen (1:1600 in TBS) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte mit TBS;
8. Auftragen des Sekundärantikörpers Ratte anti-Maus IgG (1:100); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
9. Auftragen des Maus-PAP (1:500 in TBS); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
10. – 14. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben.

3.5.5.2 Immunhistologischer Nachweis des CD3-Antigens (Pan-T-Zell-Marker)

Die Identifizierung von T-Lymphozyten erfolgte mittels des Nachweises des CD3-Antigens als Pan-T-Zell-Marker (Beebe et al., 1994). Zur Detektion wurde die PAP-Methode angewandt (Sternberger et al., 1970).

1. – 6. Wie unter 3.5.3 beschrieben;
7. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-human CD3 (1:200 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum (1:6000; Negativkontroll-schnitte); Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
8. Auftragen des Sekundärantikörpers Schwein anti-Kaninchen IgG (1:100 in TBS mit 20 % Schweineserum); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
9. Auftragen des Kaninchen-PAP (1:100 in TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
10. – 14. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben.

3.5.5.3 Immunhistologischer Nachweis des CD79 α -Antigens

B-Lymphozyten und Plasmazellen des Hundes wurden mittels eines kreuzreagierenden monoklonalen Antikörpers gegen das humane CD 79 α -Antigen auf B-Zellen und Plasmazellen (Klon HM57) (Jones et al., 1993; Affolter and Moore, 2000) nachgewiesen. Es wurde die

Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex(ABC)-Methode eingesetzt (Hsu et al., 1981).

1. – 5. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
6. Inkubation mit unverdünntem Pferdeserum für 10 min bei Raumtemperatur;
7. Auftragen des Primärantikörpers Maus anti-human CD 79 α (1:50 in TBS mit 1 % BSA) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte mit TBS;
8. Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers Pferd anti-Maus IgG (9 μ l auf 1000 μ l TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
9. Auftragen des Avidin-Biotin-Komplexes (9 μ l Avidin und 9 μ l Biotin auf 1000 μ l TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
10. – 14. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben.

3.5.5.4 Immunhistologischer Nachweis des CD 45R-Antigens (B220 (Ly 5)) (Pan-B-Zell-Marker)

B-Lymphozyten und Plasmazellen der Katze wurden mittels eines monoklonalen Antikörpers gegen das CD 45R-Antigen auf B-Zellen, Plasmazellen und B-Zell-Vorstufen (B220 (Ly 5), Klon RA3-6B2; (Coffman and Weissman, 1981) nachgewiesen, der bei der Katze als Pan-B-Zellmarker dient (Monteith et al., 1996; Kipar et al., 1998). Es wurde die Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex (ABC)-Methode eingesetzt (Hsu et al., 1981).

1. – 5. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
6. Inkubation mit unverdünntem Pferdeserum für 10 min bei Raumtemperatur;
7. Auftragen des Primärantikörpers Ratte anti-Maus CD 45R-Antigen (1:2000 in TBS mit 1 % BSA) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte mit TBS;
8. Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers Kaninchen anti-Ratte (9 μ l auf 1000 μ l TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
9. Auftragen des Avidin-Biotin-Peroxidase Komplexes (9 μ l Avidin und 9 μ l Biotin auf 1000 μ l TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei

Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;

10. – 14. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben.

3.5.6 Nachweis von Vimentin

Der Nachweis von Vimentin erfolgte bei Hunden und Katzen durch einen kreuzreagierenden monoklonalen Antikörper (Kipar, 1994) unter Anwendung der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex(ABC)-Methode (Hsu et al., 1981).

1. – 3. Wie unter 3.5.2.1 und 3.5.3 beschrieben;
4. Aufbringen der Objektträger auf Coverplates™ und Einführung der Coverplates™ in die Halterung;
5. Inkubation mit unverdünntem Pferdeserum für 15 min bei Raumtemperatur;
6. Auftragen des Primärantikörpers Maus anti-Vimentin (1:50 in TBS mit 1 % BSA) oder des Kontrollantikörpers T1 (gegen ein Oberflächenantigen von Hühner-Lymphozyten gerichtet; Hirschberger, 1987) in der gleichen Verdünnung; Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
7. Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers Pferd anti-Maus IgG (9 µl auf 1000 µl TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
8. Auftragen des Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplexes (9 µl Avidin und 9 µl Biotin auf 1000 µl TBS mit 1 % BSA); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das Coverplate™;
9. Inkubation der Schnitte unter ständigem Rühren (Magnetrührer) in einer Küvette mit 0,05 % 3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid (DAB) mit 0,01 % H₂O₂ (s. oben) in 0,1 M Imidazolpuffer (pH: 7,1; s. Anhang) für 10 min bei Raumtemperatur;
10. Waschen der Schnitte 3 x für je 5 min in TBS und 1 x für 3 min in Aqua dest.;
11. Inkubieren der Schnitte für 5 min in Kardasewitch zur Entfernung von Formalinpigment und anschließendes Waschen für 5 min in Aqua dest.;
12. Gegenfärben mit Papanicolaous Hämatoxylin (1:10 in Aqua dest.) für etwa 20 s und Bläuen der Schnitte in Leitungswasser für 5 min;
13. Entwässern der Schnitte in der aufsteigenden Alkoholreihe und zweimaliges Klären in Roti-Histol®; Eindecken mit Folie im Eindeckautomaten (TissueTec®).

3.5.7 Doppelmarkierung des MHC II und des von Willebrandt-Faktors

Zur Identifizierung von MHC II-positiven Endothelzellen und zur Abgrenzung gegenüber aus den Gefäßen auswandernden Zellen des immunologischen Systems erfolgte bei Hunden und Katzen eine Doppelmarkierung mit dem kreuzreagierenden monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette des humanen HLA-DR und dem kreuzreagierenden polyklonalen Antikörper gegen den von Willebrandt-Faktor. Bei der Katze erfolgte zusätzlich eine Doppelmarkierung mit dem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des feline MHC II-Moleküls und dem kreuzreagierenden polyklonalen Antikörper gegen den von Willebrandt-Faktor.

3.5.7.1 Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen HLA-DR und den von Willebrandt-Faktor

1. – 11. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
12. Protease Behandlung: Spülen und Vorwärmen der Schnitte in PBS (pH 7,4; s. Anhang) bei 37 °C für etwa 5 min; Inkubation in 0,05 % bakterieller Protease Typ XXIV in PBS bei 37 °C für 5 min; 3 x Waschen in eiskaltem TBS für je 5 min;
13. Aufbringen der Objektträger auf CoverplatesTM und Einführung der CoverplatesTM in die Halterung;
14. Inkubation mit 20 % Schweineserum in TBS für 20 min bei Raumtemperatur;
15. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-Faktor VIII-related Antigen (1:1000 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum in gleicher Verdünnung (Negativkontrollschnitte); Inkubation der Schnitte für 12 – 18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
16. Auftragen des biotinylierten Sekundärantikörpers Ziege anti-Kaninchen IgG (9 μ l auf 1000 μ l TBS mit 20 % Schweineserum); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
17. Auftragen des Avidin-Biotin-alkalische Phosphatase-Komplexes (9 μ l Avidin und 9 μ l Biotin auf 1000 μ l TBS); Inkubation der Schnitte für 30 min bei Raumtemperatur; Spülen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
18. Ansatz der Entwicklungslösung mit Neufuchsin für 10 Objektträger:
 1. 43,75 ml TBS mit 15,6 ml Propandiol mischen und mit 1 N NaOH auf einen pH-Wert von 9,75 einstellen, in dieser Lösung 25 mg Levamisol lösen;
 2. 12,5 mg Natriumnitrit in 313 μ l Aqua Bidest lösen;

3. 31,2 mg Naphtol-AS-Bi-Phosphat in 375 μ l DMF (Dimethylformamid) lösen (gelblich);
4. in das gelöste NaNO_2 125 μ l Neufuchsin geben und stehen lassen bis die Lösung klar wird;
5. zuerst die unter d) angegebene Lösung und anschließend die unter c) angegebene Lösung in den Pufferansatz (a) geben und den pH-Wert mit 1 N HCl auf 8,75 einstellen;
19. Diese in eine Küvette filtrieren und die Objektträger für maximal 25 min inkubieren;
20. Waschen der Schnitte 2 x für je 5 min in TBS und 1 x für 5 min in Aqua dest.;
21. Eindecken der Schnitte mit Glycergel.

3.5.7.2 Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen die β -Kette des felines MHC II und den von Willebrandt-Faktor

1. – 7. Wie unter 3.5.2.2 beschrieben;
8. – 11. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
12. – 21. Wie unter 3.5.7.1 beschrieben;

3.5.8 Doppelmarkierung von MHC II und caninem IgG

Zur eindeutigen Identifizierung der MHC II-Expression auf Plasmazellen wurde bei Hunden und Katzen eine Doppelmarkierung mit dem kreuzreagierenden monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette des humanen HLA-DR und einem polyklonalen Antikörper gegen canines IgG durchgeführt. Bei der Katze erfolgte zusätzlich eine Doppelmarkierung mit dem monoklonalen Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II-Moleküls und dem polyklonalen Antikörper gegen das canine IgG.

3.5.8.1 Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen HLA-DR und IgG

1. – 14. Wie unter 3.5.7.1 beschrieben;
15. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-Hund IgG (1:6000 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum in gleicher Verdünnung (Negativkontrollschnitte); Inkubation der Schnitte für 12–18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
16. – 21. Wie unter 3.5.7.1 beschrieben.

3.5.8.2 Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen die β -Kette des feline MHC II und gegen canines IgG

1. – 7. Wie unter 3.5.2.2 beschrieben;
8. – 11. Wie unter 3.5.2.1 beschrieben;
12. – 14. Wie unter 3.5.7.1 beschrieben;
15. Auftragen des Primärantikörpers Kaninchen anti-Hund IgG (1:6000 in TBS mit 20 % Schweineserum) oder von Kontrollkaninchenserum in gleicher Verdünnung (Negativkontrollschnitte); Inkubation der Schnitte für 12–18 h bei 4 °C; Waschen der Schnitte durch Einbringen von 2 ml TBS in das CoverplateTM;
16. – 21. Wie unter 3.5.7.1 beschrieben.

3.5.9 Immunhistologische Kontrollen

Als Positivkontrolle für die Antikörper gegen MHC II sowie für die Lymphozytenmarker (CD3, CD79 α , CD45R) und die Antikörper gegen das myeloid/histiocyte Antigen dienten Gewebeschnitte von Milz und Lymphknoten (Kipar et al., 1998). Als interne Positivkontrolle für die Antikörper gegen MHC II wurden zusätzlich die konstitutionell MHC II-exprimierenden LHZ in der Epidermis genutzt (Rabanal et al., 1995; Rideout et al., 1990; Roosje et al., 1997). Gewebeschnitte eines caninen cutanen Plasmozytoms wurden als Kontrolle zum Nachweis von IgG herangezogen. In den Hautbiopsien vorhandene Gefäße dienten als interne Positivkontrolle für den Nachweis von Faktor VIII-related Antigen. Für die Marker gegen Vimentin und Laminin wurden ebenfalls in den Hautbiopsien vorhandene Fibrozyten beziehungsweise Basalmembranen als interne Positivkontrollen genutzt.

Die Negativkontrollen stellten die jeweils parallel mit dem Kontrollserum beziehungsweise einem nicht reagierenden Antikörper inkubierten Folgeschnitte dar.

3.5.10 Beurteilung der Immunhistologie

3.5.10.1 Nachweis der MHC II-Antigene

Die positive Reaktion ist im Falle beider Antikörper (Klon TAL.1B5 und F71D4F6H4) an einer diffusen granulären oder membranassoziierten zytoplasmatischen Färbung sowie einem mittel- bis dunkelbraunen Saum an der Zelloberfläche zu erkennen.

3.5.10.2 Nachweis der übrigen Antigene

Beim Nachweis von IgG stellt sich die positive Reaktion als mäßig starke feingranuläre diffuse zytoplasmatische Färbung dar. Die Markierung mit dem Antikörper gegen das Faktor

VIII-related Antigen führt zu einem starken granulären zytoplasmatischen Farbniederschlag. Beim Nachweis von CD3, CD79 α und CD45R stellt sich die positive Reaktion als mittel- bis dunkelbrauner Saum in der Lymphozytenperipherie, beziehungsweise als gleichmäßige mittelbraune zytoplasmatische Markierung in Plasmazellen (CD79 α und CD45R) dar. Der Nachweis des myeloid/histiocyte Antigens ergibt eine starke zytoplasmatische Färbung. Vimentin-positive Zellen zeigen eine homogene mittelbraune zytoplasmatische Markierung. Der Nachweis von Laminin ist durch ein feingranuläres dunkelbraunes zytoplasmatisches Signal charakterisiert.

3.5.10.3 Quantitative Auswertung der MHC II-Expression

3.5.10.3.1 Beurteilung der MHC II-Expression auf den Langerhans-Zellen der Epidermis

Die Menge der LHZ in der Epidermis wurde mittels einer semiquantitativen Methode erfasst. Unter Einbeziehung der gesamten in einer Biopsie vorhandenen Epidermis erfolgte die Einstufung nach den unten genannten Kriterien:

- 0 = keine LHZ in der Epidermis vorhanden
- 1 = vereinzelte suprabasal liegende LHZ mit geringen zytoplasmatischen Fortsätzen
(Vergleichsfall Hund: T205/05; Vergleichsfall Katze: T8222/04)
- 2 = zahlreiche, gleichmäßig über die Epidermis verteilte, auch im oberen Stratum basale und Stratum granulosum liegende LHZ
(Vergleichsfall Hund: T1647/05; Vergleichsfall Katze: T1752/04)
- 3 = zahlreiche, gleichmäßig dicht liegende oder in größeren Gruppen angeordnete LHZ in allen Schichten der Epidermis
(Vergleichsfall Hund: T1917/04; Vergleichsfall Katze: T1488/04)
- 4 = größere Areale mit dicht gepackt liegenden LHZ
(Vergleichsfall Hund: T3720/06; Vergleichsfall Katze: B14)

3.5.10.3.2 Beurteilung der MHC II-Expression auf Keratinozyten

Im Falle einer immunhistologischen Markierung von mehreren im Str. basale oder im Str. basale und Str. spinosum liegenden Keratinozyten wurden MHC II-positive epidermale Keratinozyten dokumentiert. Die follikulären Keratinozyten zeigten eine unterschiedlich starke Expression. Eine deutliche MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten wurde dokumentiert, wenn in mehr als zwei Haarfollikeln mehrere positive Keratinozyten vorhanden und diese schon durch das 10er Objektiv sichtbar waren. Eine schwache Expression wurde bekundet, wenn in maximal zwei Haarfollikeln im 40er Objektiv einzelne MHC II-positive Keratinozyten detektierbar waren.

3.5.10.3.3 Beurteilung der MHC II-Gesamtexpression

Die Ermittlung der MHC II-Gesamtexpression erfolgte ebenfalls über semiquantitative Methoden, wobei die Gesamtexpression in der nachstehenden Art und Weise notiert wurde:

- + = vereinzelt positiv markierte Zellen
- ++ = deutliche Markierung von zahlreichen einzeln liegenden Zellen
- +++ = flächenhafte Markierung um Haarfollikel
- ++++ = flächenhafte Markierung in mehreren Arealen des histologischen Schnittes

3.5.10.4 Statistische Analyse

Für den Gruppenvergleich (Hunde mit Dermatitis, Hunde mit nicht entzündlichen Hautveränderungen, Kontrollgruppe) der semiquantitativ gewonnenen Daten über die MHC II-Gesamtexpression und die Menge der LHZ in der Epidermis beim Hund wurden Häufigkeitstabellen angefertigt und der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Für die Katze wurden ebenfalls Häufigkeitstabellen angefertigt, für den Gruppenvergleich bezüglich der Merkmale „MHC II-Gesamtexpression“ und „Menge der LHZ in der Epidermis“ kam jedoch der exakte Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (WMW) zur Anwendung, da im Falle der Untersuchten Katzen nur zwei zu vergleichende Gruppen (Katzen mit Dermatitis und Kontrollgruppe) existierten und in allen Fällen eine Bindung von fast 100 % vorlag.

Die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen MHC II-Gesamtexpression und Menge der LHZ in der Epidermis wurde mit Hilfe einer Korrelationsanalyse unter Verwendung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (r_s) durchgeführt.

Für die statistische Auswertung der MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten beim Hund kamen der verallgemeinerte Fisher-Test für 2 x K-Kontingenztafeln nach dem Freeman-Halton-Prinzip sowie der exakte Fisher-Test zur Anwendung. Wenn sich nach dem verallgemeinerten Fisher-Test eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von $\leq 0,05$ ergab, er-

folgte ein Vergleich der einzelnen Gruppen mittels des exakten Fishertestes in Vierfelder Tafeln.

Die Berechnungen erfolgten mit Programmen des Institutes für Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig Universität Giessen. Für den Kruskal-Wallis-Test kam das Programm B5, für den WMW-Test das Programm BMDP6D und für den verallgemeinerten Fisher-Test ein interaktives Programm zur Berechnung von 2 x K-Kontingenztafeln nach dem Freeman-Halton-Prinzip zur Anwendung. Der paarweise Vergleich der einzelnen Follikulitiden erfolgte durch ein frei zugängliches Programm¹. Bei der Bewertung statistischer Signifikanzen wurde ein Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ zugrunde gelegt. Das Problem der α -Fehler-Kumulierung, welches durch die globale Erhöhung der α -Fehler-Wahrscheinlichkeit aufgrund multiplem Testen in derselben Grundgesamtheit entsteht, wurde durch die Anwendung der Bonferroni-Adjustierung neutralisiert. Dabei kam es zur Verteilung des globalen α -Niveaus zu gleichen Teilen auf die Einzeltests ($0,05/6 = 0,0083$).

¹(www.faculty.vassar.edu/lowry/fisher.html)

4 Ergebnisse

Insgesamt wurden 169 Hautbiopsien vom Hund und 94 Hautbiopsien von der Katze untersucht.

4.1 Ergebnisse Hund

4.1.1 Histopathologische Untersuchung an HE-gefärbten und PAS-gefärbten Schnitten

Aufgrund des vorherrschenden histopathologischen Erscheinungsbildes im HE-gefärbten Schnitt ergab sich die Einteilung in nachstehende Gruppen von Dermatitiden:

4.1.1.1 Follikulitiden

Insgesamt wurden 86 Follikulitiden diagnostiziert. Dabei ließ sich in 44 Fällen eine hochgradige eitrig-entzündliche Entzündung und eine Zerstörung der Haarfollikel, also eine Furunkulose beobachten. Um die freien Haarschäfte sowie um Keratinlamellen lagen zahlreiche Makrophagen und vereinzelt mehrkernige Riesenzellen. 31 Follikulitiden entsprachen dem Bild der muralen Follikulitis, welche durch eine murale Infiltration mit Entzündungszellen vor allem im Bereich des Isthmus und Infundibulums charakterisiert ist. Handelte es sich bei den Leukozyten vorwiegend um Lymphozyten und lagen zusätzlich Apoptosen und eine Blasenbildung in der dem Stratum basale entsprechenden Schicht der äußeren Wurzelscheide vor, wurde die Diagnose der muralen Interface Follikulitis gestellt. Sechs Biopsien wiesen primär um die Gefäße des mittleren Plexus lokalisierte Entzündungszellinfiltrate, das heißt eine Perifollikulitis auf. Eine luminale Follikulitis mit einer Ansammlung von neutrophilen Granulozyten im Follikellumen lag in vier Fällen vor. Außerdem zeigte eine Probe eine von eosinophilen Granulozyten dominierte Entzündung des Haarfollikels.

Ursächlich lag in 45 Fällen eine Infektion mit *Demodex canis*, in 19 Fällen eine Infektion mit Dermatophyten (*Microsporum canis* oder *Trichophyton* ssp.) und in fünf Fällen eine Infektion mit kokkoiden Bakterien zugrunde. Die entsprechenden Erreger (Demodexmilben, Pilzsporen und -hyphen, Bakterienkolonien) waren jeweils mikroskopisch nachweisbar. Weiterhin konnten zwei Fälle von Furunkulose aufgrund eines rupturierten Druckpunkt Kome-

dons, ein Fall von interdigitaler Follikulitis/Furunkulose und zwei Schäferhundpyodermien beobachtet werden. Letztere waren aufgrund der charakteristischen blutgefüllten Pusteln in der oberflächlichen und mittleren Dermis von den übrigen Follikulitiden abgrenzbar. Für die eosinophile Follikulitis/Furunkulose wurde in Zusammenhang mit dem Vorbericht, dem klinischen Bild und der Lokalisation der Veränderungen eine Insektenstichhypersensitivität als Ursache diagnostiziert.

Die Demodikose ging in 26 Fällen mit einer muralen Follikulitis einher. In 14 Fällen dominierte das Bild der Furunkulose, wobei in sieben Biopsien neben der Furunkulose auch eine murale Follikulitis zu beobachten war. 5 Biopsien zeigten lediglich eine Perifollikulitis.

Hunde die an einer Dermatophytose litten, wiesen in 13 Fällen vor allem eine Furunkulose auf, fünf Biopsien waren durch das Vorliegen einer muralen Follikulitis und eine Biopsie durch das Bestehen einer Perifollikulitis gekennzeichnet.

Bei den bakteriell bedingten Follikulitiden handelte es sich im Einzelnen in drei Fällen um eine Furunkulose und in 2 Fällen um eine luminale Follikulitis. Insgesamt war in neun Biopsien mit Furunkulose, in einer Biopsie mit muraler Follikulitis und in einem Fall von luminaler Follikulitis keine eindeutige Ursache feststellbar. In Abbildung 2 sind die verschiedenen Follikulitiden mit ihren jeweiligen Ursachen zusammengefasst.

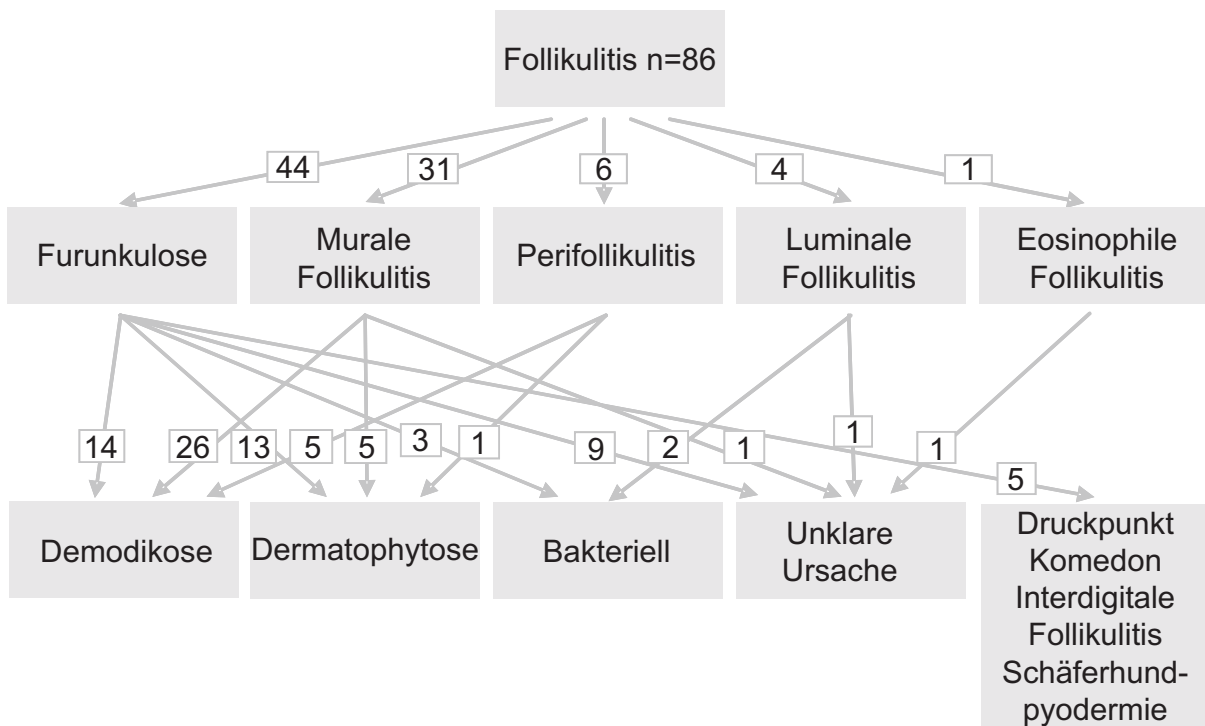


Abbildung 2: Übersicht über die verschiedenen Follikulitiden beim Hund und ihre Ursachen.

4.1.1.2 Interface Dermatitiden

13 Biopsien zeigten ein den dermo-epidermalen Übergang maskierendes lymphoplasmazelluläres Infiltrat, weshalb die Veränderungen in diesen Biopsien den Interface Dermatitiden (IFD) zugeordnet wurden. In neun der 13 Fälle fanden sich, zusätzlich zu dem oben beschriebenen Infiltrat, apoptotische Keratinozyten im Stratum basale und/oder eine Blasenbildung im Zytoplasma von Zellen des Stratum basale. Mittels der PAS-Färbung konnte stellenweise eine verdickte Basalmembran nachgewiesen werden. Die immunhistologische Färbung mit Antikörpern gegen canine Immunglobuline (IgG, IgM) und C3 zeigte zusätzlich in den meisten Fällen eine positive Reaktion an der Basalmembran. Außerdem konnten in allen Fällen eine deutliche Melanininkontinenz sowie eine Hyperplasie der Epidermis und in sechs Fällen eine dermo-epidermale Spaltbildung beobachtet werden. Ursächlich wurde deshalb in allen neun Fällen ein Lupus erythematodes (LE) angenommen. Zwei andere Proben zeigten neben den schon beschriebenen Veränderungen auch zahlreiche apoptotische Keratinozyten im Stratum spinosum, weshalb die Diagnose des Erythema multiforme gestellt wurde. In Zwei Biopsien mit IFD gab es keinen eindeutigen Hinweis auf eine zugrundeliegende Ursache.

4.1.1.3 Perivaskuläre hyperplastische Dermatitiden mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten

16 Hautproben vom Hund zeigten eine perivaskuläre hyperplastische Dermatitis (PHD) mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten. Im einzelnen waren die Veränderungen durch eine deutliche dermale perivaskuläre und interstitielle Infiltration mit Mastzellen, eine eosinophile Exozytose, teilweise eine Spongiose sowie Ulzeration und ein subepidermales Ödem gekennzeichnet. In 14 der Biopsien wurde eine Allergie als Grund für die Veränderungen angenommen. In einer Probe fanden sich ferner mehrere Foci einer lymphozytären Exozytose und eine auf die Areale der lymphozytären Exozytose begrenzte Spongiose, weshalb die Hautentzündung als Atopie eingestuft wurde. Die verbleibende Probe zeigte neben den beschriebenen Veränderungen Anschnitte von Sarkoptes Milben (T8095/05).

4.1.1.4 Sonstige perivaskuläre Dermatitiden

Eine perivaskuläre Dermatitis (PD) wurde in insgesamt 13 Fällen beobachtet. In fünf Proben dominierten im perivaskulären Infiltrat eindeutig die neutrophilen Granulozyten. Daneben befanden sich auf der Oberfläche der Epidermis serozelluläre Krusten sowie Bakterienkolonien. Zwei Proben waren oberflächlich ulzeriert und wiesen neben den neutrophilen Granulozyten in der Dermis auch zahlreiche Plasmazellen auf. Eine weitere Biopsie zeigte in der

von Kossa-Färbung eine Verkalkung der fibrösen Wurzelscheide (T7705/03).

Das perivaskuläre Infiltrat bestand in fünf Biopsien neben neutrophilen Granulozyten auch aus zahlreichen Mastzellen. Ferner fand sich in diesen Biopsien eine Epidermishyperplasie mit ausgeprägten plumpen Reteleisten, eine fokale Spongiose, eine auf mehrere Foci beschränkte lymphozytäre Exozytose und eine Parakeratose. In drei dieser fünf Fälle konnten mittels der PAS-Färbung *Malassezia* spp. nachgewiesen werden.

Eine Biopsie (T1099/04) zeigte neben einer deutlichen irregulären Hyperplasie eine vertikal zur Hautoberfläche orientierte dermale Fibrose. Das perivaskuläre Infiltrat bestand primär aus Plasmazellen und Lymphozyten. Zusätzlich konnten mittels der PAS-Färbung im Stratum corneum Pilzhyphen gefunden werden. Diese Kombination von Veränderungen weist auf das Vorliegen einer Akralen Leckdermatitis hin. Da jedoch keine Angaben zur Lokalisation vorlagen, konnte die Diagnose nicht mit Sicherheit gestellt werden. Zwei Biopsien wiesen lediglich ein dezentes perivaskuläres Infiltrat aus neutrophilen Granulozyten, Mastzellen und vereinzelten Lymphozyten auf.

4.1.1.5 Pustulöse Dermatitiden

Sechs histologische Schnitte zeigten eine pustulöse Dermatitis. In vier von diesen Schnitten befanden sich die Pusteln subkorneal, enthielten vorwiegend hypersegmentierte und degenerierte neutrophile Granulozyten und dehnten sich immer zwischen zwei Follikelostien aus. Selten befanden sich auch akantholytische Keratinozyten in einer der Pusteln, diese waren jedoch nicht abgerundet. Zusätzlich zeigten alle Biopsien ein dermales Infiltrat aus überwiegend neutrophilen Granulozyten sowie serozelluläre Krusten. All diese Veränderungen sprechen für eine oberflächliche, bakteriell bedingte Pyodermie. Ein weiterer Schnitt (T906/04) zeigte ebenfalls subkorneale Pusteln, diese enthielten jedoch fast ausschließlich neutrophile Granulozyten mit wenig segmentierten Kernen. Die Pusteln dehnten sich zum Teil über mehr als zwei Follikelostien aus und enthielten massenhaft akantholytische abgerundete Keratinozyten. Deshalb wurde die Diagnose eines Pemphigus foliaceus gestellt. Die verbleibende Biopsie (T8585/05) dieser Gruppe von Veränderungen zeigte mit eosinophilen Granulozyten angefüllte Pusteln sowie ein von eosinophilen Granulozyten dominiertes dermales perivaskuläres Infiltrat. Aufgrund des Verteilungsmusters und des fehlenden Nachweises von Parasiten wurde in diesem Fall ursächlich eine Allergie angenommen.

4.1.1.6 Noduläre und diffuse Dermatitiden

Dieser Gruppe von Veränderungen wurden insgesamt fünf Biopsien zugeordnet. Eine Biopsie (T8328/05) wies eine noduläre granulomatöse Dermatitis auf, in der mittels der Färbung

nach Giemsa intrazytoplasmatisch in Makrophagen liegende Leishmanien ssp. gefunden wurden. Eine weitere Probe zeigte eine granulomatöse Entzündung, in die, neben Makrophagen und Lymphozyten, auch zahlreiche eosinophile Granulozyten involviert waren. Zusätzlich fanden sich in dieser Probe Areale von degranulierten und degenerierten eosinophilen Granulozyten, welche um einzelne Kollagenfasern herum angeordnet waren („flame figures“), weshalb die Diagnose des eosinophilen Granuloms gestellt wurde. Zwei weitere Biopsien zeigten eine multifokale bis konfluierende pyogranulomatöse Dermatitis, für die auch mittels Spezialfärbungen keine Ursache gefunden werden konnte. Die fünfte Probe dieser Gruppe stammte aus dem Sohlenballen eines Hundes. Das diffuse lymphoplasmazelluläre dermale Infiltrat, welches bis tief in das Fettpolster des Ballens hinein zog, entsprach dem Bild der plasmazellulären Pododermatitis, wie es für die Katze beschrieben ist.

4.1.1.7 Pannikulitiden

Zwei histologische Schnitte wiesen eine diffuse pyogranulomatöse Pannikulitis auf. In beiden Schnitten wurden frei in der Dermis und im Pannikulus liegende Keratinlamellen bei ansonsten unveränderten Haarfollikeln gefunden. Ursächlich wurde deshalb eine rupturierte Follikelzyste angenommen.

4.1.1.8 Nekrotisierende Dermatitis

Eine Biopsie (T1613/04) zeigte das Bild einer oberflächlich nekrotisierenden Dermatitis, welches durch eine Parakeratose, ein intrazelluläres Ödem in Keratinozyten und eine Proliferation des Stratum basale („french flag“) sowie ein dermales Infiltrat aus neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen gekennzeichnet ist.

4.1.1.9 Atrophische Dermatosen

Sieben der untersuchten Biopsien wiesen eine Atrophie der Epidermis, eine korbgeflechtartige orthokeratotische Hyperkeratose und eine Atrophie von Haarfollikeln und Adnexen auf. In vier dieser Fälle fiel zusätzlich eine ausgeprägte infundibuläre Hyperkeratose bis hin zur Komedonbildung, eine extreme Atrophie der Talgdrüsen und teilweise eine Verkalkung der fibrösen Wurzelscheide auf. Aus diesen Gründen wurde ursächlich ein Hyperadrenokortizismus angenommen. Bei einem weiteren Hund fand sich eine verstärkte tricholemmale Keratinisierung der Haarfollikel („flame follicles“), was auf eine Hypothyreose hindeutet. Diese konnte durch einen TSH-Stimulationstest bestätigt werden. In zwei Proben wurde kein Hinweis auf eine bestimmte Ursache gefunden.

4.1.1.10 Verhornungsstörungen

Insgesamt zeigten drei der untersuchten Biopsien eine Verhornungsstörung. In zwei Fällen handelte es sich um Proben von Golden Retrievern. Das histopathologische Bild war durch eine mittelgradige kompakte orthokeratotische Hyperkeratose geprägt und die Hornschicht löste sich stellenweise schuppenartig ab. Der verbleibende Fall zeigte eine hochgradige lamelläre orthokeratotische und infundibuläre Hyperkeratose. Die Dermis wies in allen drei Fällen keine entzündlichen Infiltrate auf. Die ersten beiden beschriebenen Fälle wurden als Golden Retriever Ichthyosis eingestuft, der dritte Fall als primäre Seborrhoe.

4.1.1.11 Hautveränderungen mit dermalen Ablagerungen

Zwei Hautproben vom Hund wiesen fokale Kalkablagerungen mit einer angrenzenden, durch Makrophagen, Lymphozyten und Riesenzellen charakterisierten Entzündung auf (Calcinosis circumscripta cutis).

4.1.1.12 Dysplastische Veränderungen der Haarfollikel

Aus dieser Gruppe von Hauterkrankungen wurden zwei Biopsien, in denen eine Farbverdünnungsalopezie vorlag, untersucht. Letztere war durch das Vorhandensein von dysplastischen Haarfollikeln mit dünnen, zerbrochenen Haarschäften charakterisiert. Die Haarschäfte enthielten große Melaninklumpen. Im perifollikulären Gewebe lagen zahlreiche Melanomakrophagen, die ebenfalls große Melaninklumpen enthielten.

4.1.1.13 Biopsien ohne eindeutiges Veränderungsmuster

Insgesamt ließen sich 13 der untersuchten Biopsien nicht einem einzelnen Veränderungsmuster zuordnen. Vielmehr lagen Veränderungen, welche für unterschiedliche Muster typisch sind, gleichzeitig vor und keine dominierte in der Form, dass eine Zuteilung zu einer bestimmten Gruppe möglich gewesen wäre.

4.1.2 Immunhistologische Untersuchung

Immunhistologisch wurde untersucht, auf und in welchen Zellen (insbesondere solchen des Immunsystems (LHZ der Epidermis, infiltrierende Zellen wie Makrophagen und Lymphozyten), Keratinozyten und Endothelzellen) MHC II in welcher Intensität vorkommt.

4.1.2.1 MHC II-Nachweis auf Zellen des Immunsystems

4.1.2.1.1 Langerhans-Zellen

Zu den LHZ wurden zwischen den Keratinozyten der Epidermis und des Infundibulums liegende Zellen, welche seitliche zytoplasmatische Fortsätze aufwiesen, gezählt (Abbildung 3).

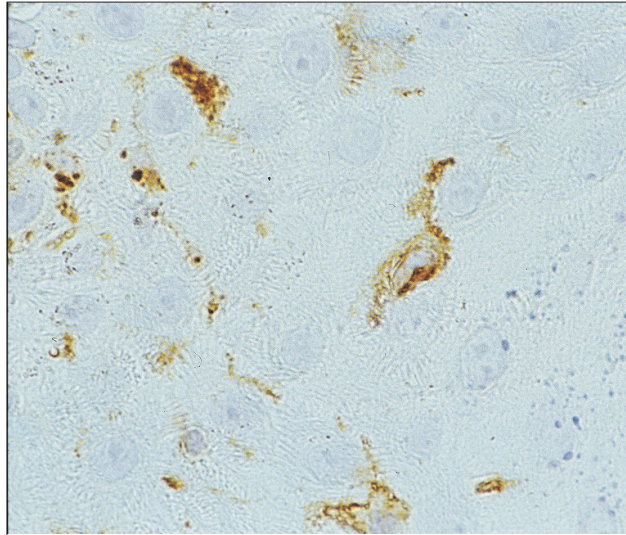


Abbildung 3: Tagebuchnummer T1316/04. MHC II-Expression auf LHZ der Epidermis, Demodikose. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

In allen untersuchten Biopsien ließ sich MHC II auf den LHZ der Epidermis nachweisen. Unterschiede zwischen den verschiedenen Hautveränderungen ergaben sich bezüglich der Anzahl der LHZ in den verschiedenen Biopsien sowie in der Ausprägung der zytoplasmatischen Fortsätze. Die Expressionsintensität dagegen stellte sich in allen untersuchten Proben gleich stark dar. Auffällig in diesem Zusammenhang war, dass in den Biopsien mit entzündlichen Hautveränderungen deutlich mehr LHZ in der Epidermis vorhanden waren, als in den Biopsien mit nicht entzündlichen Hautveränderungen und in Biopsien der Kontrollgruppe. Zudem zeigten die LHZ in den entzündlichen Hautveränderungen stärker ausgeprägte zytoplasmatische Fortsätze. Das quantitative Vorkommen von LHZ bei den verschiedenen Hautveränderungen ist in den Abbildungen 4 und 5 dargestellt.

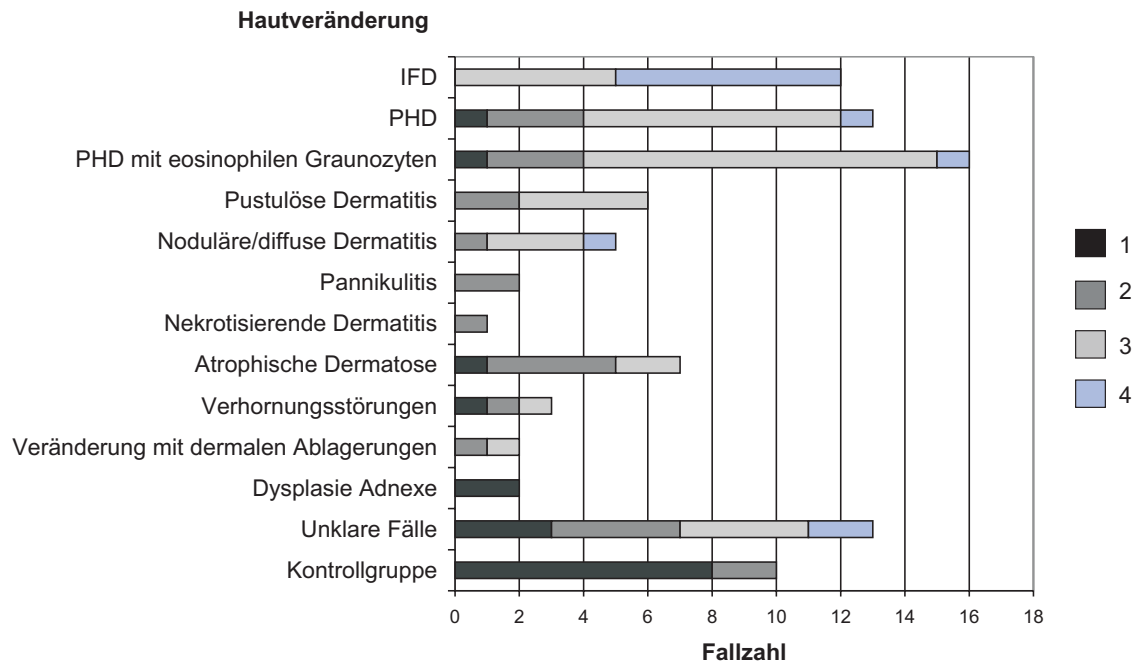


Abbildung 4: Menge der LHZ in der Epidermis bei Hauterkrankungen des Hundes. IFD: Interface Dermatitis; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis. 1 = vereinzelt suprabasal liegende LHZ; 2 = zahlreiche gleichmäßig verteilt liegende LHZ; 3 = zahlreiche dicht liegende LHZ; 4 = größere Areale mit dicht gepackten LHZ.

Die Beobachtung, dass zwischen den Biopsien mit Dermatitis, den Biopsien mit nicht entzündlichen Hautveränderungen und der Kontrollgruppe ein Unterschied in der Menge der LHZ in der Epidermis besteht, konnte statistisch belegt werden. Mittels des Kruskal-Wallis-Testes wurde ein global gesehen statistisch hoch signifikanter Unterschied ermittelt ($p < 0,0001$). Die Daten zum Gruppenvergleich sind in Tabelle 12 im Anhang aufgeführt. Innerhalb der entzündlichen Hautveränderungen ergab sich ebenfalls ein statistisch signifikanter Unterschied in der Häufigkeit der LHZ in der Epidermis ($p = 0,0014$), wobei die Gruppe der Interface Dermatitis durch eine besonders hohe mittlere Rangzahl im Vergleich zu den anderen Dermatitis auffiel (siehe Tabelle 13 im Anhang).

4.1.2.1.2 Weitere Zellen des Immunsystems

Auf allen die Haut infiltrierenden Makrophagen, mehrkernigen Riesenzellen, B-Lymphozyten und T-Lymphozyten konnten unabhängig vom Charakter und der Ursache der Entzündung MHC II-Proteine nachgewiesen werden. Die Differenzierung von B- und T-Lymphozyten erfolgte dabei anhand von Serienschnitten, die mit den Antikörpern gegen CD3 beziehungs-

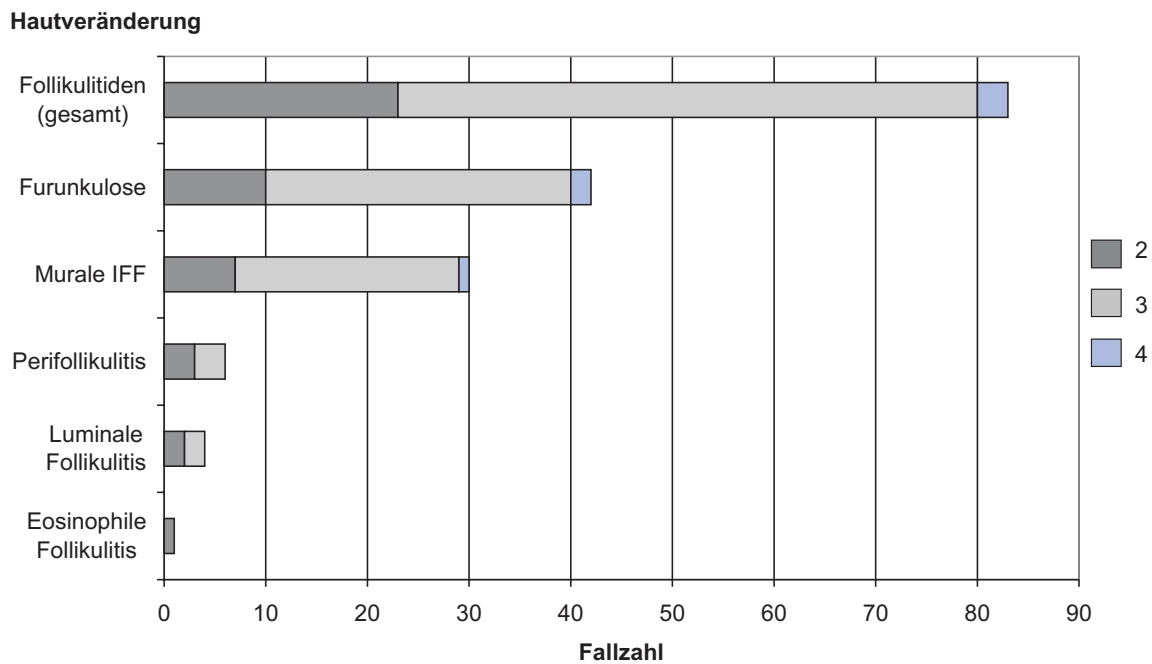


Abbildung 5: Menge der LHZ in der Epidermis bei Follikulitiden des Hundes. IFF: Interface Follikulitis. 2 = zahlreiche gleichmäßig verteilt liegende LHZ; 3 = zahlreiche dicht liegende LHZ; 4 = größere Areale mit dicht gepackten LHZ.

weise $CD79\alpha$ markiert wurden. Auch die vereinzelt in den nicht entzündlichen Hautveränderungen und in der Haut der Kontrolltiere vorkommenden Makrophagen und Lymphozyten wiesen eine MHC II-Expression auf. Bezüglich der Expressionsintensität wurden zwischen den verschiedenen Dermatopathien sowie zwischen den Dermatopathien und den Kontrollhäuten keine Unterschiede festgestellt. Die Expression von MHC II-Proteinen auf Makrophagen, mehrkernigen Riesenzellen und Lymphozyten ist in Abbildung 6 und Abbildung 7 dargestellt.

Zur Beurteilung der MHC II-Expression auf Plasmazellen wurde zusätzlich eine Doppelmarkierung mit den Antikörpern gegen MHC II und canines IgG angefertigt. In vielen, jedoch nicht in allen Hautproben mit plasmazellulären Infiltraten konnten MHC II-Moleküle auf Plasmazellen beobachtet werden. Dabei fiel auf, dass innerhalb einer Biopsie entweder alle Plasmazellen MHC II exprimierten, oder neben den MHC II-positiven Plasmazellen auch MHC II-negative Plasmazellen vorlagen. Ein Zusammenhang zwischen der MHC II-Expression auf Plasmazellen und deren Lokalisation im Gewebe oder deren Vorkommen bei bestimmten morphologischen Veränderungen oder Entzündungsursachen konnte nicht festgestellt werden. Die Expression von MHC II auf Plasmazellen ist in Abbildung 8 dargestellt.

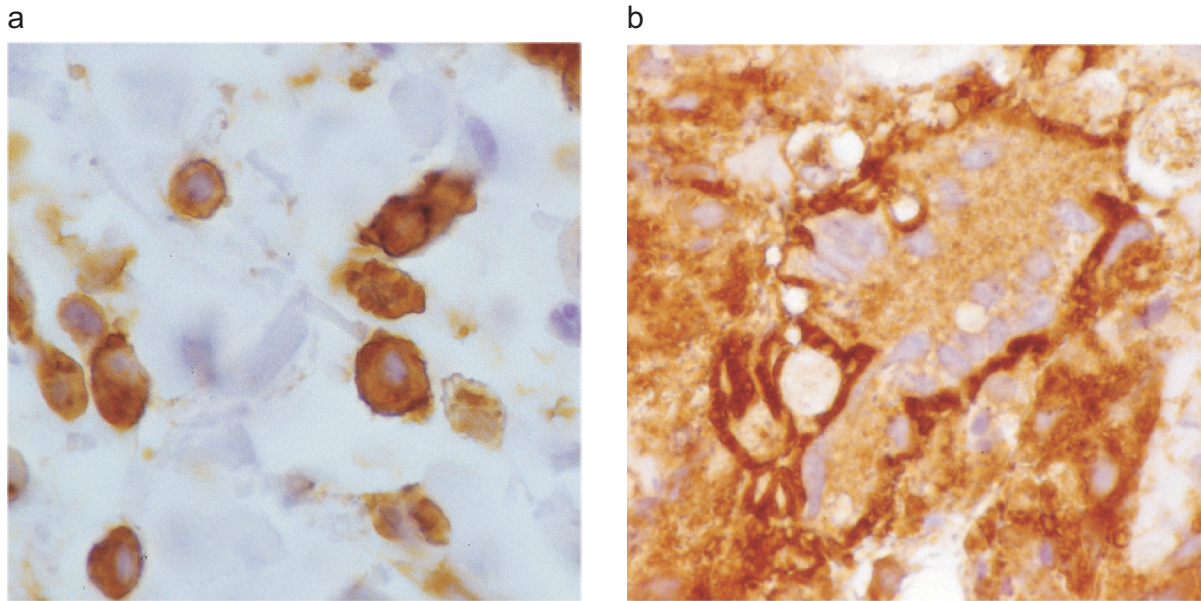


Abbildung 6: **a** Tagebuchnummer T7824/03. MHC II-Expression auf Makrophagen des Hundes, PHD mit eosinophilen Granulozyten. Obj. x 100. **b** Tagebuchnummer T204/05. MHC II-Expression auf einer mehrkernigen Riesenzelle des Hundes, Demodikose. Obj. x 100. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

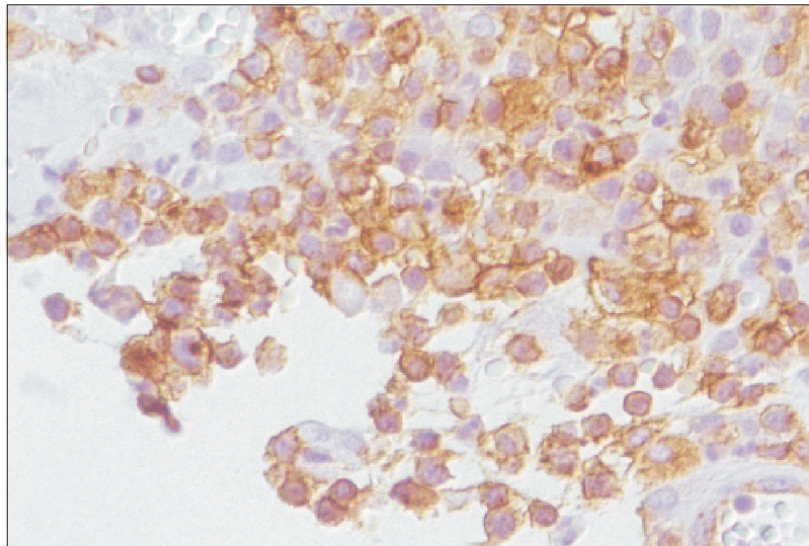


Abbildung 7: Tagebuchnummer T7545/03. MHC II-Expression auf Lymphozyten des Hundes, diffuse pyogranulomatöse Dermatitis. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

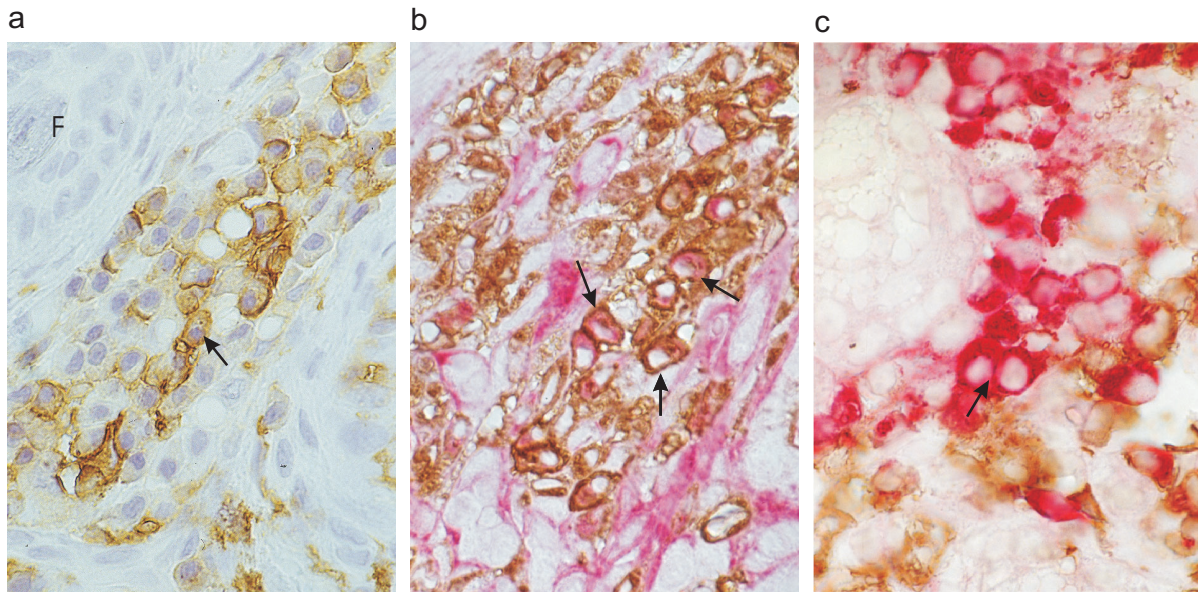


Abbildung 8: **a** Tagebuchnummer T7350/03. MHC II-positive Plasmazellen (Pfeil)(F = Follikel), Demodikose. Obj. x 100. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung. **b** Tagebuchnummer T1604/04. MHC II-positive Plasmazellen (Pfeile), Demodikose, Doppelmarmarkierung von MHC II und IgG. Obj. x 100. **c** Tagebuchnummer T6884/05. MHC II-negative Plasmazellen (Pfeil), Furunkulose, Doppelmarmarkierung von MHC II und IgG. Obj. x 100. Maus anti-human HLA-DR (DAB), PAP; Kaninchen anti-Hund IgG (Neufuchsin), ABC-AP.

In der Dermis befanden sich längliche, zum Teil auch seitliche zytoplasmatische Ausläufer aufweisende Zellen mit ovalen Zellkernen, welche ebenfalls eine positive Markierung zeigten. Um abzuklären, ob es sich bei diesen Zellen um Makrophagen, dendritische Zellen, Fibrozyten oder aktivierte Endothelzellen handelt, erfolgte die Anfertigung von Serienschritten, die mit den Antikörpern gegen das myeloid histiocyte Antigen, Vimentin und Faktor VIII-related Antigen inkubiert wurden. Viele solcher Zellen in pyogranulomatösen Entzündungsherden exprimierten neben MHC II auch das myeloid histiocyte Antigen und wurden deshalb als Makrophagen eingestuft. Längliche, um die Haarfollikel lokalisierte Zellen erwiesen sich zusätzlich als Faktor VIII-related Antigen positiv, weshalb diese den Endothelzellen zugeordnet wurden (siehe auch Abschnitt 4.1.2.3). Im oberen Korium liegende, MHC II- und Vimentin-positive Zellen mit mehreren langen zytoplasmatischen Fortsätzen wurden als dendritische Zellen interpretiert.

Neutrophile Granulozyten, eosinophile Granulozyten und Mastzellen zeigten in keiner der untersuchten Biopsien eine MHC II-Expression.

4.1.2.2 MHC II-Nachweis auf Keratinozyten

Auf Keratinozyten konnte, obwohl sie nicht den Zellen des Immunsystems angehören, ebenfalls eine MHC II-Expression beobachtet werden. In diesem Zusammenhang fiel auf, dass entweder epidermale und folliculäre Keratinozyten MHC II exprimierten, oder nur die epidermalen beziehungsweise die folliculären Keratinozyten MHC II-positiv waren. Die Keratinozyten der Kontrolltiere zeigten in keinem Fall eine MHC II-Expression.

4.1.2.2.1 MHC II-Nachweis auf epidermalen und folliculären Keratinozyten

Epidermale und folliculäre Keratinozyten exprimierten in insgesamt 15 Biopsien MHC II-Moleküle. In acht dieser Biopsien lag eine Interface Dermatitis vor, wobei in sechs Fällen ursächlich ein Lupus erythematodes zugrunde lag und in zwei Fällen keine eindeutige Ursache feststellbar war. Des Weiteren zeigten der einzige untersuchte Fall einer oberflächlichen nekrotisierenden Dermatitis (T1613/04), eine Biopsie mit einer pustulösen, bakteriell bedingten Dermatitis (T1830/04), eine oberflächliche hyperplastische Dermatitis unklarer Ursache (T1053/04) und vier Biopsien, deren Veränderung nicht einem bestimmten Muster zugeordnet werden konnten, eine MHC II-Expression auf epidermalen und folliculären Keratinozyten. Im Gegensatz zu den anderen pustulösen Dermatitis (excl. T906/04, siehe auch Abschnitt 4.1.2.2.2) wies die hier beschriebene Biopsie ein hochgradiges diffuses dermales Infiltrat aus zahlreichen Lymphozyten und Plasmazellen sowie ein perivaskuläres lymphozytäres Infiltrat um den tiefen Gefäßplexus auf. Im Gegensatz zu den oberflächlichen hyperplastischen Dermatitis ohne MHC II-Expression auf Keratinozyten, zeigte die Biopsie mit MHC II-positiven epidermalen und folliculären Keratinozyten eine hochgradige Spongiose. Den vier nicht einzuordnenden Dermatitis waren eine hochgradige irreguläre Hyperplasie der Epidermis sowie ein hochgradiges diffuses lymphoplasmazelluläres dermales „band-like“-Infiltrat gemeinsam. Die MHC II-Expression auf epidermalen und folliculären Keratinozyten ist in Abbildung 9 dargestellt.

Abbildung 10 gibt eine Übersicht über die MHC II-Expression auf epidermalen und folliculären Keratinozyten bei den verschiedenen Dermatitis.

4.1.2.2.2 MHC II-Nachweis auf epidermalen Keratinozyten

In insgesamt sieben Biopsien wurde ausschließlich auf epidermalen Keratinozyten eine MHC II-Expression beobachtet. In vier Fällen handelte es sich wiederum um eine Interface Dermatitis, wobei in zwei Fällen ein Lupus erythematodes und in weiteren zwei Fällen ein Erythema multiforme zugrunde lagen. Daneben zeigte ein Hund mit Pemphigus foliaceus (T906/04) MHC II-positiv Keratinozyten. Wie auch die pustulöse Dermatitis, welche

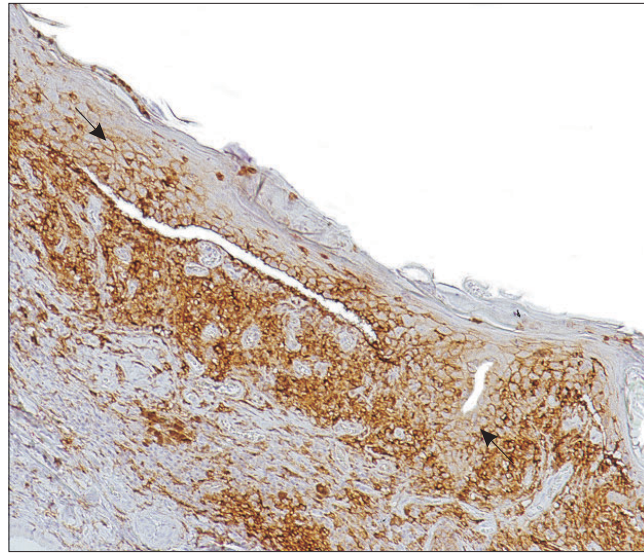


Abbildung 9: Tagebuchnummer T6751/03. MHC II-positive epidermale und folliculäre Keratinozyten (Pfeile), LE. Obj. x 10. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

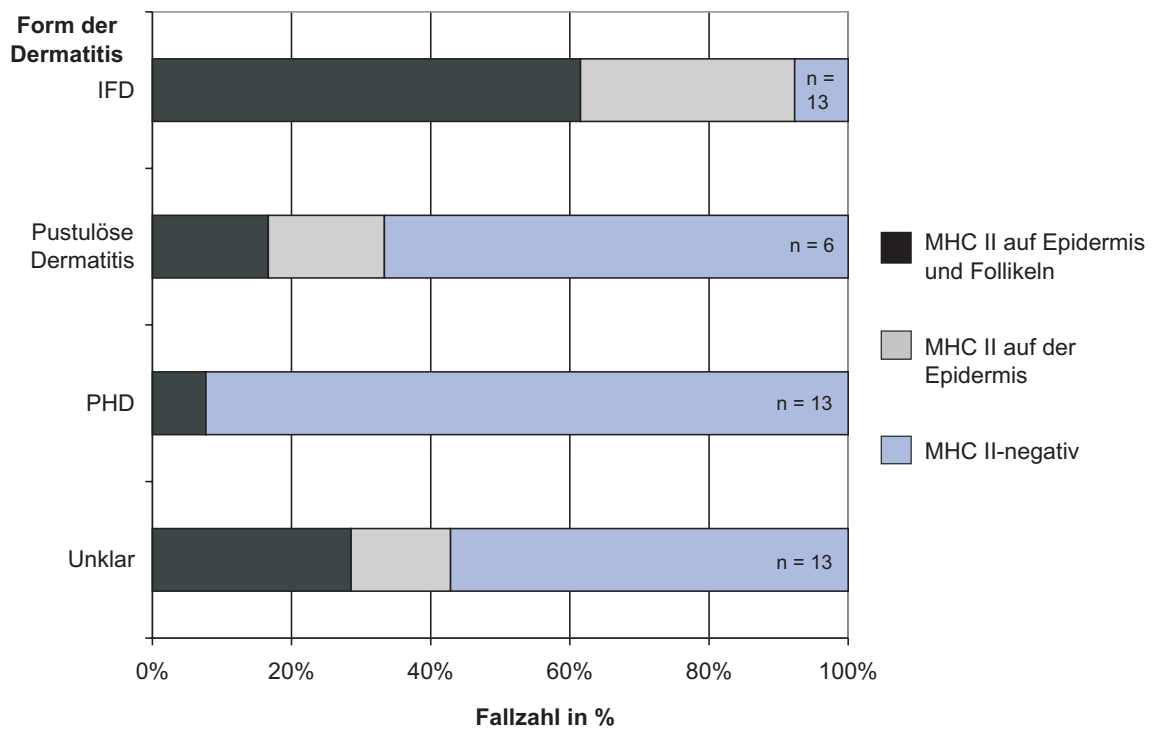


Abbildung 10: Übersicht über MHC II-positive epidermale und folliculäre Keratinozyten bei den verschiedenen Dermatitis des Hundes.
IFD: Interface Dermatitis; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis.

MHC II-positive Keratinozyten in Epidermis und Haarfollikeln aufwies, und im Gegensatz zu allen anderen pustulösen Dermatitiden, zeigte auch diese Biopsie ein diffuses lymphoplasmazelluläres dermales Infiltrat. Zusätzlich wurde in zwei Biopsien ohne klares Veränderungsmuster eine MHC II-Expression auf epidermalen Keratinozyten beobachtet. In einer der beiden Proben (T7156/03) ließ das histopathologische Erscheinungsbild eine Kontaktdermatitis vermuten. Auffällig in Bezug auf die anderen Biopsien, welche eine MHC II-Expression auf epidermalen oder epidermalen und follikulären Keratinozyten zeigten, war erneut das diffuse lymphoplasmazelluläre dermale „band-like“-Infiltrat. Die zweite Biopsie wies lediglich ein mittelgradiges diffuses lymphoplasmazelluläres dermales Infiltrat auf. Zusätzlich fanden sich in dieser Biopsie eine Blasenbildung von Zellen des Str. basale, eine lymphozytäre Exozytose sowie eine Melaninkontinenz (für die Diagnose einer Interface Dermatitis waren die zuletzt genannten Veränderungen nicht stark genug ausgeprägt, zudem fehlten die apoptotischen Keratinozyten im Str. basale).

4.1.2.2.3 MHC II-Nachweis auf follikulären Keratinozyten

67 von insgesamt 86 Biopsien mit einer Entzündung der Haarfollikel zeigten eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten. Aufgrund der Vielzahl der Proben und der unterschiedlichen Entzündungsformen mit wiederum unterschiedlichen Ursachen, wird die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten im Folgenden nach den verschiedenen Ursachen geordnet dargestellt.

Bei 40 von 45 Tieren mit **caniner Demodikose** wurde eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten beobachtet. In fünf Fällen war keine Expression detektierbar. In allen Biopsien, die eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten zeigten, lagen die MHC II-positiven Zellen im Bereich des Infundibulums und des Isthmus. In diesen Arealen waren Epithelzellen der externen Schicht der äußeren Wurzelscheide markiert. 34 der Biopsien zeigten eine starke und sechs Fälle lediglich eine schwache Expression. In 25 Fällen mit MHC II-positiven follikulären Keratinozyten lag eine murale Interface Follikulitis vor, in 14 Fällen eine Furunkulose und in einem Fall lediglich eine Perifollikulitis. Die statistische Analyse durch den verallgemeinerten Fisher Test ergab einen signifikanten Unterschied bezüglich der MHC II-Expression bei den verschiedenen Follikulitiden und bei der Kontrollgruppe ($p = 0,008$). Durch den anschließenden paarweisen Vergleich der Gruppen untereinander konnte im Falle der muralen Follikulitis ($p < 0,0001$) und der Furunkulose ($p < 0,0001$) eine statistisch signifikant häufigere MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt werden. Weiterhin ergab die Berechnung ein signifikant häufigeres Vorkommen von MHC II-positiven Keratinozyten bei der muralen Follikulitis im

Vergleich zur Perifollikulitis ($p = 0,008$). Der Vergleich der Biopsien mit Furunkulose mit den Biopsien, welche eine Perifollikulitis aufwiesen ($p = 0,04$), sowie den Biopsien mit Perifollikulitis mit den Tieren der Kontrollgruppe ($p = 0,09$) und der Gruppe der muralen Follikulitis mit der Furunkulose ($p = 1$) zeigte keine auffälligen Unterschiede. Die Ergebnisse der statistischen Analyse sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Statistische Analyse (exakter Fisher-Test) der MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei caniner Demodikose

| | MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten (<i>n</i>) | Keine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten (<i>n</i>) | <i>p</i> -Werte |
|------------------|---|---|-----------------|
| Murale IFF | 25 | 1 | 1 |
| Furunkulose | 13 | 1 | |
| Murale IFF | 25 | 1 | 0,008 |
| Perifollikulitis | 2 | 3 | |
| Murale IFF | 25 | 1 | <0,0001 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |
| Furunkulose | 13 | 1 | 0,04 |
| Perifollikulitis | 2 | 3 | |
| Furunkulose | 13 | 1 | <0,0001 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |
| Perifollikulitis | 2 | 3 | 0,09 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |

IFF: Interface Follikulitis

Die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei Hunden mit caniner Demodikose ist in den Abbildungen 11 und 12 gezeigt.

Die Follikulitiden, denen ursächlich eine **Infektion mit Dermatophyten** zugrunde lag, zeigten in 16 Fällen eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten, wobei die Expression in einem der 16 Fälle nur schwach ausgeprägt war. In drei Fällen waren die Keratinozyten der Haarfollikel MHC II-negativ. Die Lokalisation der MHC II-positiven Keratinozyten im Haarfollikel entsprach den Beobachtungen, die bei der caninen Demodikose gemacht wurden. Bezüglich des Charakters der Follikulitis zeigten zehn von 13 Biopsien mit Furunkulose und fünf von fünf Biopsien mit muraler Follikulitis eine MHC II-Expression. Die statistische Analyse durch den verallgemeinerten Fisher Test ergab einen signifikanten Unterschied bezüglich der MHC II-Expression zwischen den verschiedenen Follikulitiden und der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$). Durch den anschließenden paarweisen Vergleich der Grup-

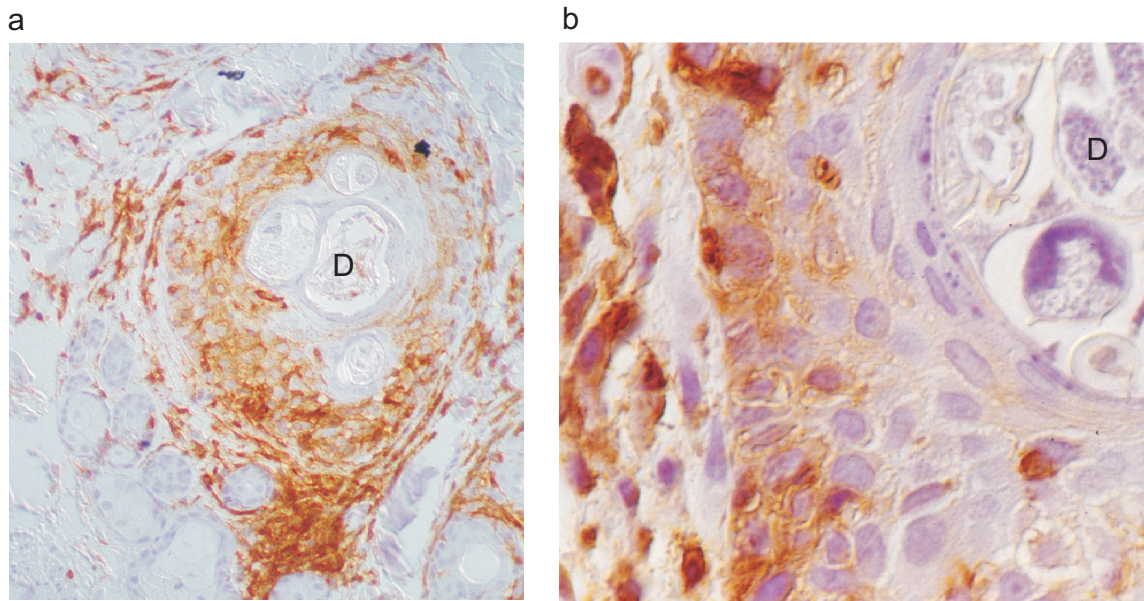


Abbildung 11: a und b Tagebuchnummer T7/05. MHC II-positive folliculäre Keratinozyten (D = Demodexmilbe), Demodikose. a: Obj. x 20, b: Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

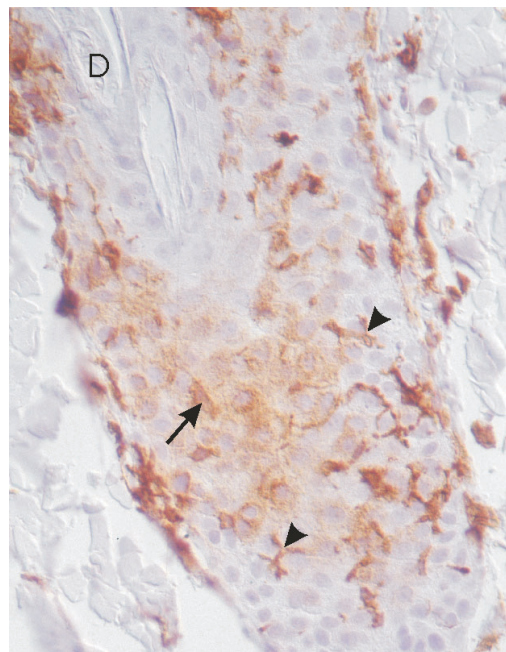


Abbildung 12: Tagebuchnummer T3296/05. MHC II-positive folliculäre Keratinozyten (Pfeil) und LHZ (Pfeilspitze), (D = Demodexmilbe), Demodikose. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

pen untereinander konnte im Falle der muralen Follikulitis ($p = 0,0003$) und der Furunkulose ($p < 0,0001$) eine statistisch signifikant häufigere MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt werden. Der Vergleich der Biopsien mit Furunkulose mit solchen Biopsien, welche eine Perifollikulitis aufwiesen ($p = 1$), der Vergleich von Biopsien mit muraler Follikulitis mit solchen, die eine Perifollikulitis aufwiesen ($p = 1$), sowie der Vergleich von Hunden mit Perifollikulitis mit den Tieren der Kontrollgruppe ($p = 0,09$) und schließlich der Vergleich der Gruppe der muralen Follikulitis mit der Furunkulose ($p = 1$) zeigte keine auffälligen Unterschiede. Die Ergebnisse der statistischen Analyse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Statistische Analyse (exakter Fisher-Test) der MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei caniner Dermatophytose

| | MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten (n) | Keine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten (n) | p-Werte |
|------------------|---|---|----------------|
| Murale IFF | 5 | 0 | 1 |
| Furunkulose | 10 | 3 | |
| Murale IFF | 5 | 0 | 1 |
| Perifollikulitis | 1 | 0 | |
| Murale IFF | 5 | 0 | 0,0003 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |
| Furunkulose | 10 | 3 | 1 |
| Perifollikulitis | 1 | 0 | |
| Furunkulose | 10 | 3 | <0,0001 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |
| Perifollikulitis | 1 | 0 | 0,09 |
| Kontrollgruppe | 0 | 10 | |

IFF: Interface Follikulitis

Die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei Hunden mit Dermatophytose ist in Abbildung 13 gezeigt.

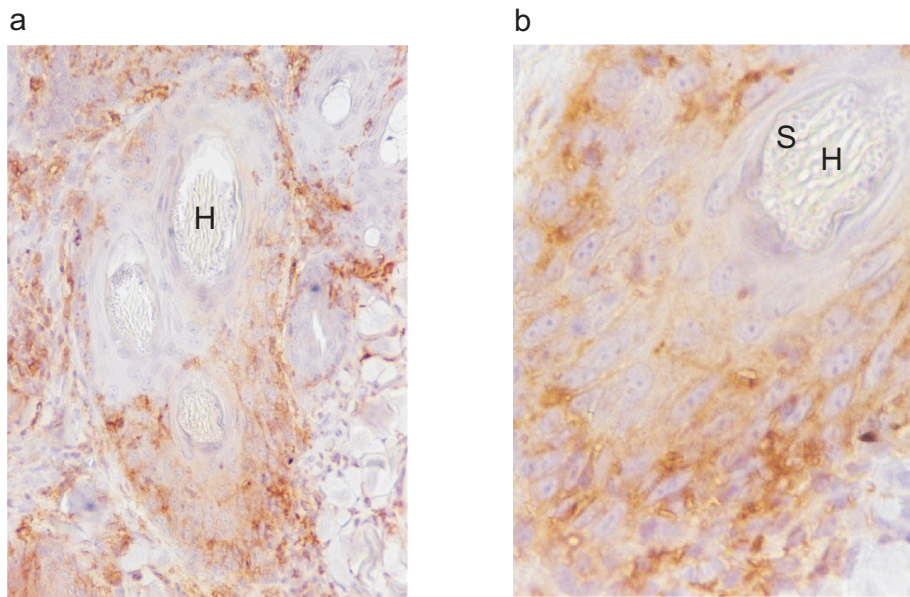


Abbildung 13: a und b Tagebuchnummer I03/8197. MHC II-positive folliculäre Keratinozyten (H = Pilzhyphen, S = Pilzsporen), Dermatophytose. **a** Obj. x 20, **b** Obj. 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

In der Gruppe der **bakteriell bedingten Follikulitiden** konnte lediglich in einem Fall von Schäferhundpyodermie eine schwache Expression von MHC II-Proteinen auf folliculären Keratinozyten beobachtet werden.

Im Falle der übrigen Follikulitiden wiesen eine Furunkulose auf Grund eines Druckpunkt Komedons sowie zwei Follikulitiden unklarer Ursache und eine Follikulitis, deren Erscheinungsbild eine Demodikose vermuten ließ, jedoch keine Milbenanschnitte enthielt, eine deutliche MHC II-Expression auf folliculären Keratinozyten auf. In beiden unklaren Fällen handelte es sich um eine tiefe Follikulitis/Furunkulose. Eine schwache Expression zeigten die interdigitale Follikulitis, ein weiterer Fall von Furunkulose auf Grund eines Druckpunkt Komedons sowie drei Fälle von tiefer Follikulitis/Furunkulose unklarer Ursache. Abbildung 14 stellt die MHC II-Expression auf folliculären Keratinozyten bei Follikulitiden unterschiedlicher Ursache sowie bei den oberflächlichen Pyodermien dar.

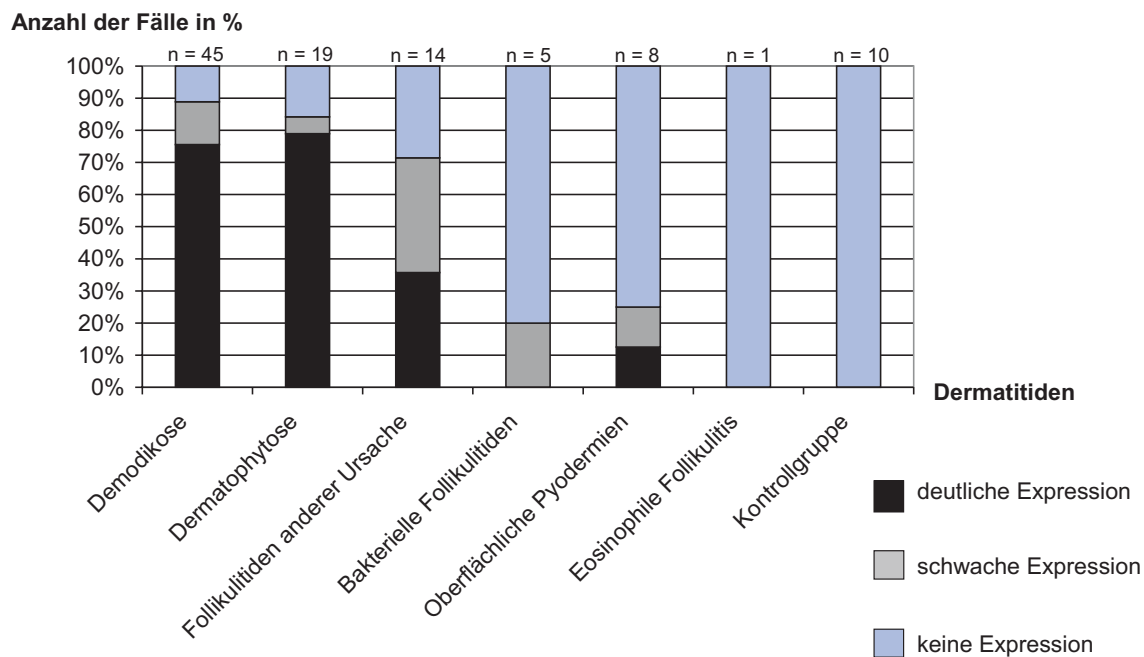


Abbildung 14: Vergleich der MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei Follikulitiden verschiedener Ursache und der oberflächlichen Pyodermie.

4.1.2.3 MHC II Nachweis auf Endothelzellen

Die Untersuchung von Endothelzellen auf das Vorhandensein von MHC II führte zu dem Ergebnis, dass in einem Großteil der Biopsien mit entzündlichen Hautveränderungen eine MHC II-Expression vorlag (Abbildung 15 a), wobei unterschiedliche Gefäßplexus von der Markierung betroffen waren.

Daneben konnte die Expression in Venen und Arterien beobachtet werden. In einigen Fällen war nur auf einzelnen Endothelzellen eines Gefäßes MHC II nachweisbar. Um abzusichern, dass es sich bei den einzelnen MHC II-positiv markierten Zellen um Endothelzellen und nicht um aus dem Gefäß auswandernde Entzündungszellen handelt, wurde eine Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen MHC II und anti Faktor VIII-related Antigen durchgeführt (Abbildung 15 b). Mittels der Doppelmarkierung konnte zusätzlich ein perifollikuläres Netzwerk aus MHC II-positiven und Faktor VIII-related Antigen-positiven Zellen nachgewiesen werden (Abbildung 16 a).

Die Färbung der Schnitte mit Antikörpern gegen Laminin diente der Differenzierung von Blutgefäßendothelien und Lymphgefäßendothelien im perifollikulären Netzwerk aus MHC II- und Faktor VIII-related Antigen positiven Zellen. Abbildung 16 a zeigt das Netzwerk aus MHC II- und Faktor VIII-related Antigen-positiven Zellen, während Abbildung 16 b die

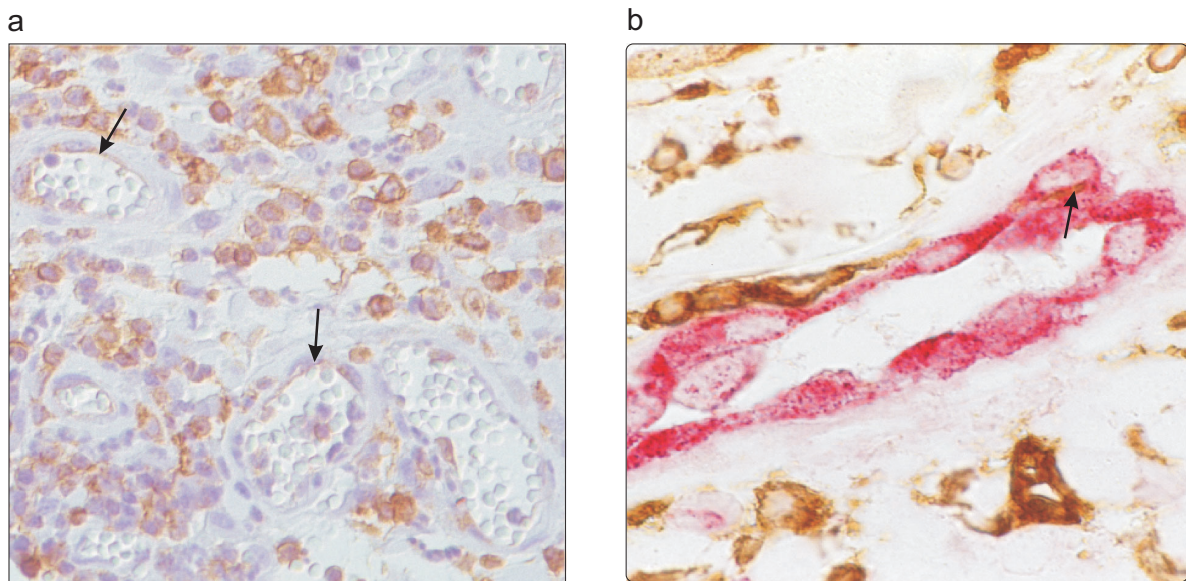


Abbildung 15: **a** Tagebuchnummer T7545/03. MHC II-Expression auf aktivierten Endothelzellen des tiefen Plexus (Pfeile), diffuse pyogranulomatöse Dermatitis. Obj. x 20. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung. **b** Tagebuchnummer T204/05. MHC II und Faktor VIII-related Antigen positive Zelle (Pfeil), Demodikose. Obj. x 100. Maus anti-human HLA-DR (DAB), PAP; Kaninchen anti-Faktor VIII-related Antigen (Neufuchsin), ABC-AP.

Markierung des gleichen Ausschnittes mit Laminin zeigt. Beim Vergleich beider Färbungen fällt auf, dass nicht in allen MHC II- und Faktor VIII-related Antigen-positiven Arealen gleichzeitig eine Expression von Laminin vorliegt.

Ein Zusammenhang zwischen einem bestimmten Expressionsmuster von MHC II auf Endothelien und spezifischen Dermatitisformen konnte nicht erfolgen. Die Endothelzellen von Tieren mit nicht entzündlichen Hautveränderungen zeigten dagegen nur in 2 Fällen eine MHC II-Expression. In einer der Proben lag eine atrophische Dermatitis aufgrund eines Hyperadrenokortizismus, in der anderen eine Verhornungsstörung im Sinne einer Golden Retriever Ichthyosis vor. In beiden Biopsien zeigte ausschließlich der tiefe Gefäßplexus eine MHC II-Expression.

Die Endothelzellen der Kontrolltiere ($n = 10$) zeigten in vier Fällen eine MHC II-Expression auf Endothelzellen des tiefen Gefäßplexus. In sechs Fällen war keine MHC II-Expression auf Endothelzellen zu sehen.

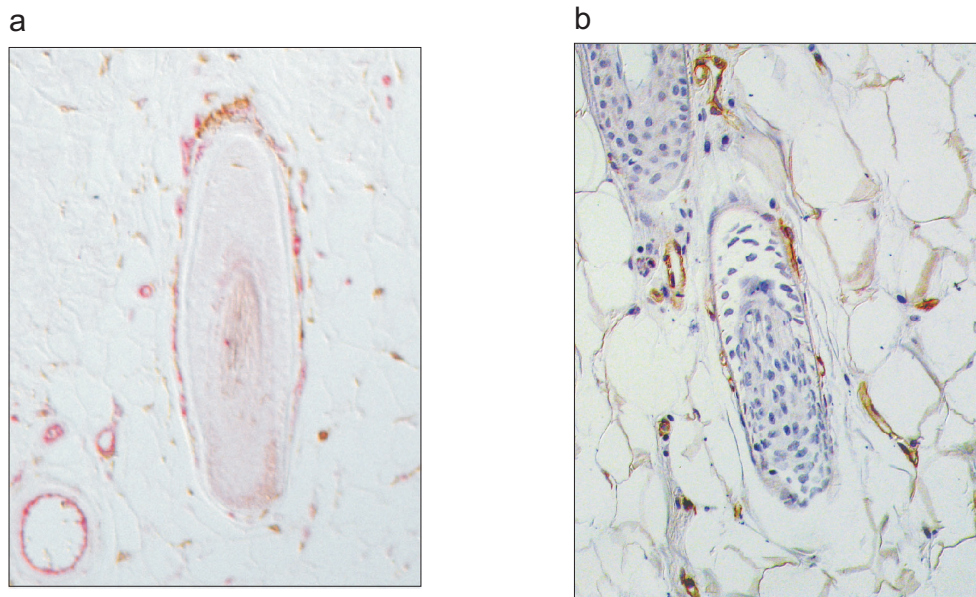


Abbildung 16: **a** Tagebuchnummer T3296/05. Netzwerk aus MHC II-positiven und Faktor VIII-related Antigen-positiven Zellen, Demodikose. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR (DAB), PAP; Kaninchen anti-Faktor VIII-related Antigen (Neufuchsin), ABC-AP. **b** Tagebuchnummer T3296/05. Laminin-Expression um die Haarfollikel, Demodikose. Obj. x 40. Kaninchen anti-Laminin, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

4.1.2.4 MHC II-Nachweis auf weiteren Zellen der Haut

Neben der MHC II-Expression auf den oben beschriebenen Zellen der Haut konnten in einzelnen Fällen auch MHC II-positive Drüsenepithelien der Schweißdrüsen sowie MHC II-positive Fibrozyten, Adipozyten und Reservezellen der Talgdrüsen detektiert werden. MHC II-positiv Drüsenepithelien fanden sich in drei Fällen von Demodikose, einer Dermatophytose, einem LE, drei Pyodermien und in einer allergischen Dermatitis. MHC II-exprimierende Adipozyten wurden in zwei Fällen von Demodikose, in drei Fällen von Dermatophytose, in zwei Fällen von Furunkulose unklarer Ätiologie sowie in einer allergischen Dermatitis beobachtet. Eindeutig MHC II-positiv Fibrozyten konnten lediglich bei einem Hund mit LE detektiert werden. Zusätzlich wies dieser Hund auch eine MHC II-Expression auf Reservezellen der Talgdrüsenepithelien auf. Tiere mit nicht entzündlichen Hautveränderungen sowie Tiere der Kontrollgruppe zeigten in keinem Fall eine MHC II-Expression auf Drüsenepithelien der Schweißdrüsen, Adipozyten, Fibrozyten oder Reservezellen der Talgdrüsen.

Biopsien mit hochgradiger Entzündung und einer ausgeprägten MHC II-Expression auf den verschiedenen Zellen zeigten häufig ebenfalls eine immunhistologische Markierung von feinkörnigem, nicht zellassoziertem Material (Abbildung 17).

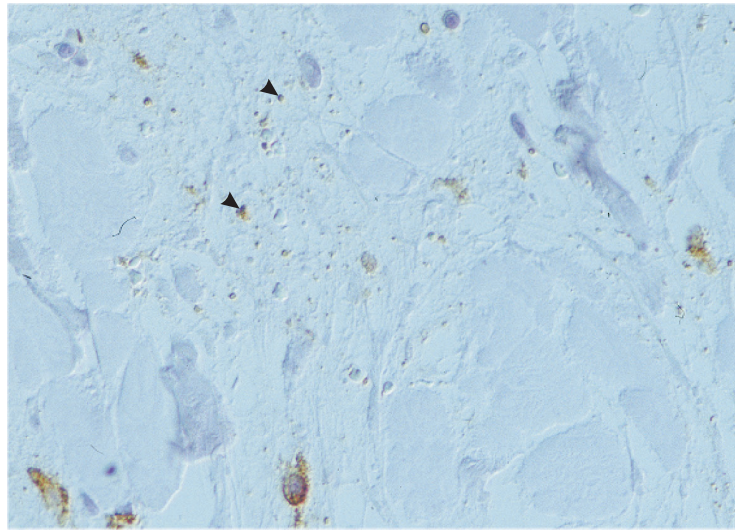


Abbildung 17: Tagebuchnummer T7816/03. Immunhistologische Markierung von feinkörnigem extrazellulärem Material (Pfeilspitze), Dermatophytose. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

4.1.2.5 MHC II-Gesamtexpression

Die MHC II-Gesamtexpression lag bei allen Dermatitisen zwischen ++ und +++, während die nicht entzündlichen Hautveränderungen sowie die Kontrollgruppe lediglich eine MHC II-Gesamtexpression von + bis ++ zeigten.

Der Gruppenvergleich der MHC II-Gesamtexpression zwischen den Biopsien mit Dermatitisen sowie den Biopsien mit nicht entzündlichen Hautveränderungen und der Kontrollgruppe mittels des Kruskal-Wallis-Testes ergab einen global gesehen statistisch signifikanten Unterschied zwischen diesen Gruppen ($p < 0,0001$). Die Daten des Gruppenvergleiches sind im Anhang in Tabelle 14 aufgeführt. Der Vergleich der MHC II-Gesamtexpression zwischen den verschiedenen Typen von Dermatitisen erzielte ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,0001$), wobei wiederum die Gruppe der IFD und zusätzlich die Gruppe der nodulären und diffusen Dermatitisen durch besonders hohe mittlere Rangzahlen auffielen. Die MHC II-Gesamtexpression der einzelnen Gruppen von Dermatitisen ist in Tabelle 8 dargestellt.

Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen der Menge der LHZ in der Epidermis und der MHC II-Gesamtexpression besteht, wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet (r_s). Dieser lag für die Gruppe der Dermatitisen bei 0,279 mit einem p -Wert von 0,0005. Für die Gruppe der nicht entzündlichen Hautveränderungen lag r_s bei 0,624 mit einem p -Wert von 0,03. Daraus kann geschlossen werden, dass sowohl bei entzündlichen als

Tabelle 8: MHC II-Gesamtexpression beim Hund. Vergleich der verschiedenen Gruppen von Hautveränderungen und der Kontrollhunde

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression | | | | Mittlere Rangzahl |
|--|-------------------------|----|-----|------|-------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | |
| Folikulitiden | 0 | 9 | 67 | 10 | 83,599 |
| IFD | 0 | 2 | 0 | 11 | 119,769 |
| PHD | 0 | 9 | 2 | 2 | 51,231 |
| PHD mit eos. Granulozyten | 1 | 14 | 1 | 0 | 27,219 |
| Pustulöse Dermatitiden | 0 | 4 | 0 | 2 | 62,333 |
| Nod. und diffuse Dermatitiden | 0 | 1 | 1 | 3 | 103,9 |
| Pannikulitis | 0 | 0 | 0 | 2 | n. a. |
| Nekrotisierende Dermatitiden | 0 | 0 | 0 | 1 | n. a. |
| Atrophische Dermatosen | 4 | 2 | 0 | 1 | n. a. |
| Verhornungsstörung | 2 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| Hautveränd. mit dermalen Ablagerungen | 0 | 2 | 0 | 0 | n. a. |
| Hautveränd. mit dysplastischen Haarfollikeln | 2 | 0 | 0 | 0 | n. a. |
| Unklar | 2 | 4 | 3 | 5 | 74,250 |
| Kontrollgruppe | 10 | 0 | 0 | 0 | n. a. |

IFD: Interface Dermatitis; n. a.: nicht ausgewertet;

PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis

auch bei nicht entzündlichen Hautveränderungen ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der MHC II-Gesamtexpression und der Menge der LHZ in der Epidermis besteht.

4.2 Ergebnisse Katze

4.2.1 Histopathologische Untersuchung an HE-gefärbten und PAS-gefärbten Schnitten

Aufgrund des vorherrschenden histopathologischen Erscheinungsbildes im HE-gefärbten Schnitt ergab sich die Einteilung in nachstehende Gruppen von Dermatitiden:

4.2.1.1 Follikulitiden

Bei der Katze wurde in 16 von insgesamt 94 Biopsien eine Entzündung der Haarfollikel diagnostiziert. Bei der Unterteilung der einzelnen Follikulitiden kamen die gleichen Kriterien wie beim Hund zur Anwendung. Sechs von diesen Biopsien wiesen eine Furunkulose und sechs weitere eine murale Follikulitis auf. In zwei Proben fand sich eine luminale Follikulitis und in einer weiteren eine pustulöse Follikulitis. Außerdem zeigte eine Katze eine von eosinophilen Granulozyten dominierte Entzündung des Haarfollikels.

Ursächlich lag der Entzündung in neun Fällen eine Infektion mit Dermatophyten zugrunde. Die Ursache der verbleibenden sieben Biopsien blieb unklar.

Die Dermatophytose führte in fünf Fällen zur Ausbildung einer muralen Follikulitis, in zwei Fällen zu einer Furunkulose in einem Fall zu einer luminalen Follikulitis und in einem Fall zu einer pustulösen Follikulitis.

4.2.1.1.1 Perivaskuläre hyperplastische Dermatitiden mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten

23 der untersuchten Hautproben der Katze wiesen eine perivaskuläre hyperplastische Dermatitis mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten auf. 20 dieser Fälle zeigten zusätzlich eine eosinophile Exozytose, sowie eine Infiltration der Epidermis mit Mastzellen. Zusätzlich wies die Epidermis eine Hyperplasie und eine Spongiose auf. In einigen Biopsien konnte daneben eine Ulzeration beobachtet werden. In der Dermis ließ sich ein subepidermales, zum Teil muzinöses Ödem sowie eine perivaskuläre und interstitielle Infiltration mit Mastzellen, eosinophilen Granulozyten und einigen Lymphozyten nachweisen. Ursächlich wurde aufgrund des gesamten histologischen Bildes eine Allergie angenommen. Eine Probe (T8477) zeigte neben den oben beschriebenen Veränderungen zusätzlich eine perivaskuläre oberflächliche Infiltration mit neutrophilen Granulozyten, weshalb die Diagnose Allergie mit sekundärer Pyodermie lautete. Eine weitere Biopsie (T154/04) zeigte neben der eosinophilen Exozytose eine fokale lymphozytäre Exozytose sowie eine fokale Spongiose im Bereich der lymphozytären Infiltration. Diese Charakteristika sind beim Hund als typisch für eine Atopie beschrieben, weshalb eine Zuordnung der Biopsie zur Gruppe der Atopien erfolgte. Die verbleibende Katze dieser Gruppe wies neben einer dezenten perivaskulären Infiltration mit Entzündungszellen, an der einige eosinophile Granulozyten beteiligt waren, zusätzlich eine dezente Entzündung der Haarfollikel auf. Für bestimmte allergisch bedingte Dermatitiden der Katze, wie zum Beispiel den eosinophilen Plaque, ist eine Mitbeteiligung der Haarfollikel an der Entzündung beschrieben. Bei dieser Erscheinungsform der Allergie sind jedoch gleichzeitig ein starkes dermales Infiltrat sowie Ulzeration, Spongiose und ein dermales Ödem beschrieben. Da die

zuletzt genannten Veränderungen in diesem Fall nicht vorlagen, konnte der Entzündung in dieser Biopsie keine bestimmte Ätiologie zugeordnet werden.

4.2.1.1.2 Sonstige perivaskuläre Dermatitiden

Die Haut von zwölf untersuchten Katzen wies eine perivaskuläre Dermatitis auf. In acht dieser Fälle war das Infiltrat von Mastzellen dominiert, welche zusätzlich in Nestern und Reihen auch interstitiell in der Dermis lagen. Eine Biopsie wies zusätzlich eine hochgradige epidermale Hyperplasie, Ulzerationen, eine Spongiose und eine dermale Fibrose auf. In zwei Proben dieser Gruppe konnten, abgesehen von dem perivaskulären Infiltrat, keine weiteren Veränderungen festgestellt werden. Aufgrund des Fehlens eindeutiger Hinweise auf eine bestimmte Ursache, blieb die ätiologische Diagnose in elf Biopsien mit perivaskulärer Dermatitis unklar. In einer Probe mit perivaskulärer Dermatitis befanden sich zahlreiche Pilzhyphen und Sporen um die Haarschäfte (Dermatophytose).

4.2.1.1.3 Noduläre und diffuse Dermatitiden

Insgesamt konnten 29 Katzenbiopsien der Gruppe der nodulären und diffusen Dermatitiden zugeordnet werden. Im Einzelnen handelte es sich in elf Fällen um eine eosinophile noduläre Dermatitis, in drei Fällen um eine diffuse eosinophile Dermatitis, in zehn Fällen um eine pyogranulomatöse oder granulomatöse Dermatitis und in zwei Fällen um eine diffuse pyogranulomatöse Dermatitis.

Die nodulären eosinophilen Dermatitiden waren durch das Vorhandensein einer fokalen oder multifokalen, von eosinophilen Granulozyten dominierten Entzündung gekennzeichnet. Zusätzlich fanden sich in allen Proben Areale von degranulierten und degenerierten eosinophilen Granulozyten, welche sich um einzelne Kollagenfasern herum anordneten („flame figures“). Diese Areale waren häufig von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen umgeben. Die Dermis wies in den meisten Fällen ein gering- bis mittelgradiges muzinöses Ödem auf. Aufgrund dieser Charakteristika wurde in allen elf Fällen die Diagnose eines eosinophilen Granuloms gestellt.

Eine der beiden Biopsien mit diffuser eosinophiler Dermatitis zeigte neben vereinzelt vorliegenden „flame figures“ eine ausgeprägte Spongiose der Epidermis und der Follikelinfundibula sowie ein hochgradiges muzinöses Ödem der Dermis. All dies führte zu der Diagnose des eosinophilen Plaques. Die anderen beiden Biopsien, welche eine diffuse eosinophile Dermatitis aufwiesen, zeigten keine zusätzlichen charakteristischen Veränderungen, die für eine bestimmte Erkrankung sprechen würden.

Katzen mit nodulärer pyogranulomatöser oder granulomatöser Dermatitis litten in drei

Fällen an einem dermatophytischen Pseudomyzotom (PAS-positive Pilzhyphen im Bereich der Entzündung), in einem Fall an einer Histoplasmose (PAS-positive, intrazellulär in Makrophagen liegende, 2 µm im Durchmesser große und von einem hellen Hof umgebene Organismen) und in einem weiteren Fall an einer Fremdkörperentzündung (doppeltbrechendes Fremdmaterial im Bereich der Entzündung). In fünf Proben blieb die Ursache für die (pyo)granulomatöse Dermatitis trotz verschiedener Spezialfärbungen (PAS, Grocott, Ziel-Neelsen, Giemsa) ungeklärt.

Die beschriebenen Fälle einer diffusen pyogranulomatösen Entzündung waren ursächlich durch eine tiefe Entzündungsreaktion auf PAS-positive Pilzhyphen (dermatophytisches Pseudomyzotom) zurückzuführen.

4.2.1.1.4 Pannikulitiden

Eine Pannikulitis wurde in vier Biopsien diagnostiziert, in keiner der Biopsien gab es Hinweise auf eine bestimmte Ursache.

4.2.1.1.5 Interface Dermatitis

Bei der Katze lag in zwei Biopsien eine Interface Dermatitis vor. In einem der beiden Fälle konnte aufgrund der Blasenbildung im Stratum basale, der apoptotischen Keratinozyten im Stratum basale sowie der epidermalen Hyperplasie und der Melanininkontinenz ein Lupus erythematodes angenommen werden. In dem anderen Fall blieb die Ursache aufgrund fehlender zusätzlicher Veräuderungen unklar.

4.2.1.1.6 Bullöse Erkrankungen der Epidermis

Eine bullöse Erkrankung der Epidermis lag in einem Fall vor (T207/06). Im Einzelnen wies der histologische Schnitt fokale serozelluläre Krusten und Ulzerationen, eine hochgradige Spongiose, suprabasale Vesikel und Bullae, eine mäßige neutrophile und erythrozytäre Exozytose und intraepidermale Vesikel auf. Die Dermis zeigte ein „band-like“-Infiltrat, welches aus, zum Teil degenerierten, neutrophilen Granulozyten sowie aus Mastzellen, eosinophilen Granulozyten, Lymphozyten und Plasmazellen bestand. Mittels der PAS-Färbung ließ sich deutlich machen, dass die Basalmembran den Boden und intakte Keratinozyten das Dach der Vesikel bildeten. Diese histopathologischen Veränderungen sind in der Literatur für das bullöse Pemphigoid beschrieben. Differentialdiagnostisch kommt auch die Epidermolysis bullosa acquisita in Frage. Letztere ist jedoch bislang nicht für die Katze dokumentiert.

4.2.1.1.7 Pustulöse Dermatitis

Die Katzenbiopsie mit der Tgb.-Nr. T863/04 wies eine pustulöse Dermatitis auf. Da sich in

den Pusteln hypersegmentierte neutrophile Granulozyten befanden und zusätzlich serozelluläre Krusten mit zahlreichen kokkoiden Bakterien sowie ein dermales perivaskuläres Infiltrat aus vorwiegend neutrophilen Granulozyten sowie Lymphozyten und Plasmazellen vorlagen, wurde die ätiologische Diagnose einer Pyodermie gestellt.

4.2.1.1.8 Biopsien ohne eindeutiges Veränderungsmuster

In insgesamt sieben Biopsien ließen sich die Veränderungen nicht einem bestimmten Muster zuordnen. Wie auch beim Hund lagen verschiedene Veränderungen, welche für bestimmte Gruppen von Dermatitiden typisch sind, gleichzeitig vor und keine dominierte in der Form, dass eine Zuteilung zu einer bestimmten Gruppe möglich gewesen wäre.

4.2.2 Immunhistologische Untersuchung

Auch bei den Biopsien der Katze wurde immunhistologisch untersucht, auf und in welchen Zellen (insbesondere solchen des Immunsystems (Langerhans-Zellen der Epidermis, infiltrierende Zellen wie Makrophagen und Lymphozyten), Keratinozyten und Endothelzellen) MHC II in welcher Intensität vorkommt. Dabei wurden zwei verschiedene Antikörper (1. anti-human HLA-DR, 2. anti-felines MHC II) verwendet.

4.2.2.1 MHC II-Nachweis auf Zellen des Immunsystems

4.2.2.1.1 Langerhans-Zellen

Wie auch beim Hund wurden zwischen den Keratinozyten der Epidermis und des Infundibulums liegende Zellen, welche seitliche zytoplasmatische Ausläufer aufwiesen, zu den LHZ gezählt (siehe Abbildung 18).

Mittels des Antikörpers gegen humanes HLA-DR konnte in allen untersuchten Biopsien MHC II auf den LHZ der Epidermis nachgewiesen werden. Mittels des Antikörpers gegen die β -Kette des felines MHC II ließen sich die LHZ in vier Proben (T6520/03, T718/04, 1460/05, T659/06) gar nicht und in sechs Proben (T7219/03, T1597/04, T8689/04, I03/5714, I03/7131, I04/4066) nur sehr schwach anfärben. Diese Proben stammten aus verschiedenen Gruppen von Entzündungen und von verschiedenen Katzenrassen.

Auch die immunhistologische Untersuchung von Biopsien der Katze ergab Unterschiede in der Zahl der LHZ der Epidermis sowie der Ausprägung der zytoplasmatischen Fortsätze. In Proben mit ausgeprägten Entzündungen fanden sich deutlich mehr LHZ mit stärker ausgeprägten zytoplasmatischen Fortsätzen als in Proben mit geringgradiger Entzündung und Proben der Kontrollgruppe. Das Vorkommen von LHZ bei den verschiedenen Hautveränderungen ist in Abbildung 19 dargestellt.

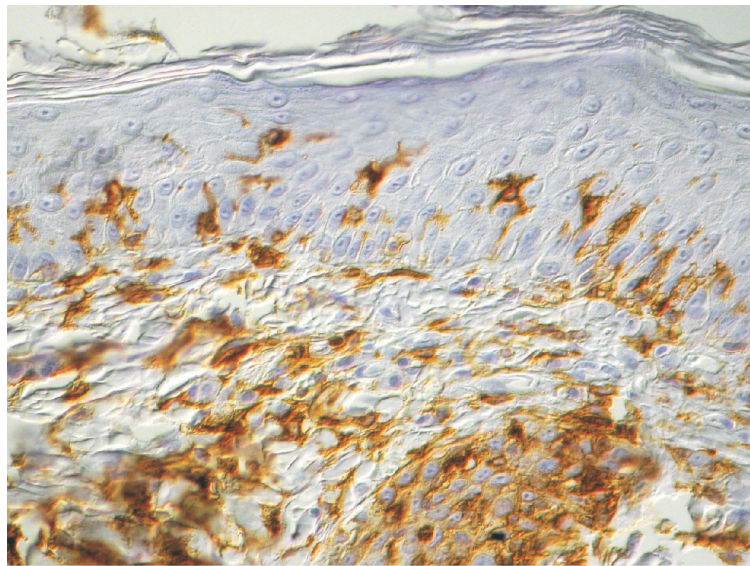


Abbildung 18: Tagebuchnummer I03/4481. MHC II-positive LHZ in der Epidermis einer Katze, Dermatophytose. Obj. x 40. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

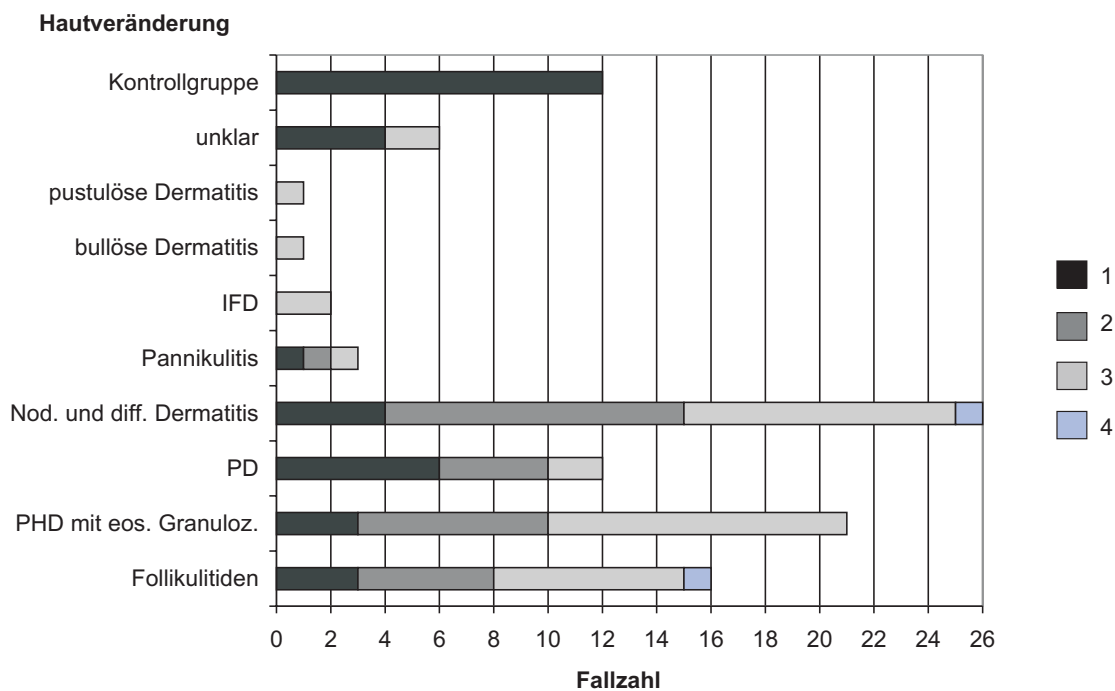


Abbildung 19: Menge der LHZ in der Epidermis bei Dermatitisen der Katze; IFD: Interface Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis. 1 = vereinzelt suprabasal liegende LHZ; 2 = zahlreiche gleichmäßig verteilt liegende LHZ; 3 = zahlreiche dicht liegende LHZ; 4 = größere Areale mit dicht gepackten LHZ.

Mittels des exakten WMW-Testes konnte statistisch ein hoch signifikant häufigeres Vorkommen von LHZ in der Epidermis bei entzündlichen Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt werden ($p < 0,0001$). Dieses Ergebnis traf für den Nachweis der MHC II-Antigene mit beiden verwendeten Antikörpern zu. Innerhalb der Gruppen von verschiedenen Entzündungen ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vorkommen von LHZ in der Epidermis und im Infundibulum ($p = 0,067$). Allerdings liegt der ermittelte p -Wert knapp über dem festgelegten Signifikanzniveau von $p = 0,05$, so dass es zumindest einen Hinweis auf vorliegende Unterschiede zwischen den verschiedenen Dermatitiden der Katze gibt. Der Gruppenvergleich zwischen Katzen mit Dermatitiden und Kontrolltieren ist im Anhang in den Tabellen 17 und 18, der Vergleich der einzelnen Gruppen von Dermatitiden in Tabelle 19 detailliert aufgeführt.

4.2.2.1.2 Weitere Zellen des Immunsystems

Auf allen die Haut infiltrierenden Makrophagen, Riesenzellen, B-Lymphozyten und T-Lymphozyten konnten, unabhängig vom Charakter der Entzündung, MHC II-Proteine nachgewiesen werden. Die Differenzierung von B- und T-Lymphozyten erfolgte bei der Katze anhand von Serienschnitten, die mit den Antikörpern gegen CD3 beziehungsweise CD45R markiert wurden. Auch die vereinzelt in der Haut der Kontrolltiere vorkommenden Makrophagen und Lymphozyten wiesen eine MHC II-Expression auf. Bezüglich der Expressionsintensität auf der einzelnen Zelle wurden keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Entzündungen und der Kontrollgruppe festgestellt. Die Expression von MHC II-Molekülen auf Makrophagen und Lymphozyten der Katze ist in Abbildung 20 und 21 dargestellt.

Zur Beurteilung der MHC II-Expression auf Plasmazellen wurde eine Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen canines IgG und MHC II angefertigt. Dabei fiel auch bei der Katze auf, dass Plasmazellen in den meisten, jedoch nicht in allen Biopsien mit plasmazellulären Infiltraten MHC II exprimierten und dass innerhalb einer Biopsie sowohl MHC II-positive als auch MHC II-negative Plasmazellen vorkamen. Ein Zusammenhang zwischen der MHC II-Expression auf Plasmazellen und deren Lokalisation im Gewebe oder deren Vorkommen bei bestimmten morphologischen Veränderungen konnte nicht festgestellt werden. Die Expression von MHC II auf Plasmazellen ist in Abbildung 22 gezeigt.

In der Dermis fanden sich längliche Zellen mit seitlichen, zytoplasmatischen Ausläufern und ovalen Kernen. Waren diese Zellen aufgrund ihrer Morphologie nicht eindeutig einem bestimmten Zelltyp zuzuordnen, erfolgte die Anfertigung von Serienschnitten, die mit Antikörpern gegen das myeloid/histiocyte Antigen, Vimentin, und Faktor VIII related-Antigen inkubiert wurden. Viele solcher Zellen in pyogranulomatösen Entzündungsherden exprimier-

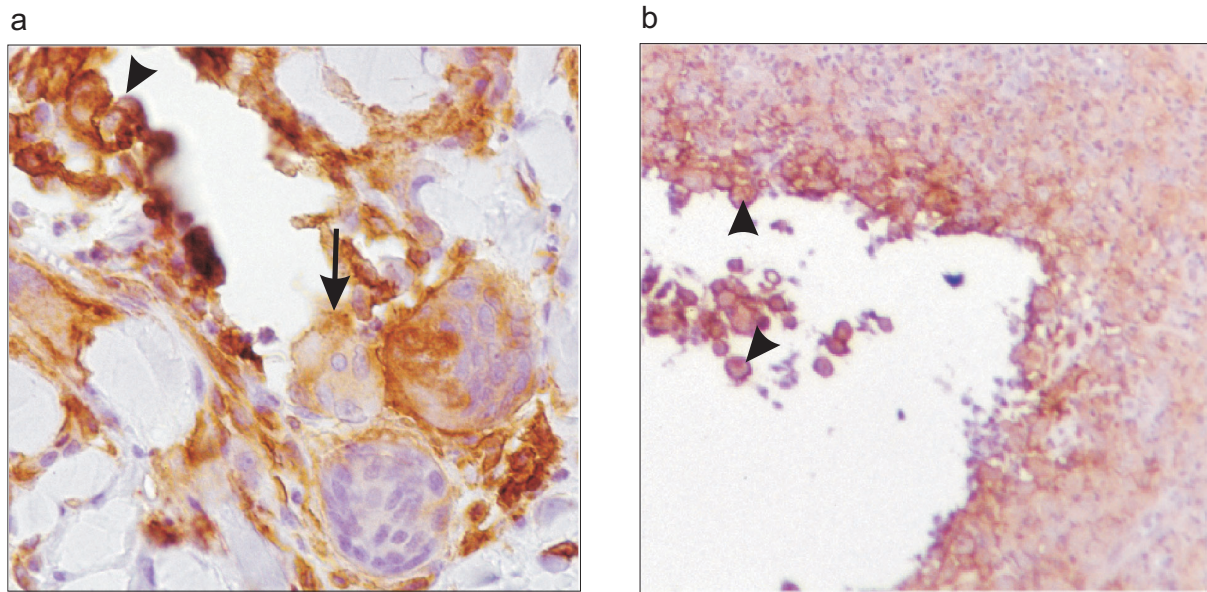


Abbildung 20: **a** Tagebuchnummer T1974/05. MHC II-Expression auf Makrophagen (Pfeilspitze) und mehrkernigen Riesenzellen (Pfeil) der Katze, eosinophiles Granulom. Obj. x 40. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung. **b** Tagebuchnummer T1579/04. MHC II-Expression auf Makrophagen (Pfeilspitze), noduläre pyogranulomatöse Dermatitis. Obj. x 20. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

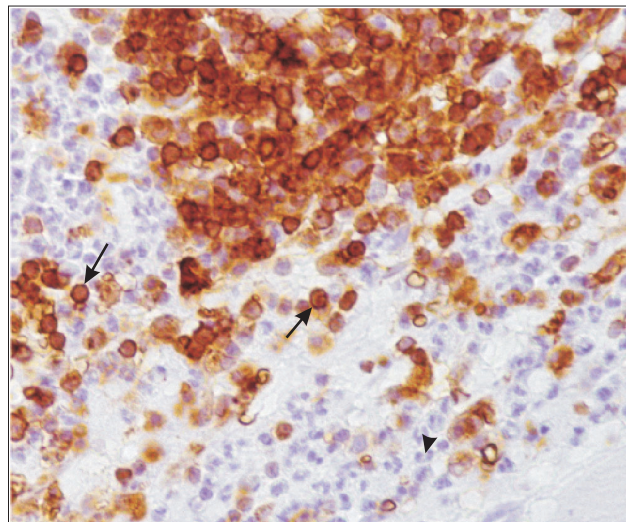


Abbildung 21: Tagebuchnummer T1974/05. MHC II-Expression auf Lymphozyten (Pfeile) der Katze und MHC II-negative Granulozyten (Pfeilspitze), eosinophiles Granulom. Obj. x 40. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

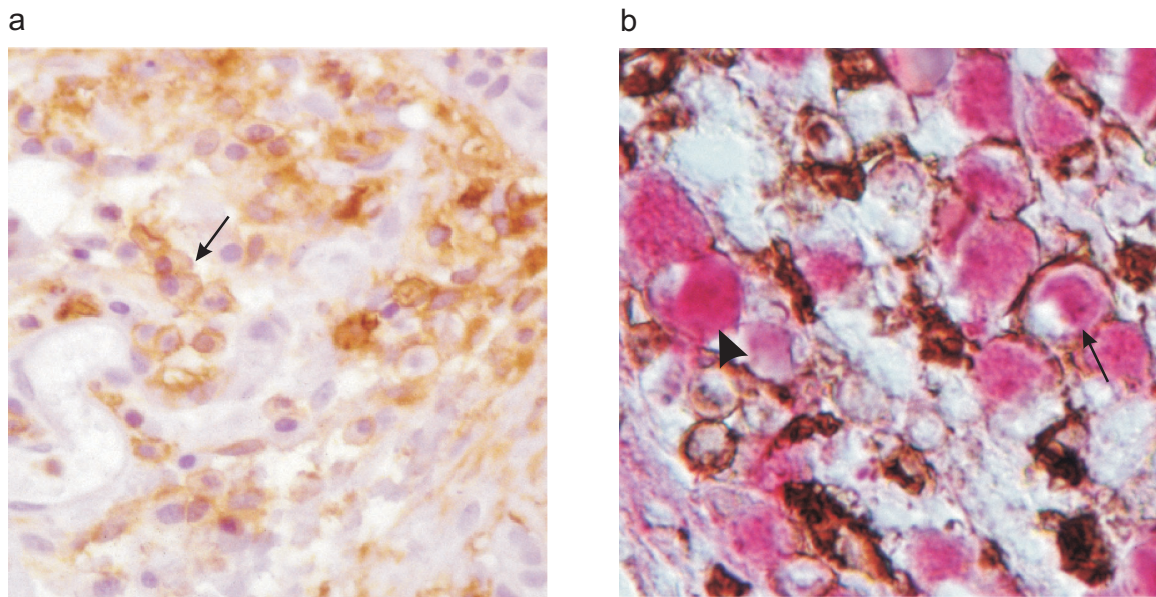


Abbildung 22: **a** Tagebuchnummer T721/04. MHC II-Expression auf Plasmazellen (Pfeil) der Katze, LE. Obj. x 20. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung. **b** Tagebuchnummer T1597/04. MHC II-positive Plasmazellen (Pfeil) und MHC II-negative Plasmazellen (Pfeilspitze), plasmazelluläre Pododermatitis, Doppelmarkierung von MHC II und IgG. Obj. x 100. Maus anti-human HLA-DR (DAB), PAP; Kaninchen anti-Hund IgG (Neufuchsin), ABC-AP.

ten neben MHC II auch das myeloid/histiocyte Antigen und wurden deshalb als Makrophagen eingestuft. Im oberen Korium liegende, MHC II- und Vimentin-positive Zellen mit mehreren langen zytoplasmatischen Fortsätzen wurden als dendritische Zellen interpretiert.

4.2.2.2 MHC II-Nachweis auf Keratinozyten

Auch bei der Katze konnte eine MHC II-Expression auf Keratinozyten in Epidermis und Haarfollikeln oder nur in der Epidermis oder nur auf Epithelzellen des Haarfollikels beobachtet werden.

Die Tiere der Kontrollgruppe zeigten in keinem Fall eine MHC II-Expression auf Keratinozyten.

4.2.2.2.1 MHC II-Nachweis auf epidermalen und folliculären Keratinozyten

Auf epidermalen und folliculären Keratinozyten konnte in insgesamt acht Biopsien eine MHC II-Expression beobachtet werden, wobei in einer dieser Biopsien (T7457/03) nur mit dem Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II und in einer weiteren Probe (T1597/04) nur mit dem Antikörper gegen humanes HLA-DR eine Markierung erzielt wurde.

Im Einzelnen lag bei der Katze eine MHC II-Expression auf follikulären und epidermalen Keratinozyten vor in einem von zwei Fällen mit Interface Dermatitis, welcher ursächlich ein Lupus erythematodes zugrunde lag (Abbildung 23), in zwei von zwei Fällen mit plasmazellulärer Pododermatitis und in zwei Fällen einer eitrigen Follikulitis, wobei in einem dieser Fälle eine Infektion mit Dermatophyten zugrunde lag. Weiterhin zeigten ein Fall einer nodulären granulomatösen Dermatitis ohne spezifische Ursache, ein Fall einer nodulären granulomatösen Pannikulitis aufgrund eines Fremdkörpers und eine Biopsie mit perivaskulärer hyperplastischer Dermatitis, an der auch eosinophile Granulozyten beteiligt waren, eine MHC II-Expression auf epidermalen und follikulären Keratinozyten. Die Epidermis der letzten beiden genannten Biopsien zeigte eine hochgradige Spongiose sowie serozelluläre Krusten und zum Teil eine Ulzeration.

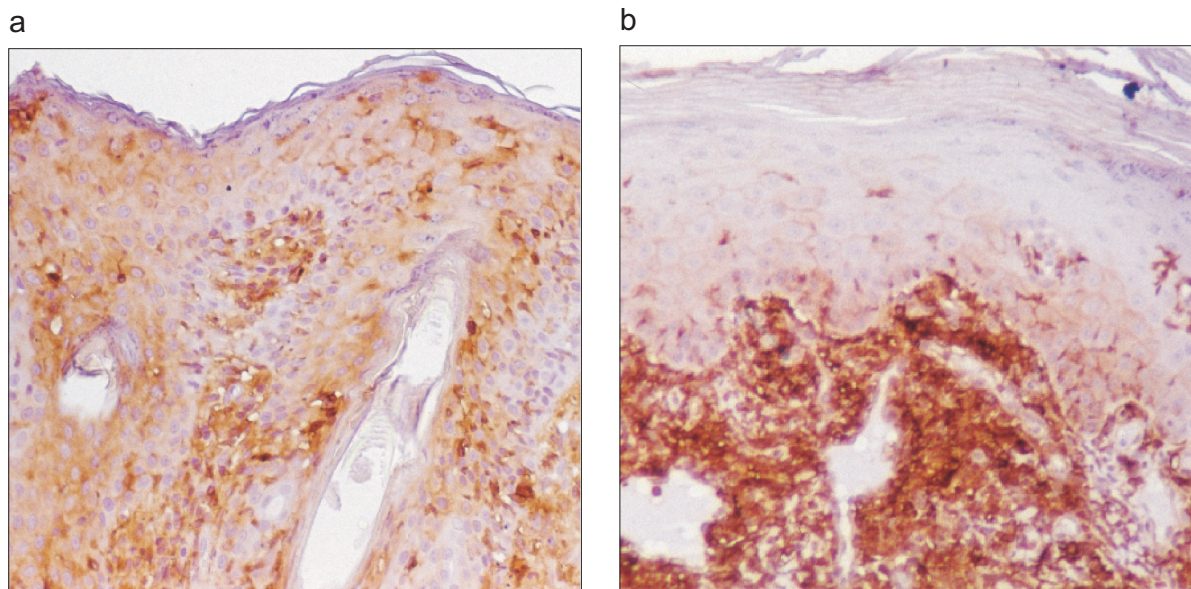


Abbildung 23: a und b Tagebuchnummer T721. MHC II-Expression auf epidermalen und follikulären Keratinozyten, LE. a: Obj. x 20; b: Obj. x 40. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

4.2.2.2 MHC II-Nachweis auf epidermalen Keratinozyten

Ausschließlich auf epidermalen Keratinozyten konnte in insgesamt drei Biopsien MHC II nachgewiesen werden. Dabei erfolgte in zwei Fällen (T7219/03, T7435/03) ausschließlich mit dem Antikörper gegen die β -Kette des felinen MHC II eine Markierung zahlreicher Keratinozyten. In einem der Fälle (T7219/03) handelte es sich um eine Pannikulitis, zusätzlich lagen in der Epidermis eine Spongiose, eine lymphozytäre Exozytose und eine Parakeratose vor. Im verbleibenden Fall handelte es sich um eine Veränderung, die keiner bestimmten Gruppe

zugeordnet werden konnte. Mit dem Antikörper gegen humanes HLA-DR erfolgte in zwei Fällen lediglich eine schwache Markierung einzelner Keratinozyten (T7219/03, T1206/04), wobei in der Biopsie mit der Tagebuchnummer T1206/04, welche sich durch das Vorliegen einer Interface Dermatitis aufgrund eines Lupus erythematoses auszeichnete, auch die konstitutionell MHC II-exprimierenden LHZ durch eine sehr schwache immunhistologische Anfärbarkeit auffielen.

Das Vorkommen von MHC II-Molekülen auf Keratinozyten bei der Katze ist in Abbildung 24 graphisch dargestellt.

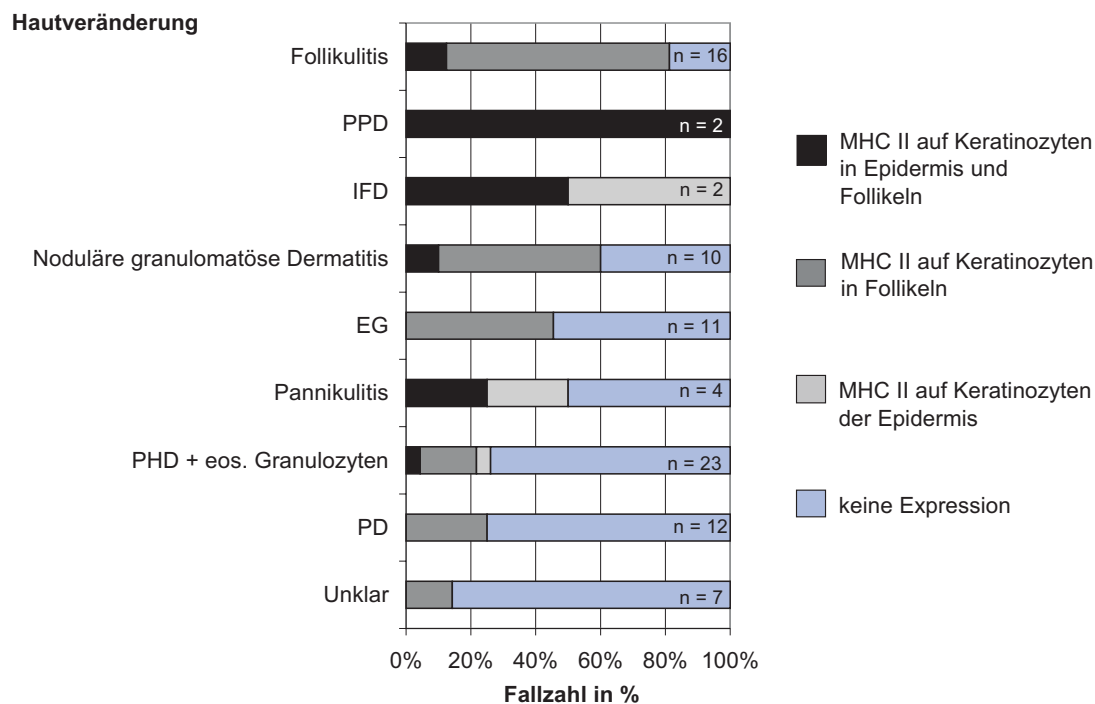


Abbildung 24: Übersicht über die MHC II-positiven epidermalen und folliculären Keratinozyten bei den verschiedenen Dermatitisen. PPD: plasmazelluläre Podo-dermatitis; IFD: Interface Dermatitis; EG: eosinophiles Granulom; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis

4.2.2.2.3 MHC II-Expression auf folliculären Keratinozyten

Die immunhistologische Färbung der Hautbiopsien der Katze führte in elf von 16 Fällen von Follikulitis/Furunkulose ausschließlich zu einer positiven Reaktion auf Keratinozyten des Haarfollikels (Abbildung 25). Dabei zeigten alle elf Fälle eine deutliche Markierung. Zwei weitere Biopsien, in denen eine eitrige Follikulitis vorlag, exprimierten zusätzlich MHC II auf epidermalen Keratinozyten (Abschnitt 4.2.2.2.1).

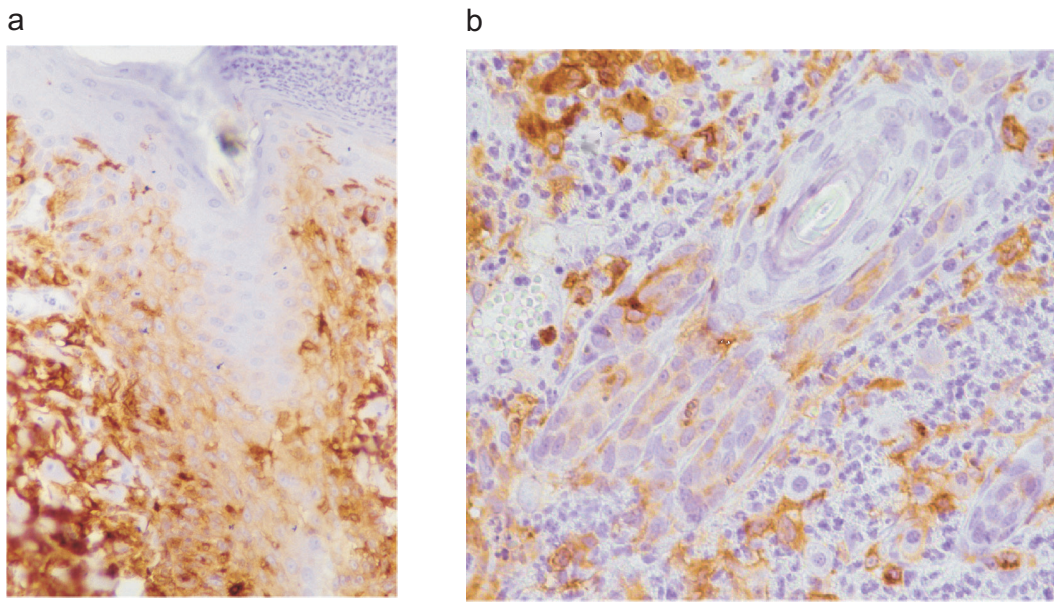


Abbildung 25: **a** Tagebuchnummer I03/4481. MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten der Katze, Dermatophytose. Obj. x 20. **b** T1163/05. MHC II-Expression auf Keratinozyten von Sekundärfollikeln, eosinophiles Granulom. Obj. x 10. Maus anti-feliner MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

Ursächlich lag den Follikulitiden in fünf Proben eine Dermatophytose zugrunde. In fünf weiteren Fällen war keine eindeutige Ursache feststellbar, in einer Biopsie lag eine eosinophile Follikulitis vor.

Neben den Katzen, welche an einer Entzündung der Haarfollikel litten, zeigten auch Katzen mit anderen Hautveränderungen eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten. Im Einzelnen waren dies fünf Tiere, die ein eosinophiles Granulom aufwiesen, wobei die Markierung in einem der fünf Fälle nur schwach ausfiel, fünf Katzen mit einer nodulären pyogranulomatösen Dermatitis, welcher in einer Probe eine Histoplasmose und in einem weiteren Fall ein dermatophytisches Pseudomyzetom zugrunde lagen. Die Ursache der verbleibenden drei Entzündungen dieser Gruppe konnte nicht geklärt werden. Außerdem wiesen vier Tiere mit einer perivaskulären hyperplastischen Dermatitis, an der auch eosinophile Granulozyten beteiligt waren, zwei Tiere mit einer perivaskulären Dermatitis und ein Tier mit einer diffusen eosinophilen Dermatitis eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten auf. In den zuletzt genannten Gruppen fiel die Markierung in vier Fällen sehr schwach aus, in einer Probe (T1366/04) konnte nur mit dem Antikörper gegen felines MHC II eine Färbung erzeugt werden.

Insgesamt zeigten sieben von zehn Katzen, die an einer Dermatophytose litten, eine

MHC II-Expression. Die drei verbleibenden Biopsien von Katzen mit Dermatophytose wiesen mittels des Antikörpers gegen felines MHC II auch auf den konstitutionell MHC II-exprimierenden LHZ nur eine sehr schwache Markierung auf. Da bei den untersuchten Proben der Katze alle auswertbaren Fälle von Follikulitis eine MHC II-Expression zeigten, wurde keine statistische Analyse durchgeführt. Die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei den verschiedenen Dermatitiden der Katze ist in Abbildung 26 dargestellt.

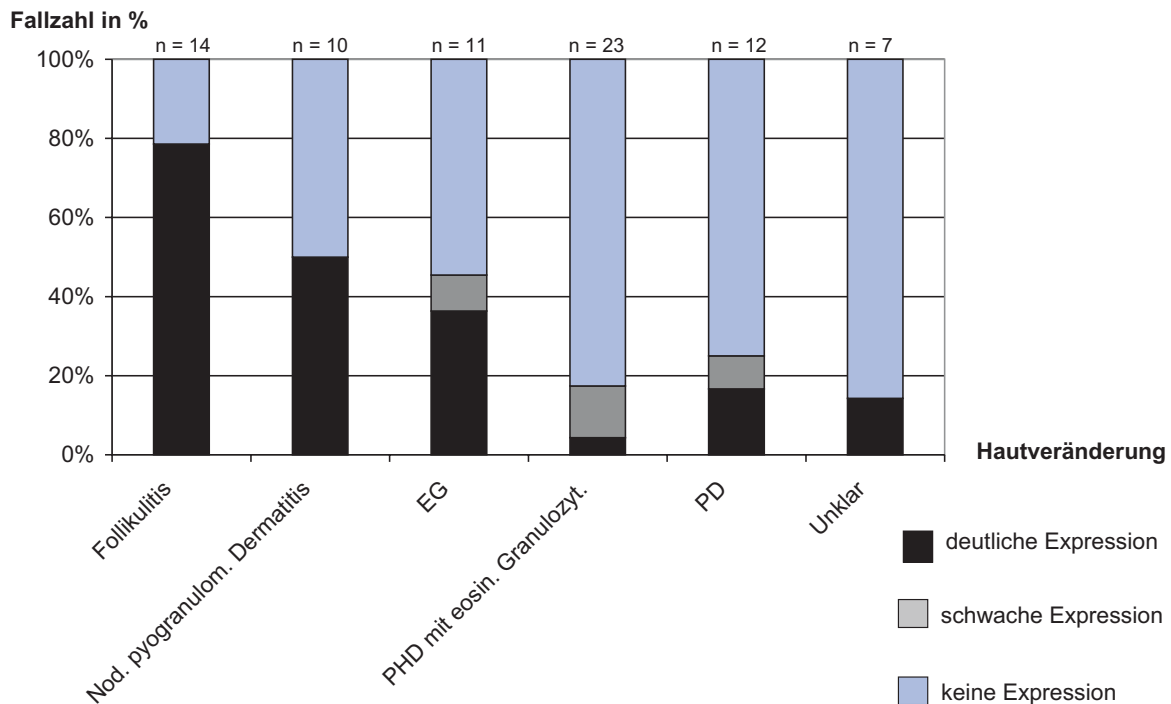


Abbildung 26: Vergleich der verschiedenen Dermatitiden mit MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten. EG: eosinophiles Granulom; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis

4.2.2.3 MHC II-Nachweis auf Endothelzellen

Die MHC II-Expression auf Endothelzellen der Katze verhielt sich ähnlich wie beim Hund. Auch bei der Katze waren in den meisten Dermatitiden MHC II-positive Endothelzellen nachweisbar. Dabei trat die MHC II-Expression in unterschiedlichen Gefäßplexus, in Venen und/oder Arterien und auf aktivierten oder nicht aktivierten Endothelzellen auf (Abbildung 27).

Die Abgrenzung einzelner MHC II-positiver Endothelzellen gegenüber aus den Gefäßen auswandernden Entzündungszellen erfolgte im weiteren Verlauf der Untersuchung mittels einer Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen MHC II und Faktor VIII-related Antigen.

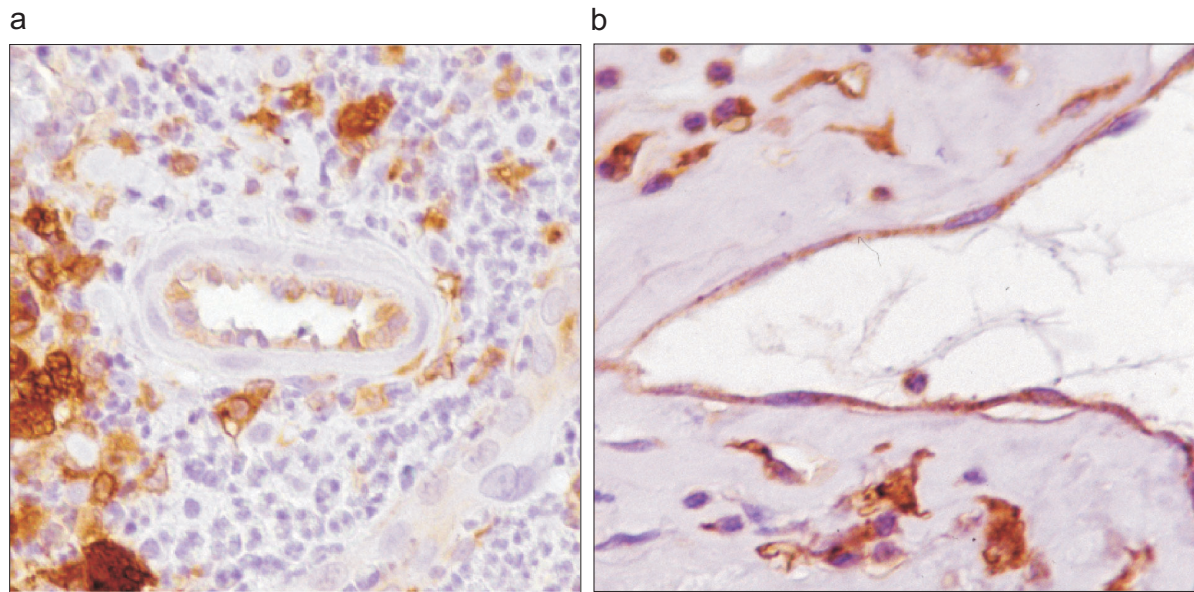


Abbildung 27: **a** Tagebuchnummer T1163/05. MHC II-positive aktivierte Endothelzellen, eosinophiles Granulom. Obj. x 40. Maus anti-felines MHC II, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung. **b** Tagebuchnummer T1597/04. MHC II-positive nicht aktivierte Endothelzellen, plasmazelluläre Pododermatitis. Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung

Zusätzlich konnte durch diese Färbung bei der Katze ebenfalls ein perifollikuläres Netzwerk aus MHC II- und Faktor VIII-related Antigen-positiven Zellen gezeigt werden.

Auch bei der Katze erfolgte eine Färbung der Schnitte mit Antikörpern gegen Laminin, um Blutgefäßendothelien und Lymphgefäßendothelien im perifollikulären Netzwerk aus MHC II- und Faktor VIII-related Antigen positiven Zellen von einander zu unterscheiden. Beim Vergleich beider Färbungen fiel auf, dass nicht in allen MHC II- und Faktor VIII-related Antigen-positiven Arealen gleichzeitig eine Expression von Laminin vorlag.

Ein Zusammenhang zwischen einem bestimmten Expressionsmuster von MHC II auf Endothelien und spezifischen Dermatitiden ließ sich nicht feststellen. Auffällig war jedoch, dass es sich in drei Fällen aus der Gruppe der nodulären und diffusen Dermatitiden, welche keine MHC II-Expression auf Endothelzellen zeigten, um Biopsien mit eosinophilem Granulom handelte, und dass sich in diesen Biopsien auch keine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten zeigte. Weiterhin fiel auf, dass Gefäßendothelien als Bestandteil von Granulationsgewebe nur im Einzelfall MHC II exprimierten, in der Regel jedoch MHC II-negativ waren. Wie auch beim Nachweis von MHC II auf Keratinozyten, waren die MHC II-Moleküle in einzelnen Fällen nur mit dem Antikörper gegen humanes HLA-DR oder mit dem Antikör-

per gegen die β -Kette des feline MHC II detektierbar. Dabei handelte es sich im Fall des Nachweises von MHC II auf Endothelzellen um andere Biopsien als im Falle des MHC II-Nachweises auf Keratinozyten.

Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen ebenfalls häufig MHC II auf Endothelzellen auf, allerdings waren im positiven Falle Gefäße aus allen Plexus betroffen. Zusätzlich konnten in diesen Fällen auch in anderen Organen (Leber, Lunge, Niere) MHC II-exprimierende Endothelzellen beobachtet werden.

4.2.2.4 MHC II-Nachweis auf weiteren Zellen der Haut

Neben der MHC II-Expression auf den oben beschriebenen Zellen der Haut ließen sich in einzelnen Fällen auch MHC II-positive Drüsenepithelien der Schweißdrüsen sowie MHC II-positive Fibrozyten und Adipozyten detektieren. So z.B. MHC II-positive Drüsenepithelien im Fall einer perivaskulären Dermatitis in einem dilatierten Drüsenschlauch. MHC II-exprimierende Adipozyten wurden in einem Fall einer Pannikulitis, in einem Fall einer plazmazellulären Pododermatitis, in einem Fall einer perivaskulären hyperplastischen Dermatitis, an der auch eosinophile Granulozyten beteiligt waren, und in einer Biopsie mit unklarem Veränderungsmuster beobachtet. MHC II-positive Fibrozyten konnten in insgesamt fünf Biopsien (2 Fälle einer Pannikulitis, 2 Fälle einer nodulären granulomatösen Dermatitis, 1 Fall einer perivaskulären hyperplastischen Dermatitis mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten) gefunden werden. Auffällig war in diesem Zusammenhang, dass eine positive Markierung ausschließlich mit dem Antikörper gegen humanes HLA-DR erfolgte. Weiterhin fiel auf, dass die Fibrozyten, welche Bestandteil von Granulationsgewebe waren, zu großen Teilen keine MHC II-Expression zeigten.

Die Färbung mit Antikörpern gegen die α -Kette des MHC II des Menschen (HLA-DR) erzielte eine deutliche Markierung der Talgdrüsen in allen Proben der Katze (Abbildung 28).

Tiere der Kontrollgruppe wiesen in keinem Fall eine MHC II-Expression auf Drüsenepithelien von Schweißdrüsen, Adipozyten oder Fibrozyten auf.

Biopsien mit hochgradiger Entzündung und einer ausgeprägten MHC II-Expression auf den verschiedenen Zellen zeigten häufig zusätzlich eine immunhistologische Markierung von feinkörnigem, nicht zellassoziertem Material. Möglicherweise handelte es sich dabei um Zellfragmente von zugrunde gegangenen Zellen. Die Areale der so genannten „flame figures“ in Biopsien mit eosinophilem Granulom zeigten ebenfalls eine diffuse, nicht zellassozierte Markierung um das eosinophile Material herum (Abbildung 29).

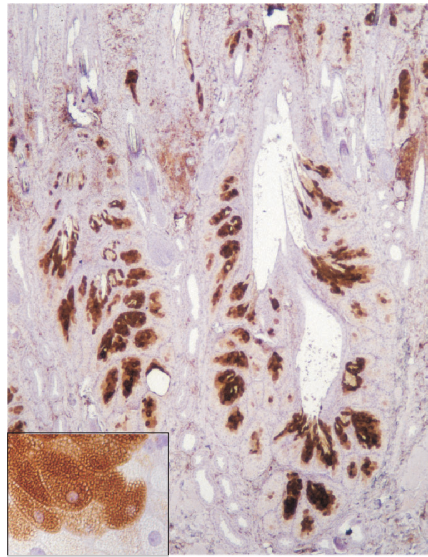


Abbildung 28: Tagebuchnummer T1061/04. Positive Markierung der Talgdrüsen, Allergie. Obj. x 2,5; Inlay: Obj. x 40. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

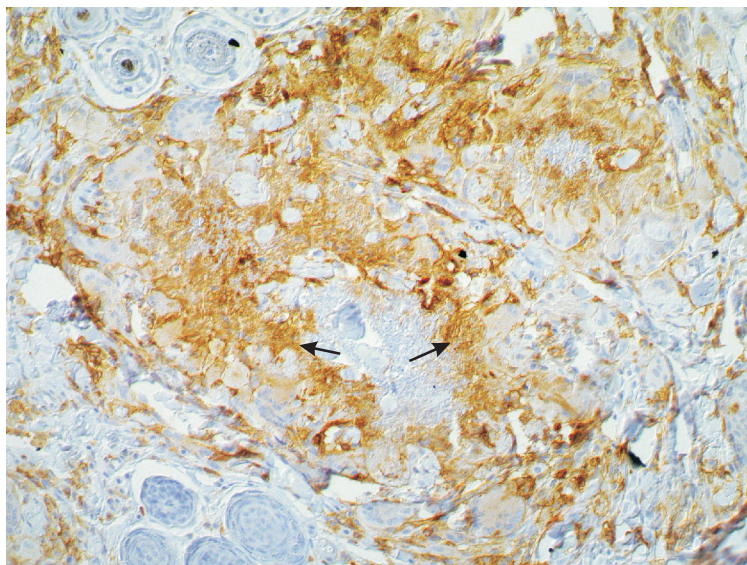


Abbildung 29: Tagebuchnummer T1163/05. Nicht zellassoziierte positive Markierung (Pfeile) um eine „flame figure“, eosinophiles Granulom. Obj. x 20. Maus anti-human HLA-DR, PAP, Papanicolaous Hämatoxylin Gegenfärbung.

4.2.2.5 MHC II-Gesamtexpression

Die MHC II-Gesamtexpression lag bei fast allen Dermatitisden zwischen ++ und +++++, während eine Gesamtexpression von + nur bei einigen perivaskulären Dermatitisden auftrat. Die Proben der Kontrollgruppe wiesen alle eine Gesamtexpression von + auf.

Der Gruppenvergleich der MHC II-Gesamtexpression zwischen den Biopsien mit Dermatitis und der Kontrollgruppe mittels des WMW-Testes ergab einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen ($p < 0,0001$). Der Vergleich der MHC II-Gesamtexpression zwischen den verschiedenen Typen von Dermatitis erzielte ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied ($p < 0,0001$) wobei die Gruppe der nodulären und diffusen Dermatitis durch eine besonders hohe mittlere Rangzahl auffiel. Die MHC II-Gesamtexpression ist in den Tabellen 9 und 10 dargestellt. Die Daten für den Gruppenvergleich zwischen Tieren mit Dermatitis und der Kontrollgruppe sind in den Tabellen 20 und 21 im Anhang aufgeführt.

Tabelle 9: MHC II-Gesamtexpression bei Katzen mit Dermatitis (anti-feliner MHC II)

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression (anti-felines MHC II) | | | | Mittlere Rangzahl |
|-----------------------------|--|----|-----|------|----------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | |
| Folikulitiden | 2 | 3 | 3 | 1 | 45,938 |
| PHD mit eos. Granulozyten | 2 | 18 | 1 | 1 | 29,341 |
| PD | 6 | 4 | 1 | 0 | 22,25 |
| Nod. und diffuse Dermatitis | 0 | 1 | 1 | 27 | 63,19 |
| Pannikulitis | 0 | 2 | 0 | 2 | n. a. |
| Bullöse Dermatitis | 0 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| Pustulöse Dermatitis | 0 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| IFD | 0 | 0 | 0 | 2 | n. a. |
| Unklar | 3 | 1 | 0 | 2 | 29,167 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | n. a. |

PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis; IFD: Interface Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis

Tabelle 10: MHC II-Gesamtexpression bei Katzen mit Dermatitiden (anti-human HLA-DR)

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression (anti-human HLA-DR) | | | | Mittlere Rangzahl |
|-------------------------------|--|----|-----|------|----------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | |
| Folikulitiden | 2 | 3 | 3 | 1 | 31,944 |
| PHD mit eos. Granulozyten | 2 | 18 | 1 | 1 | 27,523 |
| PD | 6 | 4 | 1 | 0 | 17,591 |
| Nod. und diffuse Dermatitiden | 0 | 1 | 1 | 27 | 60,155 |
| Pannikulitis | 0 | 2 | 0 | 2 | n. a. |
| Bullöse Dermatitis | 0 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| Pustulöse Dermatitis | 0 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| IFD | 0 | 0 | 0 | 2 | n. a. |
| Unklar | 3 | 1 | 0 | 2 | 28,667 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | n. a. |

PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis; IFD: Interface Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis

Um festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen der Menge der LHZ in der Epidermis und der MHC II-Gesamtexpression besteht, wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet. Dieser lag für die Gruppe der Katzendermatitiden bei 0,358 mit einem p -Wert von 0,0006 für die Markierung mit dem Antikörper gegen felines MHC II und bei 0,357 mit einem p -Wert von 0,001 für die Markierung mit dem Antikörper gegen humanes HLA-DR. Daraus kann geschlossen werden, dass auch bei der Katze ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der MHC II-Gesamtexpression und der Menge der LHZ in der Epidermis besteht.

5 Diskussion

Das histopathologische Erscheinungsbild von Dermatitisen ist, auch unter Anwendung der „pattern analysis“, nicht immer eindeutig. So kann sich eine bestimmte Hauterkrankung während ihres zeitlichen Verlaufes in verschiedenen Entzündungsmustern präsentieren und es können gleichzeitig verschiedene „Muster“ auftreten. Zudem treten häufig Überlappungen verschiedener Dermatitisen oder von Dermatitisen und Dermatosen auf. Auch bei der Untersuchung der Hautbiopsien im Rahmen dieser Arbeit ließ sich dieses Problem nicht vermeiden. Letzteres äußert sich darin, dass mehreren Entzündungen in Biopsien der verschiedenen Gruppen keine spezifische Ätiologie zugeordnet werden konnte. Zusätzlich gab es sowohl beim Hund, als auch bei der Katze eine Gruppe von Hautveränderungen, denen nicht einmal ein spezifisches Muster zuzuordnen war. In diesem Zusammenhang sollte jedoch beachtet werden, dass die Entnahme einer Biopsie im Verlauf der klinischen Diagnostik häufig als letzte diagnostische Möglichkeit betrachtet wird. Dementsprechend weit fortgeschritten und sekundär verändert kann eine Hautentzündung sein. Schließlich sollte auch in Betracht gezogen werden, dass eine eventuelle Therapie einen Einfluss auf das histopathologische Erscheinungsbild haben kann.

So ist die Schwierigkeit der dermatopathologischen Diagnostik nicht nur in der Sache an sich begründet, sondern wird durch zusätzliche externe Faktoren verkompliziert. Auf Grund des retrospektiven Charakters dieser Arbeit war eine Aufklärung und Berücksichtigung der externen Faktoren nicht immer möglich. Das erklärt zusätzlich die Gruppe an „unklaren Fällen“. Da der Nachweis von MHC II-Antigenen bei Dermatitisen als potentielle Möglichkeit zur zusätzlichen Abgrenzung verschiedener Dermatitisen gegeneinander angenommen wurde, schien es jedoch sinnvoll zu sein, die Gruppe der „unklaren Dermatitisen“ in die Untersuchung mit aufzunehmen.

5.1 MHC II-Antigene auf Zellen des Immunsystems

Die MHC II-Antigene kommen bei Hund und Katze konstitutionell auf den professionellen APC wie den Makrophagen sowie den epidermalen und dermalen dendritischen Zellen vor (Rideout et al., 1990; Rabanal et al., 1995). Daneben ist auch auf der Oberfläche aller B-Lymphozyten und T-Lymphozyten MHC II-Protein zu finden (Doveren et al., 1986;

Cobbold und Metcalfe, 1994; Rideout et al., 1990). Diese Befunde bestätigten sich in der vorliegenden Untersuchung. Im Gegensatz zum Menschen, bei dem das Vorhandensein von MHC II-Antigenen auf T-Lymphozyten in der Haut als Merkmal für die Aktivierung der vorhandenen Lymphozyten genutzt wurde (Foster et al., 1990), ist die Unterscheidung in aktivierte und nicht aktivierte T-Lymphozyten bei Hund und Katze auf dieser Basis nicht möglich.

Bezüglich der LHZ konnte beim Hund und bei der Katze ein signifikant häufigeres Vorkommen dieser Zellen in der Epidermis von entzündeter Haut im Vergleich zu nicht entzündeter Haut beobachtet werden. Dieses Resultat stimmt ebenfalls mit Ergebnissen früherer Untersuchungen überein. So dokumentierte Day (1996) ein signifikant häufigeres Vorkommen der LHZ in caniner Epidermis von Hunden mit Lupus erythematodes, Hypersensitivitätsreaktionen und Pyodermien, sowie Marsella et al. (2006) bei Beagles nach Durchführung eines Allergietestes. Roosje et al. (1997 und 2004) beschrieben ein gehäuftes Vorkommen von LHZ in der Epidermis bei Katzen, ebenfalls nach Durchführung eines Allergietestes.

Neben einer quantitativen Zunahme der LHZ in der Epidermis, fielen sowohl bei den Hunden als auch bei den Katzen im Falle von Dermatitiden außerdem deutlicher ausgeprägte zytoplasmatische Fortsätze als bei Tieren der Kontrollgruppe und bei Tieren mit nicht entzündlichen Veränderungen auf. Die verstärkte Ausprägung der Fortsätze ist möglicherweise Ausdruck der Aktivierung.

Mittels der Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman konnte in der vorliegenden Studie sowohl für den Hund als auch für die Katze ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang zwischen der Zahl der LHZ in der Epidermis und der MHC II-Gesamtexpression berechnet werden. Das Ergebnis weist darauf hin, dass es bei Dermatitiden neben der Zunahme der LHZ in der Epidermis auch zu einer Aufregulierung der MHC II-Gesamtexpression kommt. Dies ist auf der einen Seite sicher in den konstitutionell MHC II-exprimierenden infiltrierenden Entzündungszellen begründet. Auf der anderen Seite konnte an Hand dieser Untersuchung jedoch gezeigt werden, dass verschiedene andere Zellen der Haut auch MHC II exprimieren können. Zusätzlich wiesen auch von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten dominierte Entzündungen eine erhöhte MHC II-Gesamtexpression auf.

In der hier vorliegenden Untersuchung fiel zusätzlich ein gehäuftes Vorkommen von LHZ in der Epidermis bei Hunden mit IFD (denen ursächlich in 9 Fällen ein LE zugrunde lag) im Vergleich zu Hunden mit anderen Dermatitiden auf. Diese Beobachtung steht Untersuchungsergebnissen und Erklärungsansätzen zur Pathogenese des LE beim Menschen, bei denen eine Abnahme der LHZ in veränderter Haut bei Lupus-Patienten festgestellt wurde (Mori et al.,

1994), entgegen. Möglicherweise besteht hier ein speziesspezifischer Unterschied im immunologischen Reaktionsmuster. Diese Vermutung wird durch die Tatsache, dass auch Day (1996) eine Zunahme der LHZ in der Epidermis von Hunden mit LE beobachtete, gestützt. Die Beobachtung, dass das Entzündungszellinfiltrat in der Dermis beim Hund zahlreiche Plasmazellen enthält, während beim Menschen in der Dermis T-Lymphozyten vorherrschen (Bos und de Rie, 2005), lässt einen Unterschied im immunologischen Reaktionsmuster von Mensch und Hund mit LE vermuten. Welche Bedeutung den LHZ in der Epidermis bei Hunden mit LE zukommen, kann noch nicht abschließend geklärt werden. Möglicherweise reichern sie sich in Arealen der Zellzerstörung an, um das dabei freiwerdende Antigen aufzunehmen. Da es sich bei den in der Epidermis lokalisierten LHZ um unreife Zellen handelt (Teunissen, 2005), ist es unwahrscheinlich, dass sie vor Ort in die Antigenpräsentation und Stimulation der Immunantwort involviert sind. Auf der anderen Seite scheint der Phänotyp dieser Zellen von ihrer Umgebung abzuhängen (Teunissen, 2005). Deshalb sollte nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass die LHZ im Rahmen der Antigenpräsentation bei Hunden mit IFD von Bedeutung sind.

Neben den oben genannten konstitutionell MHC II-exprimierenden Entzündungszellen und im Gegensatz zu den in der Vergangenheit durchgeführten immunhistologischen Untersuchungen zu Dermatitis beim Hund (Day, 1996), konnten wir bei Hunden und Katzen eine MHC II-Expression auf Plasmazellen nachweisen. In einigen Biopsien waren sowohl MHC II-positive als auch MHC II-negative Plasmazellen sichtbar. Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass B-Lymphozyten zu den konstitutionell MHC II-exprimierenden Zellen gehören, kann vermutet werden, dass es einen Mechanismus gibt, der die MHC II-Expression auf Plasmazellen unterdrückt. Dafür sprechen auch Ergebnisse von Untersuchungen zur MHC II-Expression an Plasmazytom-Zelllinien. Diese erklären das Erlöschen der MHC II-Expression durch die Transkriptionsrepression der CIITA-Expression. Dabei konnte gezeigt werden, dass sowohl der CIITA Typ III-Promotor, welcher für die konstitutionelle MHC II-Expression auf B-Lymphozyten verantwortlich ist (Ghosh et al., 2001), als auch der CIITA Typ IV-Promotor, welcher in zahlreichen nicht professionellen APC die MHC II-Expression reguliert (Chen et al., 2007), inaktiviert wird. Fraglich bleibt, ob diese Ergebnisse auf „normale“ Plasmazellen übertragbar sind, ob dieser Mechanismus für Carnivoren ebenso zutrifft und, wenn dies der Fall ist, warum dann nicht alle Plasmazellen die Expression einstellen. Die Tatsache, dass Day (1996 und 1997) keine MHC II-Moleküle auf Plasmazellen bei Hunden mit Dermatitis nachwies, könnte darin begründet sein, dass er keine Vorbehandlung zur Antigenmaskierung durchführte.

Im Gegensatz zu Untersuchungen an Mastzelllinien, die eine MHC II-Expression auf Mast-

zellen und in Mastzellgranula beschreiben, konnten wir weder beim Hund noch bei der Katze MHC II-positive Mastzellen detektieren. Möglicherweise ist diese Diskrepanz in der Methodik begründet. Denn im Gegensatz zu den an Mastzelllinien durchgeführten Versuchen, wurden in der vorliegenden Studie keine fluoreszenzmarkierten Antikörper verwendet. Letztere ermöglichen in der Regel eine bessere Detektierbarkeit von in kleinen Mengen vorhandenem Antigen. Zusätzlich wurde in dieser Arbeit formalinfixiertes Material verwendet. Da die Antigenmaskierung bei der Verwendung aldehydbasierter Fixationslösungen nicht nur vom Antigen selber, sondern auch von den Proteinen in der direkten Umgebung des Antigens abhängt (Hed und Enestrom, 1981), wäre es grundsätzlich denkbar, dass Antigene auf bestimmten Zellen maskiert bleiben und deshalb nicht nachweisbar sind.

5.2 MHC II-Antigene auf Keratinozyten

Die Expression von MHC II auf Keratinozyten der Epidermis wurde beim Hund in einem Fall von Pemphigus foliaceus (Day, 1996), in einem Fallbericht über das uveodermatologische Syndrom (Carter et al., 2005) sowie bei der cutanen Leishmaniose beschrieben (Fondevila et al., 1997; Papadogiannakis et al., 2005). Bei der Katze ist bislang keine MHC II-Expression auf Keratinozyten im Zusammenhang mit Dermatitiden beschrieben worden.

In der vorliegenden Untersuchung erfolgte der immunhistologische Nachweis von MHC II-Molekülen auf Keratinozyten bei Dermatitiden verschiedener Ursache, wobei auffällig war, dass entweder Keratinozyten von Epidermis und Haarfollikel eine Markierung zeigten, oder ausschließlich Keratinozyten der Epidermis oder des Haarfollikels angefärbt waren. Im Ergebnisteil dieser Arbeit wurde die Beschreibung der MHC II-Expression auf Keratinozyten anhand dieser Kriterien geordnet und auch hier sollen die Dermatitiden nicht nur auf der Basis ihrer Ursache, sondern auch auf der Basis der MHC II-Expression auf den verschiedenen Keratinozyten (epidermal und/oder follikulär) diskutiert werden.

Auf epidermalen und follikulären Keratinozyten konnte beim Hund in insgesamt 15 Biopsien eine MHC II-Expression beobachtet werden. In acht dieser Biopsien lag eine Interface Dermatitis vor, wobei in sechs Fällen ursächlich ein LE zugrunde lag und in zwei Fällen keine eindeutige Ursache feststellbar war. Weiterhin konnte bei einer oberflächlichen nekrotisierenden Dermatitis, einer Biopsie mit einer pustulösen, bakteriell bedingten Dermatitis, bei einer oberflächlichen hyperplastischen Dermatitis unklarer Ursache und bei vier Biopsien, deren Veränderung keinem bestimmten Muster zu zuordnen war, eine positive Markierung von epidermalen und follikulären Keratinozyten dokumentiert werden. Auffällig in diesem Zusammenhang ist, dass es sich bei allen Dermatitiden, welche MHC II-positive epidermale

und folliculäre Keratinozyten aufwiesen, durchweg um hochgradige, subakute bis chronische Entzündungen handelte, welche ein ausgeprägtes dermales Infiltrat zeigten. Zusätzlich wies die Epidermis in all diesen Fällen durch unterschiedliche Kennzeichen (Hyperplasie, Nekrose, Ulzeration, Spongiose) eine direkte Beteiligung am Entzündungsgeschehen auf.

Bei der Katze wurden in insgesamt acht Biopsien MHC II-Moleküle auf epidermalen und folliculären Keratinozyten detektiert. In diesen acht Biopsien lagen in einem Fall eine IFD, in zwei Fällen eine plasmazelluläre Pododermatitis, in zwei Fällen eine eitrige Follikulitis (wobei die Entzündung in einem Fall durch eine Infektion mit Dermatophyten begründet war), in einem Fall eine noduläre granulomatöse Pannikulitis und in einer Biopsie eine perivaskuläre eosinophile hyperplastische Dermatitis vor. Obwohl diese Gruppe von Dermatitisen bei der Katze sehr heterogen zu sein scheint, zeichneten sich alle Biopsien durch ein hochgradiges dermales Infiltrat und eine Beteiligung der Epidermis aus. Die Beteiligung der Epidermis war durch das Vorliegen einer Ulzeration, Spongiose oder deutlichen serozellulären Krusten gekennzeichnet.

Ausschließlich auf epidermalen Keratinozyten konnte sowohl beim Hund als auch bei der Katze nur in wenigen Biopsien eine MHC II-Expression beobachtet werden. Dies waren beim Hund im Einzelnen Biopsien mit IFD ($n = 4$), Pemphigus foliaceus ($n = 1$) und nicht eindeutigen Veränderungsmuster ($n = 2$). Bei der Katze handelte es sich um Biopsien mit IFD ($n = 1$), Pannikulitis ($n = 1$) und nicht eindeutigen Veränderungsmuster ($n = 1$).

Auch den hier aufgeführten Dermatitisen war eine hochgradige subakute bis chronische Entzündung unter Einbeziehung der Epidermis zu Eigen.

Die dritte Gruppe, bei der MHC II-Proteine auf Epithelzellen nachgewiesen werden konnten, zeigte ausschließlich eine Markierung von folliculären Keratinozyten.

Beim Hund gehörten dieser Gruppe in erster Linie Tiere mit muraler IFF und Furunkulose an. Ursächlich lag in den meisten Fällen eine Demodikose ($n = 40$) oder eine Dermatophytose ($n = 16$) zugrunde. Daneben waren in Follikulitiden unklarer Ursache ($n = 7$), im Falle von Druckpunkt Komedonen ($n = 2$), bei interdigitaler Follikulitis ($n = 1$) und bei der Schäferhundpyodermie ($n = 1$) MHC II-positive folliculäre Keratinozyten nachweisbar. Die Biopsien der Katze zeigten in elf von 16 Fällen einer Follikulitis MHC II-Proteine auf folliculären Keratinozyten. Fünf dieser Fälle lag eine Dermatophytose zugrunde. Zusätzlich konnte bei der Katze auch bei Vorliegen eines eosinophilen Granuloms ($n = 5$ von 11), einer nodulären pyogranulomatösen Dermatitis ($n = 5$ von 10), einer perivaskulären Dermatitis ($n = 6$ von 35) und bei einer Dermatitis, die keinem bestimmten Muster zu zuordnen war ($n = 1$ von 7), ein positives Signal dokumentiert werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung weisen auf einen Zusammenhang zwischen

der MHC II-Expression auf nicht immunologischen Zellen – vor allem Keratinozyten – und der Entzündungszellinfiltration hin.

Verschiedene Autoren fanden heraus, dass die Anwesenheit von MHC II auf der Zelloberfläche von Keratinozyten mit einer Aktivierung der Keratinozyten durch $\text{IFN}\gamma$ oder auch durch Allergene zusammen zu hängen scheint (Griffiths et al., 1989b; Albanesi et al., 1998; Banerjee et al., 2004). Das zur Aktivierung führende $\text{IFN}\gamma$ stammt dabei aller Wahrscheinlichkeit nach von den infiltrierenden Entzündungszellen, wobei in erster Linie T-Lymphozyten eine Rolle spielen dürften (Barker et al., 1988b).

Diese Auffassung würde die MHC II-Expression in den hier beschriebenen Fällen, insbesondere im Falle der IFD sowie der Demodikose und der Dermatophytose bei Hunden und Katzen erklären, da all diese Erkrankungen durch ein von aktivierten T-Lymphozyten dominiertes Infiltrat charakterisiert sind. Zusätzlich infiltrieren die Lymphozyten direkt die Epidermis (IFD) beziehungsweise die äußere Wurzelscheide des Haarfollikels (murale IFF) (Caswell et al., 1995; Parker und Yager, 1997; Gross et al., 2005).

Weiterhin scheint nicht nur die Art der infiltrierenden Entzündungszellen, sondern auch deren Lokalisation von Bedeutung zu sein. So kann die IFD im Falle eines LE oder eines Erythema multiforme ausschließlich die Epidermis betreffen oder aber die Follikelinfundibula in gleicher Weise mit einbeziehen (Gross et al., 2005). Entsprechend konnte im Falle beider Erkrankungen entweder ausschließlich auf epidermalen oder auf epidermalen und follikulären Keratinozyten der Nachweis von MHC II-Antigenen erfolgen. Auf follikulären Keratinozyten wurde eine MHC II-Expression dagegen in erster Linie bei Vorliegen einer Follikulitis beziehungsweise einer Furunkulose, also einer direkten Beteiligung des Haarfollikels an der Entzündung gesehen. Diese Tatsache könnte damit zusammenhängen, dass das von den Lymphozyten produzierte $\text{IFN}\gamma$ nur in die direkte Umgebung der Lymphozyten diffundiert und dort seine Wirkung entfaltet. Letztere führt dann über die in Abschnitt 2.1 beschriebenen Mechanismen zur MHC II-Expression auf Keratinozyten.

Die hier aufgeführten Faktoren würden auch die MHC II-Expression auf epidermalen und follikulären Keratinozyten in den übrigen beschriebenen Fällen erklären, da all diese Dermatitis durch eine hochgradige Entzündung mit einem oftmals diffusen Infiltrat direkt unter der Epidermis und unter Einbeziehung der Epidermis charakterisiert waren.

Im Gegensatz zur muralen IFF sind die tiefen Pyodermien und die traumatisch bedingten Follikulitiden durch die Infiltration von zahlreichen neutrophilen Granulozyten und einigen Makrophagen charakterisiert (Gross et al., 2005). Da sich das Zytokinmuster von eitrigen Entzündungen deutlich von dem lymphozytärer Entzündungen unterscheidet und da $\text{IFN}\gamma$ nicht maßgeblich an eitrigen Entzündungen beteiligt ist (Abbas und Lichtmann, 2005e),

ist der hier diskutierten Hypothese gemäß im Falle der tiefen Pyodermien keine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten zu erwarten. Demzufolge kann das überwiegende Fehlen von MHC II-Molekülen auf follikulären Keratinozyten bei der tiefen Pyodermie erklärt werden, obwohl in diesen Fällen die Haarfollikel direkt in die Entzündung mit einbezogen sind.

Auch die Fälle mit MHC II-negativen Keratinozyten, die in einigen Fällen mit Demodikose und Dermatophytose beobachtet wurden, könnten so erklärt werden, da in diesen Fällen keine murale Interface Follikulitis zu beobachten ist, sondern lediglich eine chronische eitrige Perifollikulitis. Zwei Biopsien mit Demodikose und drei Biopsien mit Dermatophytose wiesen trotz hochgradiger Follikulitis und Furunkulose, an der zahlreiche Lymphozyten beteiligt waren, keine MHC II-positiven Keratinozyten auf. In diesen Biopsien standen auf Grund der hochgradigen Furunkulose nur wenig intakte Follikel zur Beurteilung zur Verfügung. Es ist also nicht auszuschließen, dass in anderen Schnittebenen MHC II-positive Follikelkeratinozyten detektiert werden könnten.

Die Hypothese der MHC II-Expression auf Keratinozyten aufgrund infiltrierender Lymphozyten wird durch die Ergebnisse der statistischen Analyse von Biopsien in denen eine Demodikose oder eine Dermatophytose diagnostiziert wurde, gestützt. Sie zeigten ein statistisch signifikant häufigeres Vorkommen von MHC II-positiven follikulären Keratinozyten bei Tieren mit muraler IFF und Furunkulose im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im Falle der Demodikose konnte zusätzlich ein statistisch signifikanter Unterschied in der MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten zwischen Hunden mit muraler IFF und Perifollikulitis ermittelt werden.

Die Tatsache, dass nicht nur Proben mit muraler IFF, sondern auch zahlreiche Biopsien mit Furunkulose eine MHC II-Expression aufwiesen, ließe sich darauf zurückführen, dass die Einteilung der Follikulitiden immer nach dem dominierenden Veränderungsmuster erfolgte, gleichzeitig jedoch häufig auch andere Komponenten von Follikulitiden vorliegen. Das heißt: In vielen Fällen von Furunkulose lag gleichzeitig eine murale IFF vor. Zusätzlich sollte beachtet werden, dass auch Makrophagen, welche einen großen Teil der Entzündungszellen bei einer Furunkulose ausmachen, im Rahmen einer Th1-vermittelten Immunantwort aktiviert werden. Letztere wird neben anderen Zytokinen wiederum durch $\text{IFN}\gamma$ gesteuert.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass in 5 von 11 eosinophilen Granulomen sowie in 5 von 10 nodulären granulomatösen/pyogranulomatösen Dermatitiden der Katze MHC II auf follikulären Keratinozyten gefunden wurde. Eosinophile Granulozyten werden im Rahmen einer Th2-Immunantwort aktiviert und tragen zur Hemmung der $\text{IFN}\gamma$ -Ausschüttung bei (Abbas und Lichtmann, 2005f). Auf der Basis der Hypothese, dass $\text{IFN}\gamma$

zur MHC II-Expression auf Keratinozyten führt, ist zu erwarten, dass im Falle eines eosinophilen Granuloms keine MHC II-Expression auf Keratinozyten zu beobachten ist. Da das eosinophile Granulom jedoch nicht nur durch das Vorhandensein von eosinophilen Granulozyten gekennzeichnet ist, sondern in der Regel auch zahlreiche Makrophagen sowie mehrkernige Riesenzellen vorkommen (Fondati et al., 2001), ist auch hier denkbar, dass bei älteren Veränderungen nicht mehr das Zytokinmuster der Th2-vermittelten Immunantwort dominiert, sondern aufgrund der granulomatösen Entzündung größere Mengen an $\text{IFN}\gamma$ produziert werden, die eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bedingen. Die unterschiedlichen Entzündungsphasen im Verlauf eines eosinophilen Granuloms scheinen sich demnach in der MHC II-Expression auf nicht konstitutionell MHC II-exprimierenden Zellen auszudrücken.

Auch bei der tiefen pyogranulomatösen Entzündung könnte die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten durch das im Rahmen der Th1-vermittelten Immunreaktion entstandene $\text{IFN}\gamma$ erklärt werden. Diese Möglichkeit wird wiederum von der Tatsache unterstützt, dass in diesen Fällen, im Gegensatz zu den muralen IFF, Haarfollikel auch im Bereich des Isthmus – also in tieferen Abschnitten der Dermis – MHC II-positive Keratinozyten aufwiesen. Bei den muralen IFF befanden sich die MHC II-positiven Keratinozyten insbesondere im Infundibulum, eben in dem Abschnitt der stärksten lymphozytären Infiltration.

Die Bedeutung der MHC II-Expression auf Keratinozyten ist, wie in Abschnitt 2.4 aufgeführt, noch nicht ganz geklärt. Verschiedene Untersuchungen sprechen dafür, dass Keratinozyten MHC II-Moleküle tatsächlich synthetisieren und es sich nicht um von außen angelagerte oder gar phagozytierte Moleküle anderer zerstörter Zellen handelt. So konnten Albanesi et al. (1998) zeigen, dass Keratinozyten das den MHC-Proteinen homologe HLA-DM-Protein und den Klasse II-Transaktivator RFX5 exprimieren. Außerdem scheint die Expression durch Zugabe von $\text{IFN}\gamma$ zu Keratinozytenzelllinien induzierbar zu sein (Barker et al., 1988b; Griffiths et al., 1989b; Banerjee et al., 2004).

Die nächste Frage, die sich ergibt, beschäftigt sich mit der Funktion der MHC II-Moleküle auf Keratinozyten. Handelt es sich dabei lediglich um eine Reaktion auf ein bestimmtes Zytokinmilieu oder präsentieren die Keratinozyten tatsächlich Antigen? Die Tatsache, dass Keratinozyten HLA-DM produzieren, welches in APC die Bindung von Antigen an das MHC II-Molekül katalysiert, sowie dass auf der Oberfläche von Keratinozyten exprimierte MHC II-Antigene sehr resistent gegenüber Dodecylsulfat sind, lassen eine Bindung von Antigen vermuten (Albanesi et al., 1998). Auch konnte gezeigt werden, dass Keratinozytenzelllinien in der Lage sind, eine Proliferation von T-Lymphozyten zu induzieren sowie in Kultur zugegebene Molekülfragmente zu präsentieren (de Bueger et al., 1993; Gaspari und Katz, 1988). Die effektive Antigenpräsentation hängt jedoch nicht alleine von den MHC II-Molekülen ab.

Vielmehr bedarf es weiterer Signale, die über so genannte Co-Faktoren vermittelt werden. Zu diesen Co-Faktoren gehören in erster Linie die von T-Lymphozyten exprimierten CD28-Moleküle. Diese bedingen durch die Bindung an CD80 und CD86 (=B7-1 und B7-2), welche auf APC zu finden sind, eine Aktivierung und Proliferation von T-Lymphozyten (Linsley und Ledbetter, 1993). Das Fehlen von CD80 und CD86 auf APC hingegen führt zur klonalen Anergie von T-Zellen (Mueller et al., 1989). Auf humanen Keratinozyten normaler Haut konnte kein (Simon et al., 1994) oder konnten nur geringe Mengen (Fleming et al., 1993) von CD80 detektiert werden. Darüber hinaus beobachteten Gaspari et al. (1988) und Bal et al. (1990) in verschiedenen Untersuchungen zur Antigenpräsentation durch Keratinozyten die Erzeugung einer klonalen Anergie (Gaspari et al., 1988; Bal et al., 1990). Diese Beobachtung und die Tatsache, dass Keratinozyten gesunder Haut maximal geringe Mengen an CD80 exprimieren, führten zu der Vermutung, dass Keratinozyten aufgrund ihrer fehlerhaften Antigenpräsentation zu der Aufrechterhaltung der Toleranz von epidermotropen T-Lymphozyten beitragen und in gewisser Hinsicht dem immunstimulatorischen Effekt der LHZ entgegen wirken (Burns et al., 2005; Wakem et al., 2000). Auf der anderen Seite konnte beim Menschen eine Zunahme der CD80-Moleküle auf Keratinozyten bei allergischer Kontaktdermatitis (Wakem et al., 2000) und Lichen ruber planus sowie auf Keratinozytenzelllinien nach Stimulation vermerkt werden. Daher wurde vermutet, dass Keratinozyten unter Einwirkung von Stressoren CD80 exprimieren und damit in der Lage sind, Antigen effektiv zu präsentieren, was wiederum zum Niederbruch der immunologischen Toleranz in der Haut führt und eine T-Helferzell-vermittelte Entzündung zur Folge hat (Wakem et al., 2000; Simon et al., 1994).

Die Bedeutung der MHC II-Expression beim Hund und bei der Katze ist noch unklar. Denkbar wären, unter Berücksichtigung der im humanmedizinischen Bereich erzielten Ergebnisse, folgende immunologische Ereignisse: Ein initialer Stimulus (Selbstantigen, Fremdantigen) führt zur Aktivierung der LHZ und zur Stimulierung und Proliferation von T-Lymphozyten im Lymphknoten. Diese emigrieren in die Haut und führen über eine Ausschüttung von $\text{IFN}\gamma$ zur MHC II-Expression auf Keratinozyten sowie eventuell auch zur Expression von für die Antigenpräsentation wichtigen Co-Faktoren der B7-Familie. Nach dieser Aktivierung der Keratinozyten wären sie dann selber in der Lage, Antigen effektiv zu exprimieren und damit T-Helferzellen zu stimulieren. Möglicherweise trägt diese Wirkung dann zur Aufrechterhaltung der Entzündung im Rahmen von IFD und IFF sowie zur Zerstörung von Keratinozyten bei und stellt eine Art Verstärkereffekt dar. Abbildung 30 soll den möglichen Effekt einer MHC II-Expression auf Keratinozyten verdeutlichen.

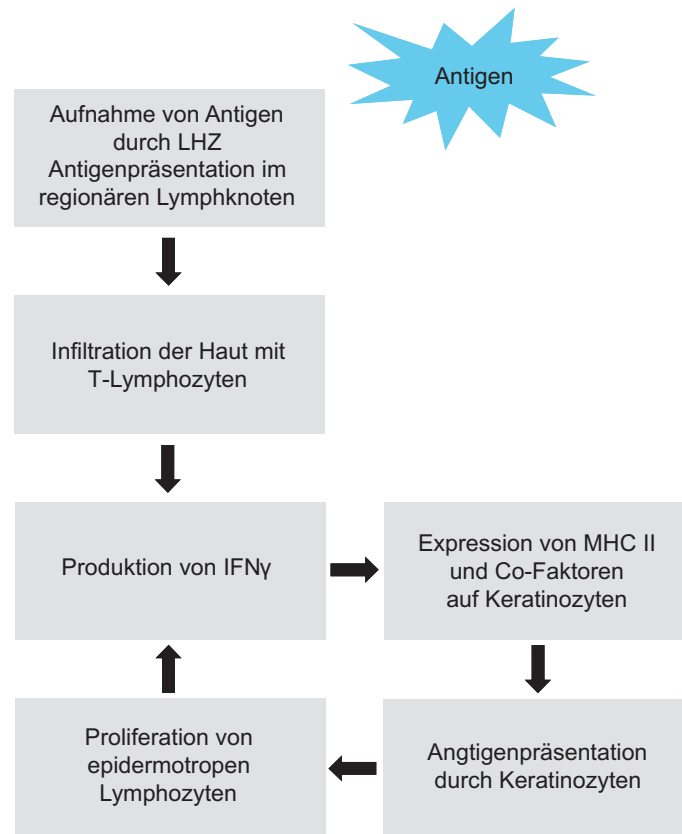


Abbildung 30: Möglicher Effekt der MHC II-Expression auf Keratinozyten

5.3 MHC II-Antigene auf Endothelzellen

Die Endothelzellen der Gefäße in der Haut stellen die zweite, nicht konstitutionell MHC II-exprimierende Zellart neben den Keratinozyten dar, auf der MHC II-Moleküle detektierbar waren. In Biopsien von Hunden und Katzen mit Dermatitisen färbten sich Endothelzellen des oberflächlichen, mittleren und/oder tiefen Gefäßplexus sowie von Venen und/oder Arterien positiv an. Dabei konnte kein Zusammenhang zwischen bestimmten Formen von Dermatitisen beobachtet werden. Auch schien es keine Verbindung zwischen der Lokalisation einer Entzündung innerhalb der Biopsie und derjenigen MHC II-positiver Gefäße oder Gefäßplexus zu geben. Auffällig war hingegen, dass die Endothelzellen von Proben mit nicht entzündlichen Hautveränderungen beim Hund nur in zwei Fällen MHC II-Antigene exprimierten und dass in diesen Fällen jeweils der tiefe Gefäßplexus betroffen war. Die Tiere der Kontrollgruppe wiesen sowohl beim Hund als auch bei der Katze MHC II-positive Endothelzellen auf. Dabei waren die Endothelzellen der Kontrollhunde nur in 4 von 10 Biopsien MHC II-positiv und auch hier befanden sie sich ausschließlich in Gefäßen des tiefen Plexus. Bei der Katze hingegen waren in der Kontrollgruppe meistens die Endothelzellen in allen

Gefäßplexus MHC II-positiv.

Nach Rabanal et al. (1995) ist bei gesunden Hunden keine Expression von MHC II auf Endothelzellen der Haut zu beobachten (Rabanal et al., 1995) während Alldinger et al. (1996) bei gesunden Hunden im Gehirn vereinzelt MHC II-Moleküle auf Endothelzellen nachwiesen (Alldinger et al., 1996).

Rideout et al. (1990) zeigte MHC II-Moleküle auf Endothelzellen gesunder Katzen (Rideout et al., 1990) und Kipar (2002) konnte bei SPF Katzen im Gehirn, jedoch nicht in anderen Organen, vereinzelt MHC II-positive Endothelzellen detektieren (Kipar, 2002). Zusammenfassend lässt sich aus der Literatur schließen, dass bei gesunden Hunden und Katzen zwar MHC II-Moleküle auf Endothelzellen vorkommen können, diese jedoch nur in geringer Menge exprimiert werden.

Studien zu Endothelzellen des Menschen dokumentieren eine konstitutionelle MHC II-Expression auf mikrovaskulären Endothelzellen (Cines et al., 1998) sowie die Induktion der Expression auf anderen Endothelien durch $\text{IFN}\gamma$ (Cines et al., 1998; Pober et al., 2001).

Möglicherweise sind auch bei Hund und Katze basale $\text{IFN}\gamma$ -Spiegel für eine geringe MHC II-Expression auf Endothelzellen verantwortlich. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung weisen darauf hin, dass es im Rahmen einer Entzündung zur Aufregulierung der MHC II-Expression auf Endothelzellen kommt. Dafür spricht unter anderem, dass es sich bei den Kontrolltieren nicht um „gesunde“ Hunde und Katzen handelte, sondern um Tiere, die aus dem Sektionsgut des Institutes für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Giessen stammten, so dass die Endothelreaktion eventuell eine systemische Aktivierung darstellt. Besonders die Tatsache, dass bei den Kontrollkatzen entweder Gefäße aller Plexus und die Gefäße der inneren Organe MHC II exprimierten oder alle Gefäße negativ waren, unterstützt diese Vermutung.

In der vorliegenden Untersuchung fiel auf, dass sich zahlreiche längliche, perifollikulär liegende Zellen MHC II-positiv darstellten. Teilweise begrenzten diese Zellen spaltartige Hohlräume. Eine Doppelmarkierung mit Antikörpern gegen MHC II und Faktor VIII-related Antigen zeigte, dass diese Zellen teilweise MHC II und Faktor VIII-related Antigen exprimierten und teilweise im Wechsel mit Faktor VIII-related Antigen-positiven Zellen lagen. Da sowohl Endothelzellen von Blutgefäßen als auch Endothelzellen von Lymphgefäßen Faktor VIII-related Antigen exprimieren (Hultberg und Svanholm, 1989), wurde zur Abklärung, ob es sich bei den perifollikulär lokalisierten Spalträumen um Lymph- oder Blutgefäße handelt, zusätzlich eine immunhistologische Färbung mit Laminin durchgeführt. Laminin wurde in verschiedenen Studien als geeignet für die Unterscheidung von Lymph- und Blutgefäßen befunden (Hultberg und Svanholm, 1989; Otsuki et al., 1990). Wie aus Abbildung 16 ersicht-

lich, zeigen nicht alle Faktor VIII-related Antigen markierten Bereiche auch eine Markierung mit Laminin. Aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse kann zusammenfassend gesagt werden, dass die Haarfollikel von einem dichten Netzwerk aus Blut- und Lymphkapillaren sowie dendritischen Zellen umgeben sind und dass die Endothelzellen dieser Kapillaren unter Umständen auch MHC II exprimieren können.

5.4 MHC II-Expression auf weiteren Zellen der Haut

In einigen Biopsien mit unterschiedlichen Dermatitisen zeigten beim Hund und bei der Katze die Epithelzellen der Schweißdrüsen, die Adipozyten und auch die Fibrozyten eine MHC II-Expression. Tiere mit nicht entzündlichen Hautveränderungen sowie Tiere der Kontrollgruppe wiesen in keinem Fall eine MHC II-Expression auf diesen Zellen auf. Genau wie bei allen anderen, nicht konstitutionell MHC II-exprimierenden Zellen (Plasmazellen, Keratinozyten, Endothelzellen) fiel auch hier wieder auf, dass innerhalb einer Biopsie nie alle Zellen eines Typs MHC II-positiv waren.

Auf dermalen Fibrozyten ist das Vorkommen von MHC II sowohl beim Menschen als auch bei Hunden und Katzen beschrieben. Dabei konnte an humanen Fibrozytenzelllinien gezeigt werden, dass normale, unstimulierte Fibrozyten MHC II-negativ sind, aber nach Stimulation mit $\text{IFN}\gamma$ eine MHC II-Expression aufweisen. Dann trat HLA-DR am stärksten in Erscheinung, während HLA-DP nur in geringer Menge und HLA-DQ fast gar nicht detektiert werden konnten (Geppert und Lipsky, 1985).

Beim Hund ist das Vorkommen von MHC II-positiven Fibrozyten bei gesunden Tieren (Rabanal et al., 1995) und in Zusammenhang mit verschiedenen Dermatitisen beschrieben worden (Day, 1996; Day, 1997; Papadogiannakis et al., 2005). Die dermalen Fibrozyten der gesunden Katze scheinen dagegen keine MHC II-Expression zu zeigen, während auf neoplastischen Zellen im feline Fibrosarkom MHC II-Moleküle detektiert werden konnten (Bleier, 2003). In der vorliegenden Studie konnten wir weder bei gesunden Hunden noch bei gesunden Katzen MHC II-positive Fibrozyten nachweisen. In einigen Biopsien mit deutlicher Entzündung hingegen schon. Insbesondere die Tatsache, dass in den positiven Fällen nicht alle Fibrozyten eine Expression zeigten, spricht wiederum für das lokale Vorkommen von zum Beispiel $\text{IFN}\gamma$, welches die Expression induziert. Fraglich bleibt, warum nicht alle Biopsien, in denen eine starke, von Lymphozyten dominierte Entzündung vorlag, MHC II-positive Fibrozyten aufwiesen.

Eine konstitutionelle MHC II-Expression ist beim Menschen auf Zellen der eccrinen Schweißdrüsen beschrieben (McGregor et al., 1991). Literaturstellen, die MHC II-positive

Adipozyten beschreiben, konnten nicht gefunden werden.

Da in der vorliegenden Untersuchung nie alle Schweißdrüsenepithelien und nie alle Adipozyten positiv markiert waren und da nicht eine diffuse, sondern eine lokale, zellassozierte Markierung beobachtet werden konnte, wird angenommen, dass es sich tatsächlich um eine MHC II-Expression handelt. Die Tatsache, dass auch diese Zellen nur im Falle einer deutlichen Entzündung MHC II exprimierten, lässt vermuten, dass wiederum im Rahmen der Entzündung entstehendes IFN γ eine Expression induziert.

In Biopsien mit starker Entzündung konnte neben der zellassozierten Markierung von MHC II-Molekülen zusätzlich eine extrazelluläre fein granulierte Färbung dokumentiert werden. Insbesondere im Falle von eosinophilen Granulomen bei der Katze fiel die Anhäufung von nicht zellassoziertem MHC II-positivem Material im Randbereich der „flame figures“ auf. Bei dieser Markierung könnte es sich um Material zugrunde gegangener, MHC II-positiver Zellen handeln. Insbesondere im Falle des eosinophilen Granuloms scheint dies wahrscheinlich, da es sich bei den „flame figures“ um Areale zugrundegehender und degranulierter eosinophiler Granulozyten handelt (Bardagi et al., 2003) und diese möglicherweise ein Milieu schaffen, das auch angrenzende Zellen nekrotisch werden lässt. Auf der anderen Seite ist auch das Vorkommen von löslichem MHC II im menschlichen Serum und bei der Maus beschrieben (MacKay et al., 2006; Callahan et al., 1975). Das lösliche MHC II im menschlichen Serum war mit dem in dieser Arbeit verwendeten monoklonalen Antikörper (TAL -1B5) detektierbar (MacKay et al., 2006). Daher ist auch denkbar, dass es sich bei der nicht zellassozierten Markierung in den hier untersuchten Fällen um lösliches MHC II handelt. Aufgrund der Tatsache, dass im Rahmen der Produktion von löslichem MHC II nur der pI-Promotor zur CIITA-Expression benötigt wird, ist es wahrscheinlich, dass das lösliche MHC II von dendritischen Zellen und Makrophagen produziert wird (MacKay et al., 2006). Denn eben diese Zellen benutzen den pI-Promotor zur CIITA-Expression, während B-Lymphozyten z.B. den pIII-Promotor benutzen und in nicht professionellen APC der pIV-Promotor aktiv ist (Reith et al., 2005).

5.5 Unterschiede in der Detektierbarkeit von MHC II-Proteinen mit unterschiedlichen Antikörpern bei der Katze

Bei der Katze erfolgte die Markierung der MHC II-Proteine mit zwei unterschiedlichen Antikörpern. Zunächst wurden alle Schnitte mit einem Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II gefärbt (von Bothmer, 2007). Mit diesem Antikörper färbten sich in den meisten Biopsien alle als konstitutionell MHC II-exprimierend beschriebene Zellen an. Zusätzlich

konnte in einigen Biopsien eine MHC II-Expression auf Keratinozyten, Endothelzellen, Adipozyten und Epithelzellen von Schweißdrüsen beobachtet werden. Fibrozyten ließen sich mit diesem Antikörper jedoch nicht anfärben.

Bei Betrachtung aller untersuchten Biopsien der Katze fielen jedoch immer wieder solche auf, in denen nur eine sehr schwache Markierung erzielt werden konnte. Einige Biopsien ließen sich auch nach wiederholter Färbung überhaupt nicht markieren. Da als interne Prozesskontrolle die LHZ in der Epidermis sowie die im HE-Schnitt beobachteten Makrophagen und Lymphozyten dienten, kann ausgeschlossen werden, dass in diesen Biopsien keine MHC II-exprimierenden Zellen vorhanden waren. In einem zweiten Schritt, in dem alle Biopsien mit einem monoklonalen Antikörper gegen die α -Kette des humanen HLA-DR markiert wurden, konnten zusätzlich in diesen Biopsien MHC II-positive Zellen detektiert werden. Es stellt sich daher die Frage, warum der Antikörper gegen die β -Kette des felines MHC II in einigen Fällen nicht reagierte. Bei dem MHC II-Molekül handelt es sich um ein Protein. Daher muss prinzipiell damit gerechnet werden, dass es im Rahmen von postmortalen Autolyse und Fäulnis degradiert wird und deshalb nicht mehr detektierbar ist. Denkbar ist auch, dass die β -Kette empfindlicher gegenüber Einwirkungen der genannten Art ist als die α -Kette. Diese Möglichkeit wurde mittels eines einfachen Versuches abgeklärt, in dem von einem Stück Haut einer frischen seziierten Katze nach unterschiedlichen Zeiten (sofort, nach 24, nach 48 und nach 72 Stunden) eine Probe für 24 Stunden in 10 % Formalin gelegt und anschließend in Paraffin eingebettet wurde. Selbst nach 72 Stunden konnte das MHC II-Antigen mit beiden Antikörpern noch detektiert werden.

Weiterhin ist bekannt, dass eine lang anhaltende Fixierung in Formalin schädlich für die antigenen Strukturen sein und die immunhistologische Reaktion beeinflussen kann. (Ramos-Vara, 2005). Da es sich bei den untersuchten Proben um eingesendetes Material aus der Routinediagnostik des Institutes für Veterinär-Pathologie handelt, ist nicht klar, wie lange eine Biopsie tatsächlich fixiert wurde. Um auszuschließen, dass eine lang anhaltende Fixierungsdauer für die fehlende bzw. schlechte Immunreaktion verantwortlich ist, wurden in einem weiteren Versuch Hautproben einer seziierten Katze unterschiedlich lange (24, 48 und 72 Stunden) in 10 % Formalin fixiert. Dieser Versuch zeigte jedoch, dass die Dauer der Fixierung keinen Einfluss auf das Ergebnis der immunhistologischen Färbung mit dem katzenspezifischen Antikörper hatte.

Auf der anderen Seite gab es Biopsien, die sich mit dem Antikörper gegen die feline β -Kette deutlich stärker markieren ließen, als mit dem Antikörper gegen die humane α -Kette des MHC II. Es gab jedoch keinen Fall, in dem eine Biopsie mit dem letztgenannten Antikörper gar nicht färbbar gewesen wäre.

Da beide Antikörper nach dem gleichen immunhistologischen Protokoll angewendet und die Schnitte mit der gleichen Methode zur Antigendemaskierung vorbehandelt wurden, kann die unterschiedliche Markierung auch nicht durch eine variierende Methodik begründet werden.

Weiterhin wurde kein Zusammenhang zwischen einem bestimmten Entzündungsmuster oder einer bestimmten Entzündungsursache und der fehlenden Anfärbbarkeit entdeckt. Deshalb ist es wohl unwahrscheinlich, dass ein bestimmter Mechanismus, zum Beispiel eines Erregers, die MHC II-Expression in den beschriebenen Fällen beeinflusst hat.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit, welche die unterschiedliche Anfärbbarkeit der Katzenbiopsien mit beiden Antikörpern erklären könnte, wäre, dass nicht immer beide Anteile des MHC II-Moleküls auf der Zelloberfläche exprimiert werden. Das heißt, es wäre in bestimmten Fällen entweder nur die α -Kette oder nur die β -Kette nachweisbar. Literaturstellen zu diesbezüglichen Untersuchungen waren jedoch nicht auffindbar.

5.6 Speziesvergleich

Ein abschließender Vergleich der Untersuchungsergebnisse des Hundes mit denen der Katze zeigt, dass sich die MHC II-Expression in der Haut im Falle von Dermatitis bei beiden Tierarten ähnlich verhält. So konnte sowohl beim Hund als auch bei der Katze eine Zunahme von MHC II-positiven Zellen insgesamt und auch eine Zunahme der LHZ in der Epidermis bei entzündlichen Hautveränderungen festgestellt werden. Zudem zeigten im Falle von Entzündungen bei beiden Tierarten auch zahlreiche nicht konstitutionell MHC II-exprimierende Zellen eine positive Markierung. Insbesondere die MHC II-Expression auf Keratinozyten schien bei Hunden und auch bei Katzen nur im Zusammenhang mit bestimmten Entzündungsmustern aufzutreten. Dabei standen die Entzündungen, welche durch ein lymphozytäres, häufig auch intraepidermales oder intramurales Infiltrat charakterisiert waren, im Vordergrund. Eine Besonderheit der Katze war die MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten bei Vorliegen eines eosinophilen Granuloms und einer pyogranulomatösen/granulomatösen Dermatitis. Möglicherweise ist dieser Unterschied nur in der Tatsache bedingt, dass diese Arten von Entzündungen bei der Katze weitaus häufiger sind als beim Hund und deshalb auch in der Probandengruppe stärker vertreten waren. Andererseits sind eben diese Entzündungen für die Katze sehr typisch und stellen ein diagnostisches Problem dar. Während für das eosinophile Granulom zurzeit eine allergische Genese vermutet wird (Gross et al., 2005), ist die Ursache vieler granulomatöser/pyogranulomatöser Dermatitis der Katze ungeklärt. Die Tatsache, dass Katzen in diesen Fällen mit einer MHC II-Expression auf follikulären Kera-

tinozyten reagieren, obwohl der Haarfollikel nicht direkt in die Entzündung involviert ist, könnte auf eine besonders starke Ausschüttung von Zytokinen, insbesondere von $\text{IFN}\gamma$, im Rahmen dieser granulomatösen/pyogranulomatösen Entzündungen hinweisen. Möglicherweise stellen diese Entzündungen damit eine heftige Reaktion auf „kleine“ Noxen dar, weshalb häufig keine Ursache feststellbar ist.

Ein Vergleich der Ergebnisse dieser Studie mit Untersuchungen zur MHC II-Expression bei Dermatitiden des Menschen zeigt, dass Hunde und Katzen ein dem Menschen ähnliches Expressionsmuster aufweisen. Ein wichtiger Unterschied ist jedoch, dass bei Hunden und Katzen alle Lymphozyten konstitutionell MHC II exprimieren. Weiterhin konnte bei beiden Tierarten eine MHC II-Expression auf einigen Plasmazellen detektiert werden, während Untersuchungen an Plasmazytom-Zelllinien zeigen, dass beim Menschen die MHC II-Expression im Rahmen des Wandels vom B-Lymphozyten zur Plasmazelle sistiert. Auf der anderen Seite zeigen einige Studien MHC II-Moleküle in humanen Mastzellen, die wiederum bei Hund und Katze nicht detektiert werden konnten. Eine MHC II-Expression auf Keratinozyten scheint beim Menschen sowie bei Hunden und Katzen im Zusammenhang mit lymphozytären Entzündungen aufzutreten. Ein direkter Vergleich dieser Entzündungen scheint auf Grund der Unterschiede in den auftretenden Entitäten nicht gewinnbringend zu sein.

Letztendlich zeigt die vorliegende Untersuchung einen deutlichen Zusammenhang zwischen Hautentzündungen bei Hunden und Katzen und der MHC II-Expression in der Haut. Offensichtlich scheinen dabei Entzündungen, die im Rahmen einer Th1-Immunantwort entstehen, stärker mit einer gesteigerten MHC II-Expression zu reagieren als andere Entzündungen. Dies lässt sich an Hand der MHC II-Expression auf Keratinozyten am deutlichsten zeigen. Zusätzlich scheinen die MHC II-positiven Keratinozyten auch den Wirkungsort der produzierten Zytokine widerzuspiegeln.

Eine der anfänglichen Fragestellungen dieser Arbeit ging von der Einsetzbarkeit des MHC II-Nachweises als zusätzlichen diagnostischen Parameter aus. Betrachtet man die Einzigartigkeit eines bestimmten MHC II-Expressionsmusters, so fällt auf, dass ein Muster nicht einer bestimmten Ätiologie zugeordnet werden kann, sondern lediglich einem bestimmten Entzündungsmuster. Einen Einsatz in der Diagnostik zur Unterscheidung, ob eine Dermatitis durch Faktor A oder Faktor B hervorgerufen wurde, ist daher sicher nicht möglich. Auf der anderen Seite spiegelt insbesondere die MHC II-Expression auf Keratinozyten das Zytokinmuster und den Wirkungsort der Zytokine wider. Deshalb wäre der Einsatz des MHC II-Nachweises eine denkbare zusätzliche Möglichkeit, um den Effekt einer Entzündung abzuschätzen.

6 Zusammenfassung / Summary

6.1 Zusammenfassung

1. Ziel dieser Arbeit war es, eine Methode zu etablieren, die eine genauere Charakterisierung und Differenzierung von Dermatitis von Hunden und Katzen ermöglicht, um neue Erkenntnisse über den Zusammenhang von verschiedenen Hautentzündungen, deren Pathogenese und deren Ursachen zu erhalten. Weiterhin sollte ein Vergleich der Ergebnisse mit jenen der Humanmedizin erfolgen, um speziesspezifische Unterschiede zu dokumentieren.

Da die MHC II-Antigene eine zentrale Rolle in der Immunantwort spielen und ihre Expression als ein wesentlicher Indikator für das Vorhandensein von bestimmten Entzündungstypen betrachtet werden kann, scheinen sie besonders geeignet zur Etablierung eines erweiterten Untersuchungsverfahrens.

2. Die Literaturübersicht erläutert den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) unter besonderer Berücksichtigung der MHC II-Antigene und der Mechanismen der Antigenpräsentation. Im Weiteren werden die Besonderheiten des MHC bei Hunden und Katzen sowie die einzelnen Komponenten des Immunsystems der Haut unter besonderer Berücksichtigung der MHC II-Moleküle dargestellt. Schließlich gibt das erste Kapitel einen Überblick über den Stand der Forschung bezüglich der MHC II-Expression bei Dermatitis von Menschen, Hunden und Katzen.

3. Die eigenen Untersuchungen erfolgten überwiegend an Hautbiopsien von insgesamt 169 Hunden und 94 Katzen aus der Routinediagnostik des Institutes für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen aus den Jahren 2003 bis 2006. Die histopathologische Untersuchung zur Charakterisierung der Entzündung erfolgte immer an HE-gefärbten sowie an Perjodsäure-Schiff (PAS) gefärbten Schnitten. Die histopathologische Beurteilung und Einordnung der Biopsien in Gruppen erfolgte nach der „pattern analysis“.

Der Nachweis von MHC II-Molekülen geschah mittels immunhistologischer Methoden.

4. Die immunhistologische Untersuchung der Hautbiopsien bei Hunden und Katzen ergab in allen Fällen eine MHC II-Expression auf den Langerhans Zellen der Epidermis, auf dermalen

dendritischen Zellen, Makrophagen und Lymphozyten. Die Plasmazellen zeigten in vielen, jedoch nicht in allen Biopsien eine positive Markierung. Ein Zusammenhang zwischen der MHC II-Expression auf Plasmazellen und einer bestimmten Hautveränderung ließ sich nicht feststellen.

Neben den Zellen des Immunsystems wiesen auch Keratinozyten und Endothelzellen in verschiedenen Fällen eine MHC II-Expression auf. Ein auffälliges Merkmal bezüglich der MHC II-Expression auf Keratinozyten war, dass entweder epidermale und follikuläre Epithelzellen positiv reagierten (insbesondere bei Vorliegen einer Interface Dermatitis), oder ausschließlich epidermale Keratinozyten (bei verschiedenen Entzündungen, in welche die Epidermis einbezogen war) oder follikuläre Keratinozyten (vor allem im Falle von Follikulitiden bei Hunden und Katzen und eosinophilen Granulomen bei Katzen) eine Expression zeigten. Bei den Follikulitiden, welche durch eine MHC II-Expression auf follikulären Keratinozyten auffielen, handelte es sich vor allem um Interface Follikulitiden, denen ursächlich eine Infektion mit Demodexmilben oder Dermatophyten zugrunde lag.

Endothelzellen waren in zahlreichen Hautproben mit verschiedenen Entzündungen und teilweise auch in Proben der Kontrolltruppe markiert. Dabei wurde MHC II auf Endothelzellen von Venen und Arterien, in verschiedenen Gefäßplexus sowie auf aktivierten und nicht aktivierten Zellen beobachtet.

5. In Biopsien der Katze erfolgte der Nachweis von MHC II-Molekülen mit zwei verschiedenen Antikörpern, einem katzenspezifischen und einem kreuzreagierenden gegen humane MHC II-Moleküle. Mit dem kreuzreagierenden Antikörper konnte in allen Biopsien MHC II detektiert werden, während dies mit dem katzenspezifischen Antikörper in einigen Fällen nicht möglich war.

6. MHC II-positive Keratinozyten konnten insbesondere in Biopsien mit lymphozytenreichen Entzündungen nachgewiesen werden. Dabei handelte es sich zum großen Teil um Interface Dermatitis und murale Interface Follikulitiden. Da Interferon γ (IFN γ) die MHC II-Expression in verschiedenen Zellen steigert, kann vermutet werden, dass die infiltrierenden Lymphozyten IFN γ produzieren und so die MHC II-Expression auf Keratinozyten bedingen. Möglicherweise kann die MHC II-Expression auf Keratinozyten zur Aufrechterhaltung einer solchen Entzündung beitragen.

6.2 Summary

1. The purpose of this study was to establish a method to improve characterization and differentiation of dermatitides in dogs and cats. It was the aim to get new knowledge about the relation between different dermatitides, pathogeneses and etiologies of skin inflammation. In addition, it was attempted to compare the results with data from human medicine in order to estimate varieties between different species.

MHC class II molecules play a crucial roll in many immune responses. Therefore, this demonstration may be helpfull for the establishment of diagnostic improvement.

2. The literature review deals with the present knowledge concerning the major histocompatibility complex (MHC), specifically the MHC class II antigens. Furthermore, the particularities of MHC class II antigens in dogs and cats and an overview on the components of the skin immune system in consideration of MHC class II molecules is presented. Moreover, the current state of knowledge regarding MHC class II expression in dermatitides in humans as well as in dogs and cats is described.

3. Investigations were performed mostly on 169 skin biopsies from dogs and 94 skin biopsies from cats collected from the routine diagnostic material of the Institut für Veterinär-Pathologie, Justus-Liebig-Universität Giessen, Giessen, Germany, between 2003 and 2006. Histopathological examination was performed on HE-stained and PAS-stained sections. On the basis of pattern analysis, skin biopsies were classified in different types of inflammation. Detection of MHC class II antigens was performed with immunohistochemical techniques.

4. The immunohistochemical assessment of MHC class II expression revealed MHC class II proteins on different cell types of infiltrating inflammatory cells, i.e. APCs (antigen-presenting cells), macrophages, T lymphocytes and B lymphocytes. The plasma cells, however, did not show expression in each case.

Furthermore, in numerous samples MHC class II positive keratinocytes and endothelial cells were found. Concerning MHC class II expression by keratinocytes, either an expression by epidermal and follicular keratinocytes (mainly in interface dermatitis), or by epidermal keratinocytes alone (dermatitides with epidermal involvement), or by follicular keratinocytes alone (folliculitis in dogs and cats and eosinophilic granuloma in cats) occurred. Especially biopsies with interface folliculitis due to infection with *Demodex* mites or dermatophytes showed MHC class II positive follicular keratinocytes.

MHC class II positive endothelial cells were found in numerous biopsies with inflammation in which different vascular plexuses as well as arteries and veins, either with activated or with non activated endothelial cells, were positive.

5. In feline biopsies, the detection of MHC class II molecules was performed with two different antibodies, an antibody specific for feline MHC class II and a cross reacting antibody against the human MHC class II. The cross reacting antibody revealed a signal in every sample, whereas detection with the species specific antibody showed a positive result in most but not in all samples.

6. MHC class II positive keratinocytes were particularly observed in biopsies with lymphocytic inflammation. These inflammations belonged mainly to the groups of interface dermatitis and mural interface folliculitis. Since it is known that MHC class II expression increases due to the influence of Interferon γ (IFN γ), it is hypothesized that lymphocytes which infiltrate epidermis or hair follicles secrete IFN γ . This in turn may induce MHC class II expression by keratinocytes. We hypothesize that this is in association with the development and the maintenance of such inflammations.

7 Literaturverzeichnis

- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005a. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 69-70.
- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005b. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 80.
- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005c. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 86-87.
- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005d. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 94.
- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005e. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 268-269.
- Abbas, A.K. und Lichtmann, A.H. 2005f. Cellular and Molecular Immunology. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, S. 305-306.
- Affolter, V.K. und Moore, P.F. 2000. Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells. Am. J. Dermatopathol. 22, 40-48.
- Albanesi, C., Cavani, A., Girolomoni, G., 1998. Interferon-gamma-stimulated human keratinocytes express the genes necessary for the production of peptide-loaded MHC class II molecules. J. Invest. Dermatol. 110, 138-142.

- Alldinger, S., Wünschmann, A., Baumgärtner, W., Voss, C., Kremmer, E., 1996. Up-regulation of major histocompatibility complex class II antigen expression in the central nervous system of dogs with spontaneous canine distemper virus encephalitis. *Acta Neuropathol. (Berl)* 92, 273-280.
- Auböck, J., Romani, N., Grubauer, G., Fritsch, P., 1986. HLA-DR expression on keratinocytes is a common feature of diseased skin. *Br. J. Dermatol.* 114, 465-472.
- Bach, F.H. und van Rood, J.J., 1976. The major histocompatibility complex – genetics and biology. (First of three parts). *N. Engl. J. Med.* 295, 806-813.
- Bal, V., McIndoe, A., Denton, G., Hudson, D., Lombardi, G., Lamb, J., Lechler, R., 1990. Antigen presentation by keratinocytes induces tolerance in human T cells. *Eur. J. Immunol.* 20, 1893-1897.
- Banerjee, G., Damodaran, A., Devi, N., Dharmalingam, K., Raman, G., 2004. Role of keratinocytes in antigen presentation and polarization of human T lymphocytes. *Scand. J. Immunol.* 59, 385-394.
- Bardagi, M., Fondati, A., Fondevila, D., Ferrer, L., 2003. Ultrastructural study of cutaneous lesions in feline eosinophilic granuloma complex. *Vet. Dermatol.* 14, 297-303.
- Barker, J.N., Ophir, J., Macdonald, D.M., 1988a. Products of class II major histocompatibility complex gene subregions are differentially expressed on keratinocytes in cutaneous diseases. *J. Am. Acad. Dermatol.* 19, 667-672.
- Barker, J.N.W.N., Navsaria, H.A., Leigh, I.M., Macdonald, D.M., 1988b. Gamma-interferon induced human keratinocyte HLA-DR synthesis: the role of dermal activated T-lymphocytes. *Br. J. Dermatol.* 119, 385-394.
- Beebe, A.M., Dua, N., Faith, T.G., Moore, P.F., Pedersen, N.C., Dandekar, S., 1994. Primary stage of feline immunodeficiency virus infection: viral dissemination and cellular targets. *J. Virol.* 68, 3080-3091.
- Benacerraf, B. and McDevitt, H.O., 1972. Histocompatibility-linked immune response genes. *Science* 175, 273-279.

-
- Biedermann, T., Kneilling, M., Mailhammer, R., Maier, K., Sander, C.A., Kollias, G., Kunkel, S.L., Hultner, L., Rocken, M., 2000. Mast cells control neutrophil recruitment during T cell-mediated delayed-type hypersensitivity reactions through tumor necrosis factor and macrophage inflammatory protein 2. *J. Exp. Med.* 192, 1441-1452.
- Birbeck, M.S., 1961. An electron microscopic study of basal melanocytes and high level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J. Invest. Dermatol.* 37, 51-64.
- Bleier, T. Untersuchungen zu Einteilung und Pathogenese des felinen Fibrosarkoms. 2003. *Vet.med.Diss.*, Giessen.
- Bos, J.D., Zonneveld, I., Das, P.K., Krieg, S.R., van der Loos, C.M., Kapsenberg, M.L., 1987. The skin immune system (SIS): distribution and immunophenotype of lymphocyte subpopulations in normal human skin. *J. Invest. Dermatol.* 88, 569-573.
- Bos, J.D., 2005. Skin Immune System (SIS). In: Bos, J.D., (Ed.), *Skin immune system - Cutaneous immunology and clinical immunodermatology*, CRC Press, New York, Washington D.C., S. 3-12.
- Bos, J.D., de Rie, M.A., 2005. Lupus Erythematosus. In: Bos, J.D., (Ed.), *Skin Immune System – Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology*, CRC Press, New York, Washington D.C., S. 545-551.
- Brandtzaeg, P., Dale, I., Gabrielsen, T.O., 1992. The leucocyte protein L1 (calprotectin): usefulness as an immunohistochemical marker antigen and putative biological function. *Histopathology* 21, 191-196.
- Braverman, I.M., Keh-Yen, A., 1981. Ultrastructure of the human dermal microcirculation. III. The vessels in the mid- and lower dermis and subcutaneous fat. *J. Invest. Dermatol.* 77, 297-304.
- Burns, R., Luzina, I., Nasir, A., Haidaris, C.G., Barth, R.K., Gaspari, A.A., 2005. Keratinocyte-derived, CD80-mediated costimulation is associated with hapten-specific IgE production during contact hypersensitivity to TH1 haptens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115, 383-390.
- Callahan, G.N., Ferrone, S., Allison, J.P., Reisfeld, R.A., 1975. Detection of H-2 antigens in serum. *Transplantation* 20, 431-433.
- Carter, W.J., Crispin, S.M., Gould, D.J., Day, M.J., 2005. An immunohistochemical study of uveodermatologic syndrome in two Japanese Akita dogs. *Vet. Ophthalmol.* 8, 17-24.

- Caswell, J.L., Yager, J.A., Ferrer, L., Weir, M.A.M., 1995. Canine Demodicosis: A Re-examination of the histopathologic lesions and description of the immunophenotype of infiltrating cells.
Vet. Dermatol. 6, 9-18.
- Chapman, H.A., 2006. Endosomal proteases in antigen presentation.
Curr. Opin. Immunol. 18, 78-84.
- Chen, H., Gilbert, C.A., Hudson, J.A., Bolick, S.C., Wright, K.L., Piskurich, J.F., 2007. Positive regulatory domain I-binding factor 1 mediates repression of the MHC class II transactivator (CIITA) type IV promoter.
Mol. Immunol. 44, 1461-1470.
- Chu, A., Morris, J.J., 2005. The Keratinocyte. In: Bos, J.D., (Ed.), *Skin Immune System*, CRC Press, New York, Washington D.C., S. 77-93.
- Cines, D.B., Pollak, E.S., Buck, C.A., Loscalzo, J., Zimmerman, G.A., McEver, R.P., Pober, J.S., Wick, T.M., Konkle, B.A., Schwartz, B.S., Barnathan, E.S., McCrae, K.R., Hug, B.A., Schmidt, A.M., Stern, D.M., 1998. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders.
Blood 91, 3527-3561.
- Cobbold, S. und Metcalfe, S., 1994. Monoclonal antibodies that define canine homologues of human CD antigens: summary of the First International Canine Leukocyte Antigen Workshop (CLAW).
Tissue Antigens 43, 137-154.
- Coffman, R.L. und Weissman, I.L., 1981. B220: a B cell-specific member of the T200 glycoprotein family.
Nature 289, 681-683.
- Collins, T., Korman, A.J., Wake, C.T., Boss, J.M., Kappes, D.J., Fiers, W., Ault, K.A., Gimbrone, M.A., Jr., Strominger, J.L., Pober, J.S., 1984. Immune interferon activates multiple class II major histocompatibility complex genes and the associated invariant chain gene in human endothelial cells and dermal fibroblasts.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 4917-4921.
- Cresswell, P., 1996. Invariant chain structure and MHC class II function.
Cell 84, 505-507.
- Dale, I., Fagerhol, M.K., Naesgaard, I., 1983. Purification and partial characterization of a highly immunogenic human leukocyte protein, the L1 antigen.
Eur. J. Biochem. 134, 1-6.

-
- Day, M.J., 1996. Expression of major histocompatibility complex class II molecules by dermal inflammatory cells, epidermal Langerhans cells and keratinocytes in canine dermatological disease.
J. Comp. Pathol. 115, 317-326.
- Day, M.J., 1997. An immunohistochemical study of the lesions of demodicosis in the dog.
J. Comp Pathol. 116, 203-216.
- Day, M.J., 1998. Immunohistochemical characterization of the lesions of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis.
J. Comp. Pathol. 119, 135-147.
- de Bueger, M., Bakker, A., Goulmy, E., 1993. Human keratinocytes activate primed major and minor histocompatibility antigen specific Th cells in vitro.
Transpl. Immunol. 1, 52-59.
- Denzin, L.K. und Cresswell, P., 1995. HLA-DM induces CLIP dissociation from MHC class II alpha beta dimers and facilitates peptide loading.
Cell 82, 155-165.
- Dong, H., Zhu, G., Tamada, K., Chen, L., 1999. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion.
Nat. Med. 5, 1365-1369.
- Doveren, R.F., Buurman, W.A., Schutte, B., Groenewegen, G., van der Linden, C.J., 1985. Class II antigens on canine T lymphocytes.
Tissue Antigens 25, 255-265.
- Doveren, R.F., van der Linden, C.J., Spronken, E.E., Groenewegen, G., Buurman, W.A., 1986. Canine MHC-class II antigens on B and T lymphocytes.
Tissue Antigens 27, 87-98.
- Drijkoningen, M., Wolf-Peeters, C., Degreef, H., Desmet, V., 1988. Epidermal Langerhans cells, dermal dendritic cells, and keratinocytes in viral lesions of skin and mucous membranes: an immunohistochemical study.
Arch. Dermatol. Res. 280, 220-227.
- Elwood, C.M., Hamblin, A.S., Batt, R.M., 1997. Quantitative and qualitative immunohistochemistry of T cell subsets and MHC class II expression in the canine small intestine.
Vet. Immunol. Immunopathol. 58, 195-207.
- Epperson, D.E. und Pober, J.S., 1994. Antigen-presenting function of human endothelial cells. Direct activation of resting CD8 T cells.
J. Immunol. 153, 5402-5412.

- Ferrone, S., Allison, J.P., Pellegrino, M.A., 1978. Human DR (Ia-like) antigens: biological and molecular profile. *Contemp. Top. Mol. Immunol.* 7, 239-281.
- Fleming, T.E., Mirando, W.S., Trefzer, U., Tubesing, K.A., Elmetts, C.A., 1993. In situ expression of a B7-like adhesion molecule on keratinocytes from human epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 101, 754-758.
- Fondati, A., Fondevila, D., Ferrer, L., 2001. Histopathological study of feline eosinophilic dermatoses. *Vet. Dermatol.* 12, 333-338.
- Fondevila, D., Vilafranca, M., Ferrer, L., 1997. Epidermal immunocompetence in canine leishmaniasis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 56, 319-327.
- Foster, C.A., Yokozeki, H., Rappersberger, K., Koning, F., Volc-Platzer, B., Rieger, A., Coligan, J.E., Wolff, K., Stingl, G., 1990. Human epidermal T cells predominantly belong to the lineage expressing alpha/beta T cell receptor. *J. Exp. Med.* 171, 997-1013.
- Galli, S.J., 1993. New concepts about the mast cell. *N. Engl. J. Med.* 328, 257-265.
- Gaspari, A.A., Jenkins, M.K., Katz, S.I., 1988. Class II MHC-bearing keratinocytes induce antigen-specific unresponsiveness in hapten-specific Th1 clones. *J. Immunol.* 141, 2216-2220.
- Gaspari, A.A. und Katz, S.I., 1988. Induction and functional characterization of class II MHC (Ia) antigens on murine keratinocytes. *J. Immunol.* 140, 2956-2963.
- Gawkrodger, D.J., Carr, M.M., McVittie, E., Guy, K., Hunter, J.A., 1987. Keratinocyte expression of MHC class II antigens in allergic sensitization and challenge reactions and in irritant contact dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 88, 11-16.
- Geppert, T.D. und Lipsky, P.E., 1985. Antigen presentation by interferon-gamma-treated endothelial cells and fibroblasts: differential ability to function as antigen-presenting cells despite comparable Ia expression. *J. Immunol.* 135, 3750-3762.
- Ghosh, N., Gyory, I., Wright, G., Wood, J., Wright, K.L., 2001. Positive regulatory domain I binding factor 1 silences class II transactivator expression in multiple myeloma cells. *J. Biol. Chem.* 276, 15264-15268.

-
- Giles, R.C. und Capra, J.D., 1985. Structure, function, and genetics of human class II molecules.
Adv. Immunol. 37, 1-71.
- Girolomoni, G., Zambruno, G., Manfredini, R., Zacchi, V., Ferrari, S., Cossarizza, A., Gianetti, A., 1994. Expression of B7 costimulatory molecule in cultured human epidermal Langerhans cells is regulated at the mRNA level.
J. Invest. Dermatol. 103, 54-59.
- Gomes-Keller, M.A., Nunez, R., Schroff, M., Oswald, D., Willett, B.J., Lutz, H., 2002. Up-regulation by feline interleukin-4 and down-regulation by feline interferon-gamma of major histocompatibility complex class II on cat B-lymphocytes.
Vet. Immunol. Immunopathol. 88, 197-208.
- Gorer, P.A., 1938. The antigenic basis of tumour transplantation.
J. Pathol. Bacteriol. 47, 231-252.
- Griffiths, C.E., Voorhees, J.J., Nickoloff, B.J., 1989a. Characterization of intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor.
J. Am. Acad. Dermatol. 20, 617-629.
- Griffiths, C.E., Voorhees, J.J., Nickoloff, B.J., 1989b. Gamma interferon induces different keratinocyte cellular patterns of expression of HLA-DR and DQ and intercellular adhesion molecule-I (ICAM-I) antigens.
Br. J. Dermatol. 120, 1-8.
- Groenewegen, G., Buurman, W.A., van der Linden, C.J., 1985. Lymphokine dependence of in vivo expression of MHC class II antigens by endothelium.
Nature 316, 361-363.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J., 1992. The skin biopsy.
In: Reinhardt, R.W., (Ed.), Veterinary dermatopathology. A macroscopic and microscopic evaluation of canine and feline skin disease, Mosby Year Book, St. Louis, Missouri, S. 3-7.
- Gross, T.L., Ihrke, P.J., Walder, E.J., Affolter, V.K., 2005. Skin diseases of the dog and cat. Second Ed. Blackwell Publishing, New York, S. 464.
- Harrus, S., Waner, T., Friedmann-Morvinski, D., Fishman, Z., Bark, H., Harmelin, A., 2003. Down-regulation of MHC class II receptors of DH82 cells, following infection with *Ehrlichia canis*.
Vet. Immunol. Immunopathol. 96, 239-243.
- Hayday, A. und Tigelaar, R., 2003. Immunoregulation in the tissues by gammadelta T cells.
Nat. Rev. Immunol. 3, 233-242.

- Hed, J. und Enestrom, S., 1981. Detection of immune deposits in glomeruli: the masking effect on antigenicity of formalin in the presence of proteins.
J. Immunol. Methods 41, 57-62.
- Higgins, J.C. und Eady, R.A., 1981. Human dermal microvasculature: I. Its segmental differentiation. Light and electron microscopic study.
Br. J. Dermatol. 104, 117-129.
- Hirschberger, J. 1987. Herstellung und Charakterisierung monoklonaler Antikörper gegen T-Lymphozyten des Huhnes. Vet.med.Diss., Gießen.
- Homey, B., Alenius, H., Muller, A., Soto, H., Bowman, E.P., Yuan, W., McEvoy, L., Lauerma, A.I., Assmann, T., Bunemann, E., Lehto, M., Wolff, H., Yen, D., Marxhausen, H., To, W., Sedgwick, J., Ruzicka, T., Lehmann, P., Zlotnik, A.], 2002. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation.
Nat. Med. 8, 157-165.
- Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H., 1981. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures.
J. Histochem. Cytochem. 29, 577-580.
- Hughes, C.C., Savage, C.O., Poher, J.S., 1990. Endothelial cells augment T cell interleukin 2 production by a contact-dependent mechanism involving CD2/LFA-3 interaction.
J. Exp. Med. 171, 1453-1467.
- Hultberg, B.M. und Svanholm, H., 1989. Immunohistochemical differentiation between lymphangiographically verified lymphatic vessels and blood vessels.
Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol. 414, 209-215.
- Jones, M., Cordell, J.L., Beyers, A.D., Tse, A.G., Mason, D.Y., 1993. Detection of T and B cells in many animal species using cross-reactive anti-peptide antibodies.
J. Immunol. 150, 5429-5435.
- Jubb, K. V. F., Kennedy, P. C., Palmer, N. Pathology of domestic animals. Fourth edition, Academic Press, Inc., San Diego, California. 1, 545-553. 1993.
- Kang, K., Kubin, M., Cooper, K.D., Lessin, S.R., Trinchieri, G., Rook, A.H., 1996. IL-12 synthesis by human Langerhans cells.
J. Immunol. 156, 1402-1407.
- Kaufman, J.F. und Strominger, J.L., 1979. Both chains of HLA-DR bind to the membrane with a penultimate hydrophobic region and the heavy chain is phosphorylated at its hydrophilic carboxyl terminus.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 6304-6308.

-
- Kennedy, L.J., Barnes, A., Short, A., Brown, J.J., Lester, S., Seddon, J., Fleeman, L., Francino, O., Brkljacic, M., Knyazev, S., Happ, G.M., Ollier, W.E., 2007a. Canine DLA diversity: 1. New alleles and haplotypes. *Tissue Antigens* 69 Suppl 1, 272-288.
- Kennedy, L.J., Barnes, A., Short, A., Brown, J.J., Seddon, J., Fleeman, L., Brkljacic, M., Happ, G.M., Catchpole, B., Ollier, W.E., 2007b. Canine DLA diversity: 3. Disease studies. *Tissue Antigens* 69 Suppl 1, 292-296.
- Kipar, A. 1994. Klassifizierung und Dignität der Rundzelltumoren der Haut und kutanen Schleimhaut des Hundes. *Vet.med.Diss.*, Gießen.
- Kipar, A., Bellmann, S., Kremendahl, J., Köhler, K., Reinacher, M., 1998. Cellular composition, coronavirus antigen expression and production of specific antibodies in lesions in feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 65, 243-257.
- Kipar, A. 2002. Zur Pathogenese der Felinen Infektiösen Peritonitis. *Habilitationsschrift*, Giessen. S. 160-161.
- Klareskog, L., Tjernlund, U., Forsum, U., Peterson, P.A., 1977. Epidermal Langerhans cells express Ia antigens. *Nature* 268, 248-250.
- Kleijmeer, M.J., Oorschot, V.M., Geuze, H.J., 1994. Human resident langerhans cells display a lysosomal compartment enriched in MHC class II. *J. Invest. Dermatol.* 103, 516-523.
- Klein, J. und Sato, A., 2000. The HLA system. First of two parts. *N. Engl. J. Med.* 343, 702-709.
- Kube, P., Audige, L., Kuther, K., Welle, M., 1998. Distribution, density and heterogeneity of canine mast cells and influence of fixation techniques. *Histochem. Cell Biol.* 110, 129-135.
- Lampert, I.A., Suitters, A.J., Chisholm, P.M., 1981. Expression of Ia antigen on epidermal keratinocytes in graft-versus-host disease. *Nature* 293, 149-150.
- Li, J., Farthing, P.M., Thornhill, M.H., 1996. Cytokine regulation of major histocompatibility complex antigen expression by human oral and skin keratinocytes. *Arch. Oral Biol.* 41, 533-538.

- Li, P., Gregg, J.L., Wang, N., Zhou, D., O'Donnell, P., Blum, J.S., Crotzer, V.L., 2005. Compartmentalization of class II antigen presentation: contribution of cytoplasmic and endosomal processing. *Immunol. Rev.* 207, 206-217.
- Linsley, P.S. und Ledbetter, J.A., 1993. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen. *Ann. Rev. Immunol.* 11, 191-212.
- Luder, C.G., Lang, C., Giraldo-Velasquez, M., Algner, M., Gerdes, J., Gross, U., 2003. *Toxoplasma gondii* inhibits MHC class II expression in neural antigen-presenting cells by down-regulating the class II transactivator CIITA. *J. Neuroimmunol.* 134, 12-24.
- Luger, T.A., Sztejn, M.B., Schmidt, J.A., Murphy, P., Grabner, G., Oppenheim, J.J., 1983. Properties of murine and human epidermal cell-derived thymocyte-activating factor. *Fed. Proc.* 42, 2772-2776.
- MacKay, P.A., Leibundgut-Landmann, S., Koch, N., Dunn, A.C., Reith, W., Jack, R.W., McLellan, A.D., 2006. Circulating, soluble forms of major histocompatibility complex antigens are not exosome-associated. *Eur. J. Immunol.* 36, 2875-2884.
- Madden, D.R., 1995. The three-dimensional structure of peptide-MHC complexes. *Ann. Rev. Immunol.* 13, 587-622.
- Marsella, R., Olivry, T., Maeda, S., 2006. Cellular and cytokine kinetics after epicutaneous allergen challenge (atopy patch testing) with house dust mites in high-IgE beagles. *Vet. Dermatol.* 17, 111-120.
- McGregor, J.M., Barker, J.N., Allen, M.H., Macdonald, D.M., 1991. Antigenic profile of human acrosyringium. *Br. J. Dermatol.* 125, 413-418.
- Messenger, A.G. und Bleehen, S.S., 1985. Expression of HLA-DR by anagen hair follicles in alopecia areata. *J. Invest. Dermatol.* 85, 569-572.
- Meunier, L., Gonzalez-Ramos, A., Cooper, K.D., 1993. Heterogeneous populations of class II MHC+ cells in human dermal cell suspensions. Identification of a small subset responsible for potent dermal antigen-presenting cell activity with features analogous to Langerhans cells. *J. Immunol.* 151, 4067-4080.

-
- Miller, M.A., Ramos, J.A., Kreeger, J.M., 1992. Cutaneous vascular neoplasia in 15 cats: clinical, morphologic, and immunohistochemical studies.
Vet. Pathol. 29, 329-336.
- Mommaas, A.M., Mulder, A.A., Out, C.J., Girolomoni, G., Koerten, H.K., Vermeer, B.J., Koning, F., 1995. Distribution of HLA class II molecules in epidermal Langerhans cells in situ.
Eur. J. Immunol. 25, 520-525.
- Monteith, C.E., Chelack, B.J., Davis, W.C., Haines, D.M., 1996. Identification of monoclonal antibodies for immunohistochemical staining of feline B lymphocytes in frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues.
Can. J. Vet. Res. 60, 193-198.
- Mori, M., Pimpinelli, N., Romagnoli, P., Bernacchi, E., Fabbri, P., Giannotti, B., 1994. Dendritic cells in cutaneous lupus erythematosus: a clue to the pathogenesis of lesions.
Histopathology 24, 311-321.
- Mozos, E., Perez, J., Day, M.J., Lucena, R., Ginel, P.J., 1999. Leishmaniosis and generalized demodicosis in three dogs: a clinicopathological and immunohistochemical study.
J. Comp. Pathol. 120, 257-268.
- Mueller, D.L., Jenkins, M.K., Schwartz, R.H., 1989. Clonal expansion versus functional clonal inactivation: a costimulatory signalling pathway determines the outcome of T cell antigen receptor occupancy.
Ann. Rev. Immunol. 7, 445-480.
- Muhlethaler-Mottet, A., Otten, L.A., Steimle, V., Mach, B., 1997. Expression of MHC class II molecules in different cellular and functional compartments is controlled by differential usage of multiple promoters of the transactivator CIITA.
EMBO J 16, 2851-2860.
- Muller, C., Ziegler, A., Muller, C., Hadam, M., Waller, H.D., Wernet, P., Muller, G., 1985. Divergent expression of HLA-DC/MB, -DR, and -SB region products on normal and pathological tissues as detected by monoclonal antibodies.
Immunobiology 169, 228-249.
- Murphy, G.F., Bhan, A.K., Sato, S., Harrist, T.J., Mihm, M.C., Jr., 1981. Characterization of Langerhans cells by the use of monoclonal antibodies.
Lab. Invest. 45, 465-468.
- Nakagawa, S., Koomen, C.W., Bos, J.D., Teunissen, M.B., 1999. Differential modulation of human epidermal Langerhans cell maturation by ultraviolet B radiation.
J. Immunol. 163, 5192-5200.

- Noli, C., Welle, M., Scarpella, F., Abramo, F., 2003. Quantitative analysis of tryptase- and chymase-containing mast cells in eosinophilic conditions of cats.
Vet. Pathol. 40, 219-221.
- Okamura, H., Tsutsi, H., Komatsu, T., Yutsudo, M., Hakura, A., Tanimoto, T., Torigoe, K., Okura, T., Nukada, Y., Hattori, K., 1995. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells.
Nature 378, 88-91.
- Olivry, T., Naydan, D.K., Moore, P.F., 1997. Characterization of the cutaneous inflammatory infiltrate in canine atopic dermatitis.
Am. J. Dermatopathol. 19, 477-486.
- Otsuki, Y., Kubo, H., Magari, S., 1990. Immunohistochemical differentiation between lymphatic vessels and blood vessels—use of anti-basement membrane antibodies and anti-factor VIII-related antigen.
Arch. Histol. Cytol. 53 Suppl, 95-105.
- Page, C., Rose, M., Yacoub, M., Pigott, R., 1992. Antigenic heterogeneity of vascular endothelium.
Am. J. Pathol. 141, 673-683.
- Page, C., Thompson, C., Yacoub, M., Rose, M., 1994. Human endothelial stimulation of allogeneic T cells via a CTLA-4 independent pathway.
Transpl. Immunol. 2, 342-347.
- Pai, R.K., Askew, D., Boom, W.H., Harding, C.V., 2002. Regulation of class II MHC expression in APCs: roles of types I, III, and IV class II transactivator.
J. Immunol. 169, 1326-1333.
- Papadogiannakis, E.I., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N., Vlemmas, J., Lekkas, S., Karameris, A., Fytianou, A., 2005. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*).
Vet. Immunol. Immunopathol. 104, 227-237.
- Parker, W.M. und Yager, J.A., 1997. Trichophyton dermatophytosis—a disease easily confused with pemphigus erythematosus.
Can. Vet. J. 38, 502-505.
- Pasyk, K.A., Cherry, G.W., Jakobczak, B.A., 2005. Endothelial Cells of Blood and Lymphatic Vessels. In: Bos, J.D., (Ed.), *Skin Immune System - Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology*, CRC Press, New York, Washington D.C., S. 211-223.

-
- Perez, J., Day, M.J., Martin, M.P., Gonzalez, S., Mozos, E., 1999. Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate associated with feline cutaneous squamous cell carcinomas and precancerous lesions (actinic keratosis).
Vet. Immunol. Immunopathol. 69, 33-46.
- Pober, J.S., Kluger, M.S., Schechner, J.S., 2001. Human endothelial cell presentation of antigen and the homing of memory/effector T cells to skin.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 941, 12-25.
- Pollack, M.S., Mastrota, F., Chin-Louie, J., Mooney, S., Hayes, A., 1982. Preliminary studies of the feline histocompatibility system.
Immunogenetics 16, 339-347.
- Preziosi, R., Sarli, G., Paltrinieri, M., 2004. Prognostic value of intratumoral vessel density in cutaneous mast cell tumors of the dog.
J. Comp. Pathol. 130, 143-151.
- Quinnell, R.J., Kennedy, L.J., Barnes, A., Courtenay, O., Dye, C., Garcez, L.M., Shaw, M.A., Carter, S.D., Thomson, W., Ollier, W.E., 2003. Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dog is associated with MHC class II polymorphism.
Immunogenetics 55, 23-28.
- Rabanal, R.M., Ferrer, L., Else, R.W., 1995. Immunohistochemical detection of canine leucocyte antigens by specific monoclonal antibodies in canine normal tissues.
Vet. Immunol. Immunopathol. 47, 13-23.
- Ramos-Vara, J.A., 2005. Technical aspects of immunohistochemistry.
Vet. Pathol. 42, 405-426.
- Reith, W., Leibundgut-Landmann, S., Waldburger, J.M., 2005. Regulation of MHC class II gene expression by the class II transactivator.
Nat. Rev. Immunol. 5, 793-806.
- Rideout, B.A., Moore, P.F., Pedersen, N.C., 1990. Distribution of MHC class II antigens in feline tissues and peripheral blood.
Tissue Antigens 36, 221-227.
- Riese, R.J., Wolf, P.R., Bromme, D., Natkin, L.R., Villadangos, J.A., Ploegh, H.L., Chapman, H.A., 1996. Essential role for cathepsin S in MHC class II-associated invariant chain processing and peptide loading.
Immunity. 4, 357-366.
- Roche, P.A., Teletski, C.L., Karp, D.R., Pinet, V., Bakke, O., Long, E.O., 1992. Stable surface expression of invariant chain prevents peptide presentation by HLA-DR.
EMBO J. 11, 2841-2847.

- Romani, N., Koide, S., Crowley, M., Witmer-Pack, M., Livingstone, A.M., Fathman, C.G., Inaba, K., Steinman, R.M., 1989a. Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells.
J. Exp. Med. 169, 1169-1178.
- Romani, N., Lenz, A., Glassel, H., Stossel, H., Stanzl, U., Majdic, O., Fritsch, P., Schuler, G., 1989b. Cultured human Langerhans cells resemble lymphoid dendritic cells in phenotype and function.
J. Invest. Dermatol. 93, 600-609.
- Roosje, P.J., Whitaker-Menezes, D., Goldschmidt, M.H., Moore, P.F., Willemse, T., Murphy, G.F., 1997. Feline atopic dermatitis. A model for Langerhans cell participation in disease pathogenesis.
Am. J. Pathol. 151, 927-932.
- Roosje, P.J., Thepen, T., Rutten, V.P., van den Brom, W.E., Bruijnzeel-Koomen, C.A., Willemse, T., 2004. Immunophenotyping of the cutaneous cellular infiltrate after atopy patch testing in cats with atopic dermatitis.
Vet. Immunol. Immunopathol. 101, 143-151.
- Rothenberg, E.V., 1994. Signaling mechanisms in thymocyte selection.
Curr. Opin. Immunol. 6, 257-265.
- Rudensky, A.Y., Preston-Hurlburt, P., Hong, S.C., Barlow, A., Janeway, C.A., Jr., 1991. Sequence analysis of peptides bound to MHC class II molecules.
Nature 353, 622-627.
- Schwartz, R.H., 1985. T-lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the major histocompatibility complex.
Ann. Rev. Immunol. 3, 237-261.
- Scott, D.W., Miller, M.A., Griffin, C.E., 2001a. 6th Ed. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, S. 26, 550-551.
- Scott, D.W., Miller, M.A., Griffin, C.E., 2001b. 6th Ed. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, S. 177-178.
- Scott, D.W., Miller, M.A., Griffin, C.E., 2001c. 6th Ed. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, S. 552.
- Scott, D.W., Miller, M.A., Griffin, C.E., 2001d. 6th Ed. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, S. 553-556.
- Sherman, M.A., Weber, D.A., Jensen, P.E., 1995. DM enhances peptide binding to class II MHC by release of invariant chain-derived peptide.
Immunity. 3, 197-205.

-
- Silver, J. und Ferrone, S., 1979. Structural polymorphism of human DR antigens.
Nature 279, 436-437.
- Simon, J.C., Dietrich, A., Mielke, V., Wuttig, C., Vanscheidt, W., Linsley, P.S., Schopf, E.,
Sterry, W., 1994. Expression of the B7/BB1 activation antigen and its ligand CD28 in
T-cell-mediated skin diseases.
J. Invest. Dermatol. 103, 539-543.
- Sloan, V.S., Cameron, P., Porter, G., Gammon, M., Amaya, M., Mellins, E., Zaller, D.M.,
1995. Mediation by HLA-DM of dissociation of peptides from HLA-DR.
Nature 375, 802-806.
- Smolle, J., 1985. HLA-DR-antigen bearing keratinocytes in various dermatologic disorders.
Acta Derm. Venereol. 65, 9-13.
- Sontheimer, R.D., Stastny, P., Nunez, G., 1986. HLA-D region antigen expression by human
epidermal Langerhans cells.
J. Invest. Dermatol. 87, 707-710.
- Springer, T.A., Kaufman, J.F., Siddoway, L.A., Mann, D.L., Strominger, J.L., 1977. Puri-
fication of HLA-linked B lymphocyte alloantigens in immunologically active form by
preparative sodium dodecyl sulfate-gel electrophoresis and studies on their subunit as-
sociation.
J. Biol. Chem. 252, 6201-6207.
- Steimle, V., Siegrist, C.A., Mottet, A., Lisowska-Grosppierre, B., Mach, B., 1994. Regulation
of MHC class II expression by interferon-gamma mediated by the transactivator gene
CIITA.
Science 265, 106-109.
- Stemmer, B.L., Arlian, L.G., Morgan, M.S., Rapp, C.M., Moore, P.F., 1996. Characteriza-
tion of antigen presenting cells and T-cells in progressing scabietic skin lesions.
Vet. Parasitol. 67, 247-258.
- Sternberger, L.A., Hardy, P.H., Jr., Cuculis, J.J., Meyer, H.G., 1970. The unlabeled anti-
body enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble
antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its
use in identification of spirochetes.
J. Histochem. Cytochem. 18, 315-333.
- Symington, F.W., Brady, W., Linsley, P.S., 1993. Expression and function of B7 on human
epidermal Langerhans cells.
J. Immunol. 150, 1286-1295.

- Terui, T., Aiba, S., Kato, T., Tanaka, T., Tagami, H., 1987. HLA-DR antigen expression on keratinocytes in highly inflamed parts of psoriatic lesions.
Br. J. Dermatol. 116, 87-93.
- Teunissen, M.B., Wormmeester, J., Krieg, S.R., Peters, P.J., Vogels, I.M., Kapsenberg, M.L., Bos, J.D., 1990. Human epidermal Langerhans cells undergo profound morphologic and phenotypical changes during in vitro culture.
J. Invest. Dermatol. 94, 166-173.
- Teunissen, M.B., 1992. Dynamic nature and function of epidermal Langerhans cells in vivo and in vitro: a review, with emphasis on human Langerhans cells.
Histochem. J. 24, 697-716.
- Teunissen, M.B., Rongen, H.A., Bos, J.D., 1994. Function of adhesion molecules lymphocyte function-associated antigen-3 and intercellular adhesion molecule-1 on human epidermal Langerhans cells in antigen-specific T cell activation.
J. Immunol. 152, 3400-3409.
- Teunissen, M.B., 2005. Langerhans Cells and Other Skin Dendritic Cells.
In: Bos, J.D., (Ed.), Skin Immune System - Cutaneous Immunology and Clinical Immunodermatology, CRC Press, New York, Washington D.C., S. 123-161.
- Tkaczyk, C., Villa, I., Peronet, R., David, B., Mecheri, S., 1999. FcepsilonRI-mediated antigen endocytosis turns interferon-gamma-treated mouse mast cells from inefficient into potent antigen-presenting cells.
Immunology 97, 333-340.
- Trinchieri, G., 1993. Interleukin-12 and its role in the generation of TH1 cells.
Immunol. Today 14, 335-338.
- Vilafranca, M., Wohlsein, P., Trautwein, G., 1995. Expression of class II major histocompatibility complex molecules in renal tubular epithelial cells of canine kidneys affected with tubulointerstitial nephritis.
Res. Vet. Sci. 59, 114-117.
- Vincent-Schneider, H., Thery, C., Mazzeo, D., Tenza, D., Raposo, G., Bonnerot, C., 2001. Secretory granules of mast cells accumulate mature and immature MHC class II molecules.
J. Cell. Sci. 114, 323-334.
- Volc-Platzer, B., Groh, V., Wolff, K., 1987. Differential expression of class II alloantigens by keratinocytes in disease.
J. Invest. Dermatol. 89, 64-68.
- von Bothmer, I.R.M., 2007. Herstellung eines monoklonalen Antikörpers gegen felines MHC II und dessen immunhistologische Anwendung. Vet.Med.Diss., Giessen.

-
- Vora, M., Yssel, H., de Vries, J.E., Karasek, M.A., 1994. Antigen presentation by human dermal microvascular endothelial cells. Immunoregulatory effect of IFN-gamma and IL-10.
J. Immunol. 152, 5734-5741.
- Wagner, C.R., Vetto, R.M., Burger, D.R., 1984. The mechanism of antigen presentation by endothelial cells.
Immunobiology 168, 453-469.
- Wagner, J.L., Sarmiento, U.M., Storb, R., 2002. Cellular, serological, and molecular polymorphism of the class I and class II loci of the canine Major Histocompatibility Complex.
Tissue Antigens 59, 205-210.
- Wakem, P., Burns, R.P., Jr., Ramirez, F., Zlotnick, D., Ferbel, B., Haidaris, C.G., Gaspari, A.A., 2000. Allergens and irritants transcriptionally upregulate CD80 gene expression in human keratinocytes.
J. Invest. Dermatol. 114, 1085-1092.
- Waly, N., Gruffydd-Jones, T.J., Stokes, C.R., Day, M.J., 2001. The distribution of leucocyte subsets in the small intestine of healthy cats.
J. Comp. Pathol. 124, 172-182.
- Watts, C., 2004. The exogenous pathway for antigen presentation on major histocompatibility complex class II and CD1 molecules.
Nat. Immunol. 5, 685-692.
- Winkler, C., Schultz, A., Cevario, S., O'Brien, S., 1989. Genetic characterization of FLA, the cat major histocompatibility complex.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 86, 943-947.
- Wolf, P.R. und Ploegh, H.L., 1995. How MHC class II molecules acquire peptide cargo: biosynthesis and trafficking through the endocytic pathway.
Ann. Rev. Cell Dev. Biol. 11, 267-306.
- Wood, G.S., Turner, R.R., Shiurba, R.A., Eng, L., Warnke, R.A., 1985. Human dendritic cells and macrophages. In situ immunophenotypic definition of subsets that exhibit specific morphologic and microenvironmental characteristics.
Am. J. Pathol. 119, 73-82.
- Yager, J.A. und Wilcock, B.P., 1988. Skin biopsy: Revelations and limitations.
Can. Vet. J. 29, 969-975.
- Yager, J.A. und Wilcock, B.P., 1994. Color Atlas and Text of Surgical Pathology of the Dog and Cat. Mosby, London, S. 85-105.

- Yuhki, N., Beck, T., Stephens, R.M., Nishigaki, Y., Newmann, K., O'Brien, S.J., 2003. Comparative genome organization of human, murine, and feline MHC class II region. *Genome Res.* 13, 1169-1179.
- Zinkernagel, R.M. und Doherty, P.C., 1974. Restriction of in vitro T cell-mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngeneic or semiallogeneic system. *Nature* 248, 701-702.
- Zinkernagel, R.M. und Doherty, P.C., 1975. H-2 compatability requirement for T-cell-mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus. Different cytotoxic T-cell specificities are associated with structures coded for in H-2K or H-2D. *J. Exp. Med.* 141, 1427-1436.

A Tabellen

Tabelle 11: Daten zum Signalement, der Biopsieentnahmestelle, der morphologischen und der ätiologischen Diagnose von Hautbiopsien des Hundes

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|--------------------------|-------|----|----------------------------------|--|--|
| T6029/03 | Labrador | 8 J | wk | Auge, Achselhöhle | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T6039/03 | Berner Sennenhund | 8 J | wk | kA | Oberflächliche perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Unklar |
| T6717/03 | Rauhaardackel | 8 J | m | Flanke | Atrophische Dermatose | Endokrinopathie, wahrsch. Hyperadrenokortizismus |
| T6751/03 | Altdeutscher Schäferhund | 9 J | m | Nase | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T6958/03 | Mix | 13 J | kA | kA | Ein zerstörter Follikel mit Entzündung | Unklar |
| T6977/03 | Shar Pei | 7 Mo | w | kA | Interface Follikulitis | Demodikose |
| T7093/03 | Dalmatiner | 8 J | mk | Ohren | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Atopie, Futtermittelallergie |
| T7137/03 | Berner Sennenhund-Mix | 5 J | mk | Rücken | Atrophische Dermatose | Endokrinopathie, wahrsch. Hyperadrenokortizismus |
| T7156/03 | Boxer | 5 J | wk | Achsel | Interface Dermatitis DD: hgr. Spongiose und „band-like“ Infiltrat | Unklar |
| T7170/03 | Labrador | kA | kA | Zwischen den Zehen | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Interdigitale Follikulitis |
| T7193/03 | Zwergschnauzer | 9 J | wk | Rücken, Flanke, Oberschenkel | Pustulöse Dermatitis | Impetigo |
| T7230/03 | Riesenschnauzer | 1 J | m | Pfote | Calcinosis circumscripta cutis | Unklar |
| T7266/03 | Mix | 1,5 J | w | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophiler Exocytose | Allergie |
| T7277/03 | Schäferhund-Mix | 6 J | w | Pfote | Diffuse plazmazelluläre Dermatitis, Verhornungsstörung | Unklar |
| T7298/03 | Deutscher Schäferhund | 12 Mo | m | Rute | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Schäferhund Pyodermie |
| T7308/03 | Golden Retriever | 4 J | w | Flanke | Pustulöse Dermatitis | Superficial spreading pyoderma |
| T7350/03 | Mix | 2 J | mk | Kopf | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T7378/03 | Beagle | 3 J | m | Nasenrücken | Unklar | Unklar |
| T7460/03 | Mix | 1,5 J | wk | Tarsalgelenk | Eitrige Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T7471/03 | Pudel | 3 J | w | Nacken | Unklar | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|--------------------------------|-------|----|----------------------------------|--|----------------------------------|
| T7509/03 | Golden Retriever | 4 J | m | Buggelenk | Verhornungsstörung | Golden Retriever Ichthyosis |
| T7545/03 | Deutscher Schäferhund | 5 J | w | AnaIregion | Diffuse pyogranulomatöse Dermatitis | Evtl. Pyodermie |
| T7561/03 | Mittelschnauzer | 10 J | w | Vorderbrust | Unklar | Unklar |
| T7589/03 | American Staffordshire Terrier | kA | kA | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T7592/03 | Deutscher Schäferhund | 4 J | w | Axel, Kniefalte | Follikulitis und Perifollikulitis | Schäferhund Pyodermie |
| T7624/03 | Mix | 2,5 J | w | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T7631/03 | Mix | 2 J | m | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Evtl. Atopie |
| T7632/03 | Deutscher Schäferhund | 10 Mo | m | Ellenbogen | Calcinosis circumscripta cutis | Unklar |
| T7705/03 | Yorkshire Terrier | 10 J | w | Oberschenkel | Perivaskuläre Dermatitis | Unklar |
| T7715/03 | Labrador | 6 Mo | w | Schnauze | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T7720/03 | Mix | 4 J | mk | Nase | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T7749/03 | Mix | 11 J | wk | Hinterpfote | Interface Dermatitis | Unklar |
| T7751/03 | Mix | 8 J | m | Hinterbein | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Evtl. bakterielle Follikulitis |
| T7767/03 | Jagdterrier | 6 Mo | w | Innenschenkel | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T7805/03 | Golden Retriever | 2,5 J | mk | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit fokaler Spongiose | Atopie |
| T7816/03 | Weimaraner | 6 J | m | kA | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T7824/03 | Mops | 3 J | w | Achsel, Vulva, Unterbauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T7825/03 | Terrier | 7 J | wk | Lefze | Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T7831/03 | Bodengo-Mix | 1 J | m | Rücken | Unklar | Unklar |
| T7867/03 | Boxer | 6 J | w | Oberschenkel | Luminale eitrig Follikulitis | Bakteriell bedingte Follikulitis |
| T7935/03 | Rauhaardackel | 4 J | m | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis | Allergie |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|--------------------------------|-------|----|----------------------------------|--|-----------------------|
| T7972/03 | West Highland White Terrier | 3 J | m | Rücken | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T84/04 | American Staffordshire Terrier | 9 J | w | verschiedene Hautregionen | Atrophische Dermatose | Evtl. Endokrinopathie |
| T190/04 | Hoverwart | 4 J | wk | Generalisiert | Unklar | Unklar |
| T195/04 | Dobermann-Mix | 5,5 J | w | Rücken | Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T271/04 | Dobermann | 6 J | wk | Thorax | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T300 /04 | Deutscher Schäferhund | 14 J | w | Oberschenkel | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T335/04 | Deutscher Schäferhund | 10 J | kA | Ellenbogen | Follikulitis und Furunkulose | Druckpunkt Komedon |
| T708/04 | Labrador-Dogge-Mix | 9 J | m | Ellenbogen | Follikulitis und Furunkulose | Druckpunkt Komedon |
| T720/04 | Husky-Mix | 10 J | wk | Hinterbein | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Malassezien |
| T808/04 | Mix | 8 J | m | Nase | Perivaskuläre Dermatitis | Unklar |
| T818/04 | Rottweiler | 10 J | m | Unterlid | Unklar | Unklar |
| T906/04 | Pit Bull Terrier | kA | wk | Karpalgelenk | Pustulöse Dermatitis | Pemphigus foliaceus |
| T934/04 | Briard | 2 J | w | Innenschenkel | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T944/04 | Deutscher Schäferhund | 4 J | w | Innenschenkel, Oberschenkel | Unklar | Unklar |
| T947/04 | Berner Sennenhund | 6 J | m | Analregion | Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T994/04 | American Staffordshire Terrier | kA | m | Gliedmaßen | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T1036/04 | West Highland White Terrier | kA | kA | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Evtl. Allergie |
| T1045/04 | Deutscher Schäferhund | 12 J | w | Zehe | Tiefe Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T1053/04 | Labrador | 2 J | m | Unterlippe | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|------------|------------------------|-------|----|----------------------------------|---|---|
| T1078/04 | Deutscher Schäferhund | 9 J | m | Auge | Perivaskuläre Dermatitis, eitrige Follikulitis | Unklar |
| T1099/04 | Hund | kA | kA | kA | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Leckdermatitis |
| T1153/04 | Golden Retriever | 2 J | mk | Achsel | Perivaskuläre Dermatitis mit Spongiose der Epidermis und eosinophiler Exozytose | Allergie |
| T1158/04 | Mix | 12 J | m | Brustwand | Pannikulitis | Rupturierte Follikelzyste |
| T1195/04 | Deutscher Schäferhund | 8 J | m | Zehe | Noduläre pyogranulomatöse Dermatitis | Unklar |
| T1246/04 | Husky | 5 J | w | Lefze | Perivaskuläre Dermatitis, eitrige Follikulitis | Pyodermie |
| T1313/04 | Belgischer Schäferhund | kA | kA | Karpalgelenk | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T1316/04 | Mix | kA | wk | kA | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T1485/04 | Bernhardiner | 4 J | m | Brustwand, Sitzbein | Perivaskuläre Dermatitis mit intrakornealen Pusteln | Allergie, sekundäre Pyodermie |
| T1501/04 | Dackel | 1 J | w | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1538/04 | Mix | 5 J | m | Hinterbein | Interface Dermatitis | Unklar |
| T1596/04-2 | Mix | kA | m | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1604/04 | Französische Bulldogge | 1 J | w | Nacken | Murale Follikulitis | Demodikose |
| T1608/04 | Labrador-Mix | 2 J | w | Pfote | Murale Follikulitis | Unklar |
| T1613/04 | Husky | 10 J | w | Innenschenkel | Oberflächliche nekrotisierende Dermatitis | Oberflächliche nekrotisierende Dermatitis |
| S1753/04 | Mix | 2,5 J | wk | Mukokutane Übergänge | Interface Dermatitis | Erythema multiforme |
| T1763/04 | Bernhardiner | 9 J | w | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|----------------------------------|-------|----|----------------------------------|--|---------------------------------|
| T1786/04 | Golden Retriever | 1 J | m | Brustwand | Verhornungsstörung | Golden Retriever Ichthyosis |
| T1807/04 | Collie-Deutscher Schäferhund-Mix | 9 J | wk | Vordergliedmaßen | Perivaskuläre Dermatitis mit Ulzeration und Krustenbildung | Pyodermie |
| T1830/04 | Deutscher Schäferhund | 10 J | w | kA | Pustulöse Dermatitis | Pyodermie |
| T1834/04 | Deutsch Drahthaar | 8 J | w | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis | Pyodermie |
| T1842/04 | Mix | 6 J | w | Achsel | Pannikulitis | Rupturierte Follikelzyste |
| T1881/04 | Mix | 2,6 J | w | Auge | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T1917/04 | Pudel | 10 J | w | Pfote | Diffuse lymphoplasmazelluläre Dermatitis | Plasmazelluläre Pododermatitis |
| T3128/04 | Kleiner Münsterländer | 6 Mo | m | Kopf, Bauch | Perivaskuläre Dermatitis | Währsch. bakteriell |
| T3989/04 | Boxer | 1 J | m | Rücken | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T4140/04 | Mix | 1 J | m | kA | Murale Follikulitis | Demodikose |
| T4278/04 | Münsterländer-Mix | kA | m | Kopf, Rücken, Flanke | Perifollikulitis | Demodikose |
| T4605/04 | Deutscher Schäferhund-Mix | kA | w | Innenschenkel, Nasenrücken | Eosinophile Follikulitis und Furunkulose | Insektenstich-hypersensitivität |
| T5112/04 | Hoverwart | kA | kA | Rücken, seitr. Brustwand | Atrophische Dermatose | Hypothyreose |
| T5560/04 | Hund | kA | m | Knie | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T5947/04 | Scottish Terrier | 1 J | w | Körperseite | Furunkulose | Demodikose |
| T6896/04 | Berner Sennenhund | 1,3 J | m | Nasenrücken | Follikulitis und Furunkulose; Vaskulitis | Unklar |
| T7423/04 | Malinois | 6 Mo | w | Auge | Furunkulose | Demodikose |
| T8435/04 | Husky | 10 J | w | Pfote | Pyogranulomatöse Perifollikulitis | Dermatophytose |
| T8512/04 | Beagle | 13 J | m | Stirn | Unklar | Unklar |
| T8523/04 | Hund | kA | m | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T8672/04 | Mix | 2 J | mk | Vordergliedmaßen | Atrophische Dermatose | Endokrinopathie |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-----------------------|-------|----|----------------------------------|--|--|
| T8698/04 | Windhund-Mix | 6 J | mk | Brustwand | Folikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T8772/04 | Cairn Terrier | kA | w | Rücken | Folikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T8814/04 | Golden Retriever | 8 Mo | w | Oberkiefer | Folikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T8959/04 | Berner Sennenhund | 1 J | w | Lefze | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T8989/04 | Bullmastiff | 5 J | m | Schulter | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Malassezien-verdächtige Gebilde |
| T9029/04 | Bull Terrier | 1 J | w | Pfote | Perifolikulitis | Demodikose |
| T7/05 | Deutscher Schäferhund | 10 J | m | Lefze, Rücken | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T204/05 | Berner Sennenhund | 7 J | mk | Auge | Folikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T205/05 | Zwergpudel | 8 J | mk | Kruppe | Farbverdünnungsalopezie | Unklar |
| T731/05 | Zwergpinscher | 2 J | m | Hals | Farbverdünnungsalopezie | Unklar |
| T1290/05 | Mix | 1 J | w | Schulter, Ohr | Furunkulose | Demodikose |
| T1291/05 | Deutscher Wachtelhund | 4 J | w | kA | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Malassezien |
| T1545/05 | Mix | kA | mk | kA | Perifolikulitis | Demodikose |
| T1551/05 | Magyar Vizsla | 1 J | m | Kopf, Schulter | Folikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T1561/05 | Yorkshire Terrier | 7 J | w | Innenschenkel, Rücken | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T1647/05 | Golden Retriever | 12 J | w | kA | Unklar | Unklar |
| T1665/05 | Golden Retriever | 9 J | mk | Rücken | Atrophische Dermatose | Endokrinopathie, wahrsch. Hyperadrenokortizismus |
| T1832/05 | Berner Sennenhund | 8 J | w | Stirn | Folikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T2041/05 | Deutscher Wachtelhund | 5 J | m | Flanke | Verhornungsstörung | Primäre Seborrhoe |
| T2255/05 | Dobermann | 3 J | m | Rücken | Folikulitis und Furunkulose | Evtl. nur sekundär |
| T3066/05 | Beagle | 4 J | w | Auge | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-----------------------------|-------|----|----------------------------------|---|---|
| T3296/05 | Hund | 10 Mo | w | kA | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T3441/05 | Hund | 1 J | m | Nasenrücken | Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T3824/05 | Französische Bulldogge | 1 J | m | Flanke | Follikulitis und Furunkulose, murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T4003/05 | Labrador-Mix | 12 J | m | Mund | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T4728/05 | West Highland White Terrier | 8 J | m | Oberlippe | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T4815/05 | Labrador Retriever | 9 Mo | m | Nase | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T4929/05 | Jack Russel Terrier | 9 J | w | Nacken | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T5161/05 | Kromfohrländer | 4 Mo | w | Leuze, Rute | Junghunde Pyodermie | Unklar |
| T5288/05 | Mops | 6 Mo | w | generalisiert | Perifollikulitis | Demodikose |
| T5867/05 | Boxer | 1,5 J | w | Rute | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Dermatophytose |
| T6496/05 | Hund | 1 J | m | Stirn | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T6731/05 | Beagle | 8 Mo | w | Innenschenkel, Halsunterseite | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T6884/05 | Mix | 11 J | m | Zehe | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T7311/05 | Berner Sennenhund | 7 J | mk | Ohren, Flanke | Atrophische Dermatose | Endokrinopathie, wahrsch. Hyperadrenokortizismus, sekundäre Pyodermie |
| T7721/05 | Hund | kA | kA | kA | Murale interface Follikulitis | Demodikose |
| T8083/05 | Mops | 2 J | m | Schulter, Brust, Knie | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T8095/05 | Cocker Spaniel | 1 J | m | Unterbauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Sarcopes Räude |
| T8108/05 | Yorkshire Terrier | 4 J | w | kA | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| T8328/05 | Mix | 1 J | mk | Hals | Noduläre granulomatoöse Dermatitis | Leishmaniose |
| T8337/05 | Cocker Spaniel | 3 J | w | Kruppe | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Malassezien |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-----------------------|-------|----|----------------------------------|---|--|
| T8426/05 | Zwergpinscher | 9 Mo | mk | kA | Murale Follikulitis | Demodikose |
| T8484/05 | Golden Retriever | 6 J | m | Lid | Murale Follikulitis | Demodikose |
| T8585/05 | Golden Retriever | 9 J | m | Nacken, Hals, Kruppe | Pustulöse Dermatitis | Allergie |
| T8866/05 | Mix | 4 J | mk | Zehe | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T8882/05 | Mix | 10 J | mk | generalisiert | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T8974/05 | Boxer | 1 J | kA | Kopf | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T9157/05 | Shi Tzu | 2 J | m | Kopf, Pfote | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T9207/05 | Mix | 9 J | wk | Ohransatz | Noduläre Dermatitis mit zahlreichen eosinophilen Granulozyten | Eosinophiles Granulom |
| T45/06 | Wolfsspitz | 13 J | wk | Lefze, Nase | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T1335/06 | Dogo Argentino | 8 Mo | w | Rücken, Hals | Follikulitis und Furunkulose | Allergie, sekundäre Pyodermie |
| T1632/06 | Welsh Terrier | 1 J | wk | Schulter | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| T1650/06 | Mops | 9 Mo | kA | Rücken | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| T1651/06 | Hund | 4 J | mk | Nase | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T2034/06 | Deutscher Schäferhund | 8 J | kA | Rücken | Perifollikulitis | Demodikose |
| T2771/06 | Labrador Retriever | 9 Mo | w | Nasenrücken | Follikulitis und Furunkulose, murale Interface Follikulitis | Dermatophytose |
| T3720/06 | Mix | 10 J | mk | Nase, Flanke | Interface Dermatitis | Lupus erythematoses |
| T4263/06 | Hund | 10 Mo | kA | Nasenrücken, Lefze | Interface Dermatitis | Erythema multiforme; DD Lupus erythematoses |
| T4646/06 | Mix | 3 J | mk | Nasenrücken | Follikulitis und Furunkulose | Demodikose |
| T5967/06 | Hund | kA | kA | kA | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| A568/06 | Dobermann | 7 Mo | m | kA | Murale Interface Follikulitis, Perifollikulitis | Demodikose |

Fortsetzung Tabelle 11

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-----------------------------|-------|----|----------------------------------|--|-----------------------|
| I03/7095 | Hund | 2,5 J | wk | Kopf | Murale Interface Follikulitis, Furunkulose | Demodikose |
| S410/06 | West Highland White Terrier | kA | m | Kopf | Murale Interface Follikulitis | Demodikose |
| I03/5478 | Irish Setter | 2 J | m | Nase | Luminale Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/3439 | Hund | 1 J | w | Vorderpfote, Rücken | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/7154 | Pudel | kA | w | Kopf, Rücken | Follikulitis und Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/8197 | Welsh Terrier | kA | m | Kopf | Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/457 | Zwergschnauzer | 1 J | m | Vordergliedmaße | Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/1509 | Malteser | 1 J | m | Nacken | Murale Follikulitis, Furunkulose | Dermatophytose |
| I04/4332 | Jack Russel Terrier | 6 J | m | Rücken, Pfote, Flanke | Furunkulose | Dermatophytose |
| I05/2884 | Staffordshire Bull Terrier | 10 Wo | m | Gliedmaßen, Rücken | Murale eitrig Follikulitis | Dermatophytose |

DD: Differentialdiagnose; evtl.: eventuell; G: Geschlecht; J: Jahr; kA keine Angaben; m: männlich; mk: männlich kastriert;
 Mo: Monat; Tgb.-Nr.: Tagebuchnummer; w: weiblich; wk: weiblich kastriert.

Tabelle 12: Menge der LHZ in der Epidermis bei Hunden. Gruppenvergleich zwischen Hunden mit entzündlichen und nicht entzündlichen Hautveränderungen sowie der Kontrollgruppe

| Dermatopathie | LHZ | | | | Total | Arithmetischer Mittelwert |
|-----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | | |
| Dermatitiden | 4 | 45 | 92 | 11 | 152 | 2,72 |
| Nicht entzündl. Hautveränderungen | 4 | 6 | 2 | 0 | 12 | 1,83 |
| Kontrollgruppe | 8 | 2 | 0 | 0 | 10 | 1,20 |
| Total | 16 | 53 | 94 | 11 | 174 | |

LHZ: Langerhanssche Zellen

Tabelle 13: Menge der LHZ in der Epidermis bei Hunden. Vergleich zwischen den verschiedenen Dermatitis

| Dermatitiden | LHZ | | | | Mittlere Rangzahl |
|--|-----|----|-----|------|-------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | |
| Folikulitiden | 0 | 23 | 57 | 3 | 71,699 |
| IFD | 0 | 0 | 5 | 7 | 118,708 |
| PHD | 1 | 3 | 8 | 1 | 70,346 |
| PHD mit eosinophilen Granulozyten | 1 | 3 | 11 | 1 | 73,563 |
| Pustulöse Dermatitis | 0 | 2 | 4 | 0 | 66,167 |
| Noduläre/diffuse Dermatitis | 0 | 1 | 3 | 1 | 85,4 |
| Pannikulitis | 0 | 2 | 0 | 0 | n. a. |
| Nekrotisierende Dermatitis | 0 | 1 | 0 | 0 | n. a. |
| Atrophische Dermatosen | 1 | 4 | 2 | 0 | n. a. |
| Verhornungsstörungen | 1 | 1 | 1 | 0 | n. a. |
| Hautveränd. mit dermalen Ablagerungen | 0 | 1 | 1 | 0 | n. a. |
| Hautveränd. mit dysplastischen Haarfollikeln | 2 | 0 | 0 | 0 | n. a. |
| Unklare Fälle | 3 | 4 | 4 | 2 | 56,538 |
| Kontrollgruppe | 8 | 2 | 0 | 0 | n. a. |

IFD: Interface Dermatitis; LHZ: Langerhanssche Zellen; PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis

Tabelle 14: MHC II-Gesamtexpression beim Hund. Gruppenvergleich zwischen Hunden mit entzündlichen und nicht entzündlichen Hautveränderungen sowie der Kontrollgruppe

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression | | | | | Arithmetischer Mittelwert |
|-----------------------------------|-------------------------|----|-----|------|-------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | Total | |
| Dermatitiden | 4 | 45 | 73 | 35 | 157 | 2,98 |
| Nicht entzündl. Hautveränderungen | 8 | 3 | 0 | 0 | 12 | 1,50 |
| Kontrollgruppe | 8 | 2 | 0 | 0 | 10 | 1,20 |
| Total | 16 | 53 | 94 | 11 | 174 | |

Tabelle 15: Signalement, Pathologisch-anatomische Gesamtdiagnose und MHC II-Nachweis in der Haut von Kontrollhunden; zur Beurteilung der LHZ, siehe Kapitel 3.5.10.3.1

| Tgb.-Nr. | Rasse | Pathologisch-anatomische Diagnose | MHC II-Gesamtexpression | LHZ | Keratinozyten | Endothelzellen |
|----------|--|--|--|-----|---|--|
| S1230/04 | Beagle 3 J, w | Akutes Herzkreislaufversagen | Gesamt: ++ Dendritische Zellen, Lymphozyten | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: positiv |
| S1231/04 | Welpen w | Parovirose | Gesamt: ++ Dendritische Zellen, Lymphozyten, ein Adipozyt im Pannikulus | 2 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1240/04 | Springer Spaniel 10 Mo, m | Schrumpfnieren, Osteorenales Syndrom | Gesamt: + Dendritische Zellen, Lymphozyten | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: positiv |
| S1261/04 | Mix 1,5 J, mk | eitrig-nekrotisierende Entzündung von Leber, Niere und Lunge | Gesamt: (+) Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: positiv |
| S1467/04 | Jack Russel Terrier 3,5 Mo, w | Hypertrophe Kardiomyopathie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1536/04 | Rhodesian Ridgeback 3 Mo, m | Neosporose | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S128/05 | Golden Retriever 2 J, m | Hämangiosarkom | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S237/05 | West Highland White Terrier 11 J, mk | Hypertrophe Kardiomyopathie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 2 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S274/05 | Beagle 11 J, mk | Prostatitis, Nierenadenom | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1183/06 | Golden Retriever 5 J, w | Herzkreislaufversagen | Gesamt: + Dendritische Zellen, Lymphozyten | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |

J: Jahr; LHZ: Langhans Zellen; m/mk: männlich/männlich kastriert; Mo: Monate; Tgb.-Nr.: Tagebuchnummer; w/wk: weiblich/weiblich kastriert.

Tabelle 16: Daten zum Signalement, der Biopsieentnahmestelle, der morphologischen und der ätiologischen Diagnose von Hautbiopsien der Katze

| Tgh.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-------------|-------|----|----------------------------------|--|---|
| T5655/03 | Katze | 4 J | w | Ohrmuschel | Noduläre pyogranulomatöse Dermatitis ohne Spezifität | Unklar |
| T5889/03 | EKH | 10 J | mk | Kopf | Follikulitis / Furunkulose | Dermatophytose |
| T6082/03 | EKH | 9 J | kA | generalisiert am Rücken, Kopf | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T6117/03 | Katze | 3 J | m | Lippe, Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie, evtl. miliare feline Dermatitis |
| T6420/03 | EKH | 2 J | mk | Hals | Geringgradige perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Unklar |
| T6496/03 | EKH | 13 J | mk | kA | Follikulitis / Furunkulose | Unklar |
| T6520/03 | EKH | kA | kA | Hals | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T6745/03 | EKH | 6 J | mk | Tarsalgelenk | Follikulitis / Furunkulose | Unklar |
| T6826/03 | EKH | 3 J | mk | über dem Auge | Follikulitis / Furunkulose | Murale feline Follikulitis? |
| T7195/03 | EKH | kA | kA | Kopf, Rücken | Noduläre granulomatöse Dermatitis | Unklar |
| T7219/03 | EKH | 6 J | mk | Kopf | Noduläre granulomatöse bis pyogranulomatöse Pannikulitis | Unklar |
| T7255/03 | Perserkatze | 11 J | m | Lefze | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen interstitiellen Mastzellen | Unklar |
| T7280/03 | EKH | kA | w | Unterbauch | Noduläre granulomatös-nekrotisierende Pannikulitis | Unklar |
| T7310/03 | EKH | kA | m | Achsel | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T7320/03 | EKH | 6 Mo | mk | Hintergliedmaße | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T7435/03 | EKH | 14 J | wk | Lumbalbereich | Unklar | Unklar |
| T7457/03 | EKH | 11 J | mk | Kopf | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten, geringgradige Follikulitis | Allergie |
| T7548/03 | EKH | kA | m | Hals | Noduläre granulomatöse Dermatitis | Unklar |
| T7691/03 | EKH | 1 J | wk | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen interstitiellen Mastzellen | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 16

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|---------------|--------|----|----------------------------------|---|---------------------------------|
| T8323/03 | EKH | 9 J | mk | Zehe | Diffuse plasmazelluläre Dermatitis | Plasmazelluläre Pododermatitis |
| T8367/03 | EKH | 10 J | w | Nacken | Noduläre granulomatös-nekrotisierende Pannikulitis, Furunkulose | Fremdkörper? |
| T8485/03 | EKH | kA | kA | Kopf | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T136/04 | EKH | kA | kA | Hals | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T154/04 | EKH | 7 J | m | Kruppe, Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit lymphozytärer und eosinophiler Exozytose | Atopie? |
| T267/04 | Siamkatze | 9 J | w | Nacken, Ellenbogen, Thorax | Perivaskuläre Dermatitis mit einigen interstitiellen Mastzellen | Atopie? |
| T272/04 | EKH- Siam-Mix | 8 J | m | Rücken, Akne am Kinn | Noduläre nicht follicellosoziierte Dermatitis | Chronische Talgdrüsenentzündung |
| T718/04 | Perser-Mix | 12 J | mk | Augenwinkel | Unklar | |
| T721/04 | EKH | 5 J | wk | Kopf | Interface Dermatitis | Lupus erythematodes |
| T754/04 | Perser-Mix | 12 J | m | Schenkelbereich | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T863/04 | EKH | 9 J | w | kA | Perivaskuläre eitrige Dermatitis mit intraepithelialen Pusteln | Pyodermie |
| T878/04 | BKH | 13 J | m | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit wenigen interstitiellen Mastzellen | Unklar |
| T968/04 | Perserkatze | 9 J | mk | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis, eitrige Follikulitis | Unklar |
| T1061/04 | BKH | 6 J | wk | Kinn, Wange | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1206/04 | EKH | 4 J | wk | Zehe | Interface Dermatitis | Lupus erythematodes? |
| T1321/04 | EKH | 11,5 J | w | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen interstitiellen Mastzellen | Unklar |
| T1366/04 | EKH | kA | m | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen interstitiellen Mastzellen | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 16

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|-------------|--------|----|----------------------------------|--|--|
| T1488/04 | EKH | kA | mk | Kinn | Noduläre granulomatöse Dermatitis | Fremdkörper? |
| T1579/04 | EKH | kA | kA | Flanke | Noduläre pyogranulomatöse Pannikulitis | Unklar |
| T1597/04 | Katze | 14 J | m | Ballen | Diffuse plasmazelluläre Dermatitis | Plasmazelluläre, Pododermatitis |
| T1702/04 | EKH | 6 J | w | Schwanzansatz | Noduläre granulomatös-nekrotisierende Dermatitis | Unklar |
| T1752/04 | BKH | 2 J | w | Kopf | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T5799/04 | EKH | kA | kA | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit Spongiose und zahlreichen eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T5969/04 | EKH | 11 J | kA | kA | Murale Follikulitis | Unklar |
| T8222/04 | EKH | 7 J | w | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T8250/04 | Angorakatze | 6 J | mk | Nacken, Vordergliedmaße | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom, eosinophiler Plaque |
| T8477/04 | EKH | 8 J | mk | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit zahlreichen eosinophilen Granulozyten | Allergie, sekundäre Pyodermie |
| T8689/04 | EKH | 4 J | w | Vorderbrust | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T8786/04 | Katze | 10,5 J | kA | Bauch, Innenschenkel | Unklar | Unklar |
| T8825/04 | EKH | 12 Wo | w | Nasenspiegel | Diffuse eosinophile Dermatitis | Allergie, eosinophiler Plaque, sekundäre Pyodermie |
| T8854/04 | Birma | 6 J | mk | Zwischen den Zehen | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T206/05 | EKH | 6 J | wk | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie, sekundäre Pyodermie |
| T271/05 | Hauskatze | 5 J | wk | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten, Follikulitis | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 16

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|------------------|-------|----|----------------------------------|---|-----------------------|
| T464/05 | Kurzhaarperser | 4 J | mk | Rumpf | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T535/05 | EKH | kA | w | Nasenrücken | Eosinophile Follikulitis und Furunkulose | Unklar |
| T914/05 | EKH | 10 J | w | Bauch | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T918/05 | EKH | 9 J | w | Nasenspiegel | Diffuse eosinophile Dermatitis | Unklar |
| T1163/05 | EKH | 1 J | mk | Kniekehle | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T1289/05 | EKH | 1 J | m | Oberschenkel | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T1395/05 | EKH | 1 J | w | Bauch | Unklar | Unklar |
| T1460/05 | EKH | 5 Mo | m | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie? |
| T1508/05 | Perserkatze | 6,5 J | mk | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1510/05 | Katze | kA | kA | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit interstitiellen Mastzellen | Unklar |
| T1638/05 | EKH | 15 J | w | Nacken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1643/05 | EKH | 10 Mo | mk | Achsel | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T1716/05 | EKH | 8 J | w | Kinn | Noduläre pyogranulomatöse Dermatitis | Unklar |
| T1825/05 | EKH | 4 J | m | Halsunterseite | Unklar | Unklar |
| T1840/05 | EKH | 8,5 J | mk | kA | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Unklar |
| T1881/05 | EKH | 13 J | m | Zehen | Follikulitis / Furunkulose | Unklar |
| T1898/05 | Katze | 6 J | mk | kA | Perivaskuläre Dermatitis | Unklar |
| T1974/05 | Maine Coon Katze | 3 J | wk | Hals | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T1987/05 | EKH | 3 J | wk | Schwanzansatz | Unklar | Unklar |
| T2114/05 | EKH | 10 J | wk | Brust, Hals, Flanke | Perivaskuläre eitrige Dermatitis | Unklar |
| T2211/05 | EKH | 6 Mo | wk | Hals | Perivaskuläre Dermatitis mit interstitiellen Mastzellen | Unklar |

Fortsetzung Tabelle 16

| Tgb.-Nr. | Rasse | Alter | G | Lokalisation der Hautveränderung | Veränderungsmuster | Ätiologische Diagnose |
|----------|------------------|-------|----|------------------------------------|--|-----------------------|
| T6087/05 | EKH | 5 Mo | m | multiple Knoten am gesamten Körper | Noduläre granulomatös bis pyogranulomatöse Dermatitis | Histoplasmose |
| T207/06 | EKH | 5 Mo | w | kA | Bullöse Dermatopathie | Unklar |
| T618/06 | Katze | 15 J | wk | kA | Diffuse eosinophile Dermatitis | Eosinophiler Plaque |
| T659/06 | EKH | 9 J | wk | Hals, Ohr | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T852/06 | EKH | 6 J | mk | Nase | Noduläre granulomatös bis pyogranulomatöse Dermatitis | Pseudomyzotom |
| T976/06 | Hauskatze | 2,5 J | wk | Rücken | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T1201/06 | Katze | 3 J | mk | kA | Noduläre eosinophile Dermatitis | Eosinophiles Granulom |
| T1687/06 | EKH | 10 J | wk | Flanke | Perivaskuläre Dermatitis mit eosinophilen Granulozyten | Allergie |
| T4090/06 | Katze | 10 J | mk | Unterbauch | Noduläre granulomatös bis pyogranulomatöse Dermatitis | Dermatomykose |
| T4441/06 | Katze | 6 J | mk | Zehe | Noduläre granulomatöse Dermatitis | Pseudomyzotom |
| T4579/06 | Perser | 3 J | mk | Kopf | Diffuse pyogranulomatöse Dermatitis | Pseudomyzotom |
| T4699/06 | Katze | 14 J | mk | Nasenrücken | Diffuse pyogranulomatöse Dermatitis | Pseudomyzotom |
| I03/817 | EKH | 5 J | m | Kopf | Luminale Follikulitis und Sebadenitis | Dermatophytose |
| I03/4481 | Siamkatze | 1 J | mk | Hintergliedmaße | Murale Follikulitis | Dermatophytose |
| I03/5714 | EKH | 2 J | wk | Nasenrücken | Murale Follikulitis | Dermatophytose |
| I03/6055 | EKH | 6 Mo | m | Hintergliedmaße | pustulöse Follikulitis, Furunkulose | Dermatophytose |
| I03/7131 | EKH | 12 J | wk | Kopf, Hals | Murale Follikulitis | Dermatophytose |
| I04/525 | Perserkatze | 1 J | mk | Kopf, Hals, Abdomen | Murale Follikulitis | Dermatophytose |
| I04/3357 | Katze | 12 Wo | w | Kopf, Pfoten | Perivaskuläre hyperplastische Dermatitis | Dermatophytose |
| I04/4066 | EKH | kA | kA | Auge | Follikulitis / Furunkulose | Dermatophytose |
| I05/1360 | Maine Coon Katze | 5 Mo | w | Kopf, Rücken | Murale Follikulitis, Furunkulose | Dermatophytose |

BKH: Britische Kurzhaar-Katze; EKH: Europäische Kurzhaar-Katze; G: Geschlecht; J: Jahr; kA: keine Angabe; m: männlich; mk: männlich kastriert; Mo: Monat; Tgb.Nr.: Tagebuchnummer; w: weiblich; wk: weiblich kastriert.

Tabelle 17: Menge der LHZ, dargestellt mit dem Antikörper gegen den feline MHC II, in der Epidermis bei Katzen; Gruppenvergleich zwischen Katzen mit Dermatitis und Kontrollkatzen

| Dermatopathie | LHZ (anti-feliner MHC II) | | | | | Total | Arithmetischer Mittelwert |
|----------------|---------------------------|----|-----|------|-----|-------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | | | |
| Dermatitiden | 24 | 27 | 37 | 1 | 89 | 2,13 | |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | 12 | 1 | |
| Total | 36 | 27 | 37 | 1 | 101 | | |

LHZ: Langerhanssche Zellen

Tabelle 18: Menge der LHZ, dargestellt mit dem Antikörper gegen den humanen MHC II, in der Epidermis bei Katzen. Gruppenvergleich zwischen Katzen mit Dermatitis und Kontrollkatzen

| Dermatopathie | LHZ (anti-humaner MHC II) | | | | Total | Arithmetischer Mittelwert |
|----------------|---------------------------|----|-----|------|-------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | | |
| Dermatitiden | 18 | 29 | 35 | 0 | 82 | 2,2 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | 12 | 1 |
| Total | 30 | 29 | 35 | 0 | 101 | |

LHZ: Langerhanssche Zellen

Tabelle 19: Menge der LHZ in der Epidermis bei Katzen. Vergleich der verschiedenen Gruppen von Dermatitis; die Darstellung erfolgte mit den Antikörpern gegen den felinen und den humanen MHC II, das jeweils stärkste Signal ging in die Auswertung ein

| Dermatitiden | LHZ | | | | Mittlere Rangzahl |
|---------------------------|-----|----|-----|------|-------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | |
| Follikulitiden | 3 | 5 | 7 | 1 | 45,406 |
| PHD mit eos. Granulozyten | 3 | 7 | 11 | 0 | 46,095 |
| PD | 6 | 4 | 2 | 0 | 27,167 |
| Nod. und diff. Dermatitis | 4 | 11 | 10 | 1 | 43,519 |
| Pannikulitis | 1 | 1 | 2 | 0 | n. a. |
| IFD | 0 | 0 | 2 | 0 | n. a. |
| bullöse Dermatitis | 0 | 0 | 1 | 0 | n. a. |
| pustulöse Dermatitis | 0 | 0 | 1 | 0 | n. a. |
| unklar | 4 | 0 | 2 | 0 | 28,167 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | n. a. |

IFD: Interface Dermatitis; LHZ: Langerhanssche Zellen;
 PHD: perivaskuläre hyperplastische Dermatitis; PD: perivaskuläre Dermatitis

Tabelle 20: MHC II-Gesamtexpression, dargestellt mit dem Antikörper gegen den felinen MHC II, in Biopsien von Katzen. Gruppenvergleich zwischen Tieren mit Dermatitis und Kontrolltieren

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression (anti-feliner MHC II) | | | | | Arithmetischer Mittelwert |
|----------------|---|----|-----|------|-------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | Total | |
| Dermatitiden | 16 | 28 | 12 | 35 | 84 | 2,76 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | 12 | 1 |
| Total | 28 | 28 | 12 | 35 | 103 | |

Tabelle 21: MHC II-Gesamtexpression, dargestellt mit dem Antikörper gegen den humanen MHC II, in Biopsien von Katzen. Gruppenvergleich zwischen Tieren mit Dermatitis und Kontrolltieren

| Dermatopathie | MHC II-Gesamtexpression (anti-human HLA-DR) | | | | | Arithmetischer Mittelwert |
|----------------|---|----|-----|------|-------|---------------------------|
| | + | ++ | +++ | ++++ | Total | |
| Dermatitiden | 11 | 31 | 7 | 35 | 84 | 2,78 |
| Kontrollgruppe | 12 | 0 | 0 | 0 | 12 | 1 |
| Total | 23 | 31 | 7 | 35 | 96 | |

Tabelle 22: Signalement, Pathologisch-anatomische Gesamtdiagnose und MHC II-Nachweis, mit den Antikörpern gegen den felines und den humanen MHC II in der Haut von Kontrollkatzen; zur Beurteilung der LHZ siehe Kapitel 3.5.10.3.1

| Tgb.-Nr. | Rasse | Pathologisch-anatomische Diagnose | MHC II-Gesamtexpression | LHZ | Keratinocyten | Endothelzellen |
|----------|---------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----|---|--|
| S1002/04 | Katze juvenil, w | Sepsis | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1239/04 | EKH 4 Mo, mk | Panleukopenie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: positiv Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S1252/04 | EKH 3 J, mk | FLUTD | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1259/04 | EKH 5 Mo, m | Panleukopenie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: positiv |
| S1260/04 | EKH 2,5 J, m | FIP | Gesamt: (+) Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: positiv Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S143704 | EKH adult, m | Extrarenale Urämie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: positiv Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S1440/04 | Perser 4,5 J, m | Panleukopenie | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S1446/04 | EKH 1,5 J, m | Lymphoproliferative Erkrankung | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: positiv Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S1447/04 | EKH 2 J, w | Schussverletzung | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |
| S1628/04 | EKH 6 Mo, m | Lymphosarkom | Gesamt: + Dendritische Zellen | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: positiv |

Fortsetzung Tabelle 22

| Tgb.-Nr. | Rasse | Pathologisch-anatomische Diagnose | MHC II-Gesamtexpression | LHZ | Keratinocyten | Endothelzellen |
|----------|----------------|-----------------------------------|--|-----|---|--|
| S1635/04 | EKH 2 J, mk | FLUTD | Gesamt: + Dendritische Zellen, Lymphocyten | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: negativ Mittlerer Plexus: negativ Tiefer Plexus: negativ |
| S1182/06 | EKH 9 J, mk | FLUTD | Gesamt: + Dendritische Zellen, Lymphocyten | 1 | Epidermis: negativ Follikel: negativ | Oberfl. Plexus: positiv Mittlerer Plexus: positiv Tiefer Plexus: positiv |

EKH: Europäische Kurzhaar-Katze; FIP: Feline Infektiöse Peritonitis; FLUTD: feline lower urinary tract disease; J: Jahre; LHZ: Langhans Zellen;
m: männlich; mk: männlich kastriert; Mo: Monate; Tbg.-Nr.: Tagebuchnummer; w: weiblich; wk: weiblich kastriert.

B Lösungen, Puffer und Bezugsquellen

B.1 Lösungen und Puffer

Tris-buffered-saline (TBS, pH 7,6)

Stammlösung (10x):

60,57 g Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

610 ml Aqua bidest.

390 ml 1 N HCl

Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl eingestellt.

Gebrauchslösung:

100 ml Stammlösung

900 ml 0,8 % NaCl in Aqua bidest.

Die Gebrauchslösung hatte einen pH-Wert von 7,8.

Phosphate-buffered saline (PBS, pH 7,4 300 mOsm)

Stammlösung:

42 g NaCl krist.

9,26 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ p. a.

2,15 g KH_2PO_4

Aqua bidest. ad 1000 ml

Gebrauchslösung:

Stammlösung 1:5 in Aqua bidest. verdünnen

Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl eingestellt.

Zitratpuffer (10 mM, pH 6,0)

Stammlösung A: 0,1 M Zitronensäure

21,01 g $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \times \text{H}_2\text{O}$

1000 ml Aqua bidest.

Stammlösung B: 0,1 M Natriumzitat

29,41 g $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \times \text{H}_2\text{O}$

1000 ml Aqua bidest.

9 ml Stammlösung A und 41 ml Stammlösung B mit 450 ml Aqua bidest. Auf 500 ml auffüllen und mischen (Magnetrührer).

Der pH-Wert wurde mit 1 N HCl eingestellt.

Imidazol/HCl-Puffer 0,1 M (7,1)

6,81 g Imidazol

Aqua bidest. ad 1000 ml.

Zugeben von 500 ml 0,1 M HCl. Der pH Wert wurde mit 0,1 M HCl eingestellt. Lösung ca. 1 Woche haltbar.

3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid-Dihydrat-Lösungen (DAB)

100 mg DAB in 200 ml 0,1 M Imidazol/HCl-Puffer (pH 7,1) lösen und mischen (Magnetrührer). Filtrieren und unmittelbar vor Gebrauch 70 µl 30 % H₂O₂ zugeben.

Kardasewitch

200 ml 25 % Ammoniaklösung mit 800 ml 70 % Ethanol ansetzen.

Papanicolaos Gebrauchslösung

Papanicolaos Hämatoxylin 1b und Aqua dest. Im Verhältnis 1:10 mischen und filtrieren.

B.2 Bezugsquellen für Chemikalien

Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe

Ammonia solution, reinst (NH₃), 5460.1

Merthiolat 6389.1

Methanol, 5627.3

Isopropanol, 9866.4

Roti-Histol®, 6640.3

Xylol, 7913.4

Zitronensäure-Monohydrat (C₆H₈O₇ x H₂O, 6490

DakoCytomation, Hamburg

Glycergel, C0563

Fluka Feinchemikalien, jetzt Sigma-Aldrich-Laborchemie, Seelze

Imidazol, 56750

Natriumzitat purum, p. a., 71406

Tris(hydroxymethyl)-aminomethane (Trisma Base), 93352

Gesellschaft für Labortechnik GmbH (GfL), Burgwedel

Plastikküvetten Typ 1013

I. Hecht, Kiel-Hasse

Eukitt®

Life Science International, Frankfurt/Main

Coverplates™, 721100013

Menzel Gläser, Braunschweig

Superfrost*/Plus-Objektträger, 041300

E. Merck, Darmstadt

Dimethylformamid, 103053.1000

HCl, 1 M /l, 109970

KH₂PO₄, p. a., 104873.0250

NaCl krist., 106400.5000

Na₂HPO₄ x 2 H₂O, p. a., 106580.0500

NaOH, 1 M, (Plätzchen), 106498.0500

Natriumnitrit, 106549.0100

Neufuchsin, 4041

Papanicolaous Lösung 1b, 9254

Perhydrol® 30 % H₂O₂ p. a. 7210

Propandiol, 801464

2-Amino-2-Methyl-1,3-Propandiol, 801464 (4,2 g in 200 ml Aqua bidest.)

Sakura Finetek Germany GmbH, Heppenheim

Tissue Tec®, 4383

Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Seenheim

3,3'-Diaminobenzidine-tetrahydrochloride (DAB), D-5637

Levamisol, L9756

Naphthol-AS-Bi-Phosphat, N-2250

Protease Typ XXIV, P-8038

Stockmeier Chemie, Dillenburg

Ethanol 520, 96 %, verg. mit 1 % Petrolether

Vogel GmbH & Co KG, Giessen

Paraffin, rein (Schmelzpunkt 56 – 58 °C) Tissue Tek[®] Vacuum Infiltration Processor

C Liste der verwendeten Abkürzungen

| | |
|--------|--|
| ABC | Avidin-Biotin-Komplex |
| ABC-AP | Avidin-Biotin-Komplex-Alkalische Phosphatase |
| Ag | Antigen |
| bidest | bidestillata |
| BKH | Britische Kurzhaar-Katze |
| BMMC | bone-marrow-derived mast cells |
| BSA | bovines Serumalbumin |
| CD | cluster of differentiation |
| CLA | cutaneous lymphocyte-associated antigen |
| CLIP | class II-associated invariant chain peptide |
| CIITA | class II transcription activator |
| DAB | Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid |
| DD | Differentialdiagnose |
| DLA | dog leukocyte antigen |
| dest. | destillata |
| evtl. | eventuell |
| excl. | exclusive |
| EKH | Europäische Kurzhaar-Katze |
| FIP | Feline Infektiöse Peritonitis |
| FLA | feline leukocyte antigen |
| FLUTD | feline lower urinary tract disease |
| G | Geschlecht |
| ggr. | geringgradig |
| h | Stunde |
| HE | Hämatoxylin-Eosin |
| hgr. | hochgradig |
| HLA | human leukocyte antigen |
| HLA-DR | Antikörper gegen den MHC II des Menschen |
| ICAM | intercellular adhesion molecule |
| IFD | Interface Dermatitis |

| | |
|--------|---|
| IFF | Interface Follikulitis |
| IFN | Interferon |
| Ii | invariante Kette |
| IL | Interleukin |
| J | Jahr |
| k.A. | keine Angaben |
| LE | Lupus erythematoses |
| LFA | leukocyte function-associated antigen |
| LHZ | Langerhans Zellen |
| M | molar |
| m | männlich |
| M-CSF | monocyte collony simulating factor |
| mg | Milligramm |
| mgr. | mittelgradig |
| MHC II | major histocompatibility complex class II |
| min | Minuten |
| mk | männlich kastriert |
| ml | Milliliter |
| mM | Millimolar |
| mOsm | Milliosmolal |
| Mo | Monate |
| µl | Mikroliter |
| MIIC | MHC class II compartment |
| n | Anzahl |
| obB | ohne besonderen Befund |
| p. a. | per analysem |
| PAP | Peroxidase anti-Peroxidase |
| PBS | Phosphate-buffered saline |
| PD | perivaskuläre Dermatitis |
| PHD | perivaskuläre hyperplastische Dermatitis |
| rs | Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman |
| ® | registered trade mark |
| s | Sekunden |
| s. | siehe |
| s.o. | siehe oben |

C Liste der verwendeten Abkürzungen

| | |
|----------|---------------------------------|
| SIS | skin immune system |
| SS | Schweineserum |
| TBS | Tris-buffered saline |
| TCR | T-Zellrezeptor |
| TGF | transforming growth factor |
| Tgb.-Nr. | Tagebuch-Nummer |
| TNF | Tumor-Nekrosefaktor |
| Tris | Tris(hydroxymethyl)-aminomethan |
| v.a. | vor allem |
| w | weiblich |
| wk | weiblich kastriert |
| WMW-Test | Wilcoxon-Mann-Whitney-Test |
| ZP | Zitratpuffer |
| z.T. | zum Teil |

Veröffentlichung zum Thema der Doktorarbeit

Huisinga, M., Failing, K., Reinacher, M. 2007. MHC class II expression by follicular keratinocytes in canine demodicosis - an immunohistochemical study.
Vet. Immunol. Immunopathol. 118, 210-220.

Ich erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt habe, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Manfred Reinacher, der mir die Gelegenheit gab, auf diesem interessanten und vielschichtigen Gebiet zu arbeiten und mich durch die hervorragende Betreuung und seine stete Diskussionsbereitschaft in meiner Arbeit unterstützt hat.

Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Arnhold danke ich für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse und für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Kernt Köhler für die große Unterstützung bei der histopathologischen Diagnostik der Hautbiopsien.

Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie bedanke ich mich für die gute Zusammenarbeit, Freundlichkeit, Offenheit und Hilfsbereitschaft.

Kim gilt mein Dank für die Einführung in die Methodik der Immunhistologie.

Herr Dr. Klaus Failing unterstützte mich bei der statistischen Auswertung der Arbeit, wofür ich ihm ganz herzlich danke.

Frau Prof. Dr. Monika Welle ermöglichte mir eine schöne und lehrreiche Zeit in Bern. Für die Überlassung von Biopsien zur Verwendung in dieser Arbeit möchte ich ihr ebenfalls ganz herzlich danken.

Der Stiftung der Eheleute Dr. med. vet. Hans-Joachim und Gertrud Engemann und dem Land Hessen danke ich für die finanzielle Unterstützung in Form eines je einjährigen Stipendiums.

Schließlich danke ich Matthias und meiner Familie für das immer vorhandene Interesse an meiner Arbeit, für die Hilfe beim Formatieren, beim Korrekturlesen, beim Drucken und auch für die finanzielle Unterstützung.

ISBN 3-925070-33-8