

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Gelenke	3
2.1.1	Allgemeiner Gelenkaufbau	3
2.1.2	Gelenkkapsel	3
2.1.3	Gelenknorpel	7
2.1.4	Synovia	8
2.1.5	Stoffwechselstörungen der Gelenke	9
2.2	Immunologie	11
2.2.1	Grundbegriffe der Immunologie	11
2.2.2	Die myeloide Zelllinie	12
2.2.3	Die lymphatische Zelllinie	12
2.2.4	Immunologische Reaktionen im Gelenk	13
2.3	Gelenkerkrankungen	15
2.3.1	Ruptur des kranialen Kreuzbandes beim Hund	19
2.3.2	Rheumatoide Arthritis beim Hund	23
2.3.3	Das Polyarthritis-Polymyositis-Syndrom	27
2.4	Mastzellen	28
2.4.1	Mastzellmediatoren	29
2.4.1.1	Chymase	31
2.4.1.2	Tryptase	32
2.4.1.3	Histamin und Histaminrezeptoren	32
2.4.2	Mastzellofunktion	35
2.4.3	Synoviale Mastzellen und Mediatoren bei chronischen Arthritiden des Menschen	36
2.5	Immunglobulin E	39
3	Material und Methoden	41
3.1	Untersuchungsmaterial	41
3.1.1	Kontrollhundgruppe (Gruppe 1)	41
3.1.2	Hunde mit Kreuzbandruptur und geringgradiger Entzündung (Gruppe 2)	42
3.1.3	Hunde mit Kreuzbandruptur und mittelgradiger Entzündung (Gruppe 3)	44
3.1.4	Hunde mit Kreuzbandruptur und hochgradiger Entzündung (Gruppe 4)	45
3.1.5	Hunde mit Polyarthritis (Gruppe 5)	46
3.2	Probengewinnung und -aufbereitung	47
3.3	Physikochemische Färbemethode	48
3.4	Metachromatische Färbemethode	48
3.5	Immunhistochemische Reaktionen	49
3.5.1	Prinzip der Immunhistochemie	49
3.5.2	Primäre Antikörper	51
3.5.2.1	Primärantikörper zur Darstellung der Tryptase	51
3.5.2.2	Primärantikörper zur Darstellung von IgE an Mastzellen	51
3.5.2.3	Primärantikörper zur Darstellung von Histamin-4-Rezeptor (H4R)	51
3.5.3	Sekundäre Antikörper	51
3.5.3.1	Sekundärantikörper zur Darstellung der Tryptase	51
3.5.3.2	Sekundärantikörper zur Darstellung von IgE an Mastzellen	52
3.5.3.3	Sekundärantikörper zur Darstellung von Histamin-4-Rezeptor (H4R) an Mastzellen	52

3.6 Enzymhistochemische Methode	53
3.7 Enzym- und immunhistochemische Doppelreaktion	54
3.8 Immunhistochemischer Nachweis von IgE und H4R	54
3.8.1 Nachweis von IgE positiven Mastzellen.....	54
3.8.2 Nachweis von Histamin-4-Rezeptor (H4R)	55
3.9 Spezifitätskontrollen	55
3.9.1 Positivkontrollen	55
3.9.2 Negativkontrollen	56
3.10 Unspezifische Hintergrundfärbung	56
3.11 Befunderhebung	57
3.12 Histologische Auswertung	58
3.13 Statistische Auswertung	59
4 Ergebnisse	61
4.1 Histologische bzw. histopathologische Befunde in HE-Übersichtsfärbungen aus der Synovialmembran von der Kontrollgruppe, KBR- und PA-Gruppe.....	61
4.2 Darstellung von Mastzellen mittels Kresylechtviolett (KEV) Färbung	65
4.2.1 Befunde bei den Kontrollhunden in der KEV Färbung	66
4.2.2 Befunde bei den Hunden mit Kreuzbandriss in der KEV Färbung	67
4.2.3 Befunde bei den Hunden mit Polyarthritis in der KEV Färbung	74
4.3 Untersuchungen zur Darstellung und Phänotypisierung von Mastzellen mittels enzym- und immunhistochemischer Doppelfärbung	76
4.3.1.1 Chymase-positive Mastzellen (MC _c) bei Kontrollhunden	79
4.3.1.2 Tryptase-positive Mastzellen (MC _r) bei Kontrollhunden.....	80
4.3.1.3 Chymase/Tryptase-positive Mastzellen (MC _{cr}) bei Kontrollhunden.....	80
4.3.2 Befunde bei Hunden mit Kreuzbandriss in der enzym- und immunhistochemischen Doppelfärbung	80
4.3.2.1 Chymase-positive Mastzellen (MC _c) bei Hunden mit Kreuzbandriss	81
4.3.2.2 Tryptase-positive Mastzellen (MC _r) bei Hunden mit Kreuzbandriss	83
4.3.2.3 Chymase/Tryptase-positive Mastzellen (MC _{cr}) bei Hunden mit KBR	85
4.3.3 Befunde bei den Hunden mit Polyarthritis in der enzym- und immunhistochemischen Doppelfärbung	85
4.3.3.1 Chymase-positive Mastzellen bei Hunden mit Polyarthritis	86
4.3.3.2 Tryptase-positive Mastzellen (MC _r) bei Hunden mit Polyarthritis	86
4.3.3.3 Chymase/Tryptase-positive Mastzellen (MC _{cr}) bei Hunden mit Polyarthritis	87
4.3.3.4 Negativ- und Positivkontrolle der enzym- und immunhistochemischen Doppelfärbung	87
4.4 Immunhistochemischer Nachweis von Immunglobulin E-Antikörpern auf Mastzellen im Synovialgewebe	88
4.4.1 Befunde bei den Kontrollhunden in der immunhistochemischen Einfachfärbung zum Nachweis von IgE-positiven Mastzellen.....	91
4.4.2 Befunde bei Hunden mit Kreuzbandriss in der immunhistochemischen Einfachfärbung zum Nachweis von IgE-positiven Mastzellen	92
4.4.3 Befunde bei den Hunden mit Polyarthritis in der immunhistochemischen Einfachfärbung zum Nachweis von IgE-positiven Mastzellen.....	94
4.5 Immunhistochemischer Nachweis von Histamin-4-Rezeptoren auf Mastzellen im Synovialgewebe	95
4.5.1 Immunhistochemischer Nachweis von Histamin-4-Rezeptor auf Mastzellen von Kontrollhunden	97

4.5.2 Immunhistochemischer Nachweis von Histamin-4-Rezeptoren auf Mastzellen im Synovialgewebe bei KBR-Hunden.....	97
4.5.3 Immunhistochemischer Nachweis von Histamin-4-Rezeptor-positiven Mastzellen im Synovialgewebe von Polyarthritikern.....	98
4.5.4 Negativkontrolle der immunhistochemischen Färbung zum Nachweis von Histamin-4-Rezeptor bei Mastzellen im Synovialgewebe	99
4.6 Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	100
5 Diskussion	103
5.1 Mastzellen und ihre Phänotypen in der Synovialmembran von Hunden ohne Gelenkerkrankungen.....	104
5.2 Mastzellen und ihre Phänotypen in der Synovialmembran von Hunden mit KBR.....	104
5.3 Mastzellen und ihre Phänotypen in der Synovialmembran von Hunden mit Polyarthritis.....	107
5.4 Immunglobulin E-positive Mastzellen in der Synovialmembran von gelenk-gesunden Hunden sowie von Hunden mit KBR und chronischer Polyarthritis	109
5.5 Histamin-4-Rezeptor-positive Mastzellen in der Synovialmembran von gelenk-gesunden Hunden sowie von Hunden mit KBR und chronischer Polyarthritis	112
5.6 Schlussbetrachtung.....	115
6 Zusammenfassung	117
7 Summary	119
8 Literaturverzeichnis.....	121
9 Anhang	149
9.1 Färbungsprotokolle	149
9.1.1 Hämalau-Eosin (H.E.) Färbung am Paraffinschnitt.....	149
9.1.2 Kresylechtviolett (KEV) Färbung am Paraffinschnitt	150
9.1.3 Färbeprotokoll für die enzym- und immunhistochemische Doppelfärbung (ABC-Methode).....	150
9.1.4 Färbeprotokoll für die immunhistochemische IgE-Einfachfärbung.....	152
9.1.5 Färbeprotokoll zum Nachweis von Histamin-4-Rezeptor.....	154
9.2 Lösungen und Puffer für die immunhistochemischen Untersuchungen	155
9.2.1 Tris gepufferte Kochsalzlösung (TBS):	155
9.2.2 Phosphat gepufferte Kochsalzlösung (PBS):	156
9.2.3 ABC-Reagenz:.....	156
9.2.4 Citratpuffer (pH 6,0):.....	156
9.2.5 DAB (3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochloridlösung):.....	156
9.2.6 Borat-HCl-Puffer (50mM):.....	156
9.2.7 Tyramin:.....	157
9.3 Vorbehandlungsmethoden für die immunhistochemischen Untersuchungen	157
9.3.1 Demaskierung mit Citratpuffer:.....	157
9.3.2 Demaskierung mit Protease XIV:.....	157
9.3.3 Demaskierung mit 0,05%iger Pronase E Lösung:	157
9.4 Bezugssquellen.....	158
9.5 Tabellen.....	162
9.6 Abkürzungen	168