

Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

***Canine Mastzellen:  
Verteilung, Dichte und Heterogenität sowie  
Einfluss zweier Fixationstechniken***

**INAUGURAL-DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Petra Kube**

Tierärztin aus Bielefeld

Berlin 1999

Journal-Nr. 2353

Gedruckt mit der Genehmigung  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Klaus Hartung
Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Roland Rudolph
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. Karl Dietrich Weyrauch

Tag der Promotion:	28. April 2000
--------------------	----------------

meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet



# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2. Literatur</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Entdeckung</b>	<b>3</b>
<b>2.2. Herkunft und Entwicklung</b>	<b>3</b>
<b>2.3. Morphologie und Histochemie</b>	<b>4</b>
<b>2.4. Mastzellinhaltsstoffe</b>	<b>4</b>
2.4.1 Proteoglykane	5
2.4.2 Mastzellspezifische neutrale Proteasen	6
<b>2.5. Funktion</b>	<b>9</b>
2.5.1 Biologische Bedeutung der Mastzellen allgemein	9
2.5.2 Biologische Bedeutung der mastzellspezifischen Proteasen Chymase und Tryptase	10
2.5.2.1 Bedeutung der Mastzellproteasen im Respirationstrakt	10
2.5.2.2 Bedeutung der Mastzellproteasen beim Gewebeumbau	11
2.5.2.3 Bedeutung der Mastzellproteasen bei Entzündungen	11
2.5.2.4 Bedeutung der Mastzellproteasen bei der Regulierung des Blutdrucks	12
<b>2.6. Heterogenität</b>	<b>14</b>
<b>2.6.1 Heterogenität der Mastzellen der Nager</b>	<b>15</b>
2.6.1.1 Unterscheidung nach Fixations- und Färbeeigenschaften	15
2.6.1.2 Unterscheidungskriterium Proteasengehalt	17
<b>2.6.2 Heterogenität der Mastzellen des Menschen</b>	<b>18</b>
2.6.2.1 Unterscheidung nach Fixations- und Färbeeigenschaften	18
2.6.2.2 Unterscheidungskriterium Proteasengehalt	20
<b>2.6.3 Heterogenität der Mastzellen des Hundes</b>	<b>22</b>
2.6.3.1 Unterscheidung nach Fixations- und Färbeeigenschaften	23
2.6.3.2 Unterscheidungskriterium Proteasengehalt	23
<b>2.6.4 Beteiligung der Mastzellsubtypen an Erkrankungen</b>	<b>25</b>
2.6.4.1 T- und TC-Mastzellen beim Menschen	25
2.6.4.2 T- und TC-Mastzellen beim Hund	27

<b>3. Material und Methoden</b>	<b>28</b>
<b>3.1.            Untersuchtes Material</b>	28
3.1.1            Materialgewinnung	29
<b>3.2.            Untersuchungsmethoden</b>	30
3.2.1            Histologische Darstellungsverfahren	30
<b>3.2.2            Enzym – Immunzytochemischer Proteasennachweis</b>	32
3.2.2.1            Anmerkung zur alkalischen Phosphatase-anti-alkalischen Phosphatase-Methode (APAAP)	35
3.2.2.2            Fehlerquellen	36
<b>3.2.3            Auswertung der Schnitte</b>	37
3.2.3.1            Identifizierung der Mastzellen	37
3.2.3.2            Quantifizierung der Mastzellen, ausgewertete Lokalisationen	37
<hr/>	
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>43</b>
<b>4.1.            Allgemeine Ergebnisse</b>	43
4.1.1            Durchschnittliche <b>Mastzelldichte</b>	43
4.1.2 <b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	44
4.1.2.1            Proteasengehalt	44
Vorkommen und Verteilung der T-, TC- und C-Mastzellen	46
4.1.2.2            Formalinsensitivität	47
4.1.2.2.1            Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	47
4.1.2.2.2            Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	47
4.1.3            Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	48
4.1.4            Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	48
<b>4.2.            Ergebnisse in den einzelnen Organen</b>	49
<b>4.2.1.            MAGEN</b>	49
4.2.1.1            Durchschnittliche <b>Mastzelldichte</b>	49
4.2.1.2 <b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	49
4.2.1.2.1            Proteasengehalt	49
4.2.1.2.2            Formalinsensitivität	49
4.2.1.2.2.1            Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	49
4.2.1.2.2.2            Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	49

4.2.1.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	50
4.2.1.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	50
<b>4.2.2.</b>	<b>DUODENUM</b>	<b>54</b>
4.2.2.1	Durchschnittliche <b>Mastzelldichte</b>	54
4.2.2.2	<b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	54
4.2.2.2.1	Proteasengehalt	54
4.2.2.2.2	Formalinsensitivität	54
4.2.2.2.2.1	Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	54
4.2.2.2.2.2	Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	54
4.2.2.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	55
4.2.2.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	55
<b>4.2.3.</b>	<b>LUNGE</b>	<b>59</b>
4.2.3.1	Durchschnittliche <b>Mastzelldichte</b>	59
4.2.3.2	<b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	59
4.2.3.2.1	Proteasengehalt	59
4.2.3.2.2	Formalinsensitivität	59
4.2.3.2.2.1	Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	59
4.2.3.2.2.2	Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	60
4.2.3.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	60
4.2.3.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	60
<b>4.2.4.</b>	<b>UTERUS</b>	<b>64</b>
4.2.4.1	Durchschnittliche <b>Mastzelldichte</b>	64
4.2.4.2	<b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	64
4.2.4.2.1	Proteasengehalt	64
4.2.4.2.2	Formalinsensitivität	64
4.2.4.2.2.1	Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	64
4.2.4.2.2.2	Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	65
4.2.4.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	65
4.2.4.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	65

<b>4.2.5.</b>	<b>LYMPHKNOTEN</b>	68
4.2.5.1	Durchschnittliche <b>Mastzell</b> dichte	68
4.2.5.2	<b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	68
4.2.5.2.1	Proteasengehalt	68
4.2.5.2.2	Formalinsensitivität	68
4.2.5.2.2.1	Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	68
4.2.5.2.2.2	Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	69
4.2.5.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	72
4.2.5.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	72
<b>4.2.6.</b>	<b>HAUT</b>	73
4.2.6.1	Durchschnittliche <b>Mastzell</b> dichte	73
4.2.6.2	<b>Heterogenität</b> caniner Mastzellen	73
4.2.6.2.1	Proteasengehalt	73
4.2.6.2.2	Formalinsensitivität	74
4.2.6.2.2.1	Formalinsensitivität der Mastzellen insgesamt	74
4.2.6.2.2.2	Formalinsensitivität der Mastzellsubtypen	74
4.2.6.3	Vergleich der beiden Mastzellnachweismethoden	74
4.2.6.4	Vergleich der beiden Heterogenitätskriterien Proteasengehalt und Formalinsensitivität	74
<hr/>		
<b>5. Diskussion</b>		<b>79</b>
<b>5.1.</b>	<b>Durchschnittliche Mastzell</b> dichte	80
5.1.1.	Durchschnittliche Mastzell dichte der verschiedenen Gewebelokalisationen eines Organs	80
<b>5.2.</b>	<b>Mastzell</b> proteasen	82
5.2.1.	Dominierender Mastzellsubtyp	83
	Verteilung der T-, TC- und C-Mastzellen bei Mensch und Hund im Vergleich	83
<b>5.3.</b>	<b>Formalinsensitivität</b>	89
5.3.1.	<b>Ursache</b> der Formalinsensitivität	89
5.3.2.	Formalinsensitivität und <b>Lokalisation im Gewebe</b>	90
5.3.3.	Formalinsensitivität <b>der Mastzell</b> subtypen	92
5.3.4.	Formalinsensitivität <b>der Mastzell</b> proteasen	92
<b>5.4.</b>	Betrachtung verschiedener Heterogenitätskriterien	94
5.4.1.	Mastzellsubtyp und Formalinsensitivität	94



5.4.2.	Mastzellsubtyp und Lokalisation der Mastzellen im Gewebe	95
5.5.	Vergleich der beiden Mastzellmarkierungsmethoden	96
5.6.	Schlußbetrachtung	97

---

<b>6. Zusammenfassung</b>		<b>98</b>
---------------------------	--	-----------

---

<b>7. Summary</b>		<b>101</b>
-------------------	--	------------

---

<b>8. Literaturverzeichnis</b>		<b>104</b>
--------------------------------	--	------------

---

<b>9. Anhang</b>		<b>134</b>
------------------	--	------------

9.1	Organtabellen	134
9.2	Einzeltiertabellen	154
9.3	Abkürzungsverzeichnis	201

# Danksagung

Die vorliegende Dissertation wurde im Institut für Veterinärpathologie der Freien Universität Berlin durchgeführt.

Dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Dr. R. Rudolph, der die Durchführung der Arbeit ermöglichte und mich bei ihr unterstützte, bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. Monika Welle, die mir das Thema gestellt hat. Mit ihren konstruktiven wissenschaftlichen Ratschlägen und ihrer steten Bereitschaft zu qualifizierter Kritik hat sie die Durchführung und die Abfassung meiner Arbeit sehr unterstützt.

Herrn Dr. Ilkka Harvima, Department of Dermatology, University of Kuopio, Clinical Research Unit, Finland danke ich dafür, dass er Frau Dr. Monika Welle den für die Darstellung der Mastzell-Tryptase unerlässlichen primären Antikörper zur Verfügung gestellt hat.

Für die Beratung bei der statistischen Auswertung bedanke ich mich bei Frau G. Arndt vom Institut für Biometrie der FU Berlin, Herrn Laurent Audigé vom Institut für Virologie und Immunprophylaxe in Mittelhäusern (Schweiz) und besonders bei Herrn Andreas Bethge.

Auch danke ich allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie, die sich die Zeit für anregende und klärende Gespräche genommen haben und denen, die bei der Durchführung der Arbeit behilflich waren, insbesondere der leider viel zu früh gestorbenen Frau Aurea Dos Santos Bastos, die mich in die notwendigen Techniken der Gewebeaufbereitung eingewiesen hat.

## **Selbständigkeitserklärung:**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation eigenständig und nur mit den angegebenen Methoden und Hilfsmitteln sowie der aufgeführten Literatur erarbeitet und verfaßt habe.

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Petra Kube  
geboren am 20.12.1961 in Bielefeld  
ledig  
Veterinärmedizinerin, Informationstechnologin in Multimedia

## Schule und Ausbildung

1968 - 1972	Grundschule in Bielefeld-Sennestadt
1972 - 1981	Gymnasium in Bielefeld-Sennestadt <i>Abschluß: <u>Abitur</u></i>
1982 - 1983	Studium der Diplom-Biologie, Universität Bielefeld
1983 - 1985	Lehre in einer Tierarztpraxis für Kleintiere <i>Abschluß: <u>Tierärzthelferin</u></i>
1986 - 1992	Studium der Veterinärmedizin, FU Berlin, <i>Abschluß: <u>approbierte Tierärztin</u></i>
Seit Dez 1996:	Studium des Neuro-Linguistischen Programmierens (NLP) <i>Bisheriger Abschluß: <u>Practitioner in NLP und Hypnosetechnik</u></i>

## Berufliche Entwicklung

09/85 - 10/86:	Tierarztpraxis für Kleintiere Tierärzthelferin
Seit 1992	Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin Doktorandin
07/94 - 12/96:	Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin Wissenschaftliche Mitarbeiterin (Lehre, Forschung und Dienstleistung)
01/97 - 07/98:	Fortsetzung der Arbeiten an der Dissertation, arbeitssuchend, Zeitarbeit als medizinische Schreibkraft

## Weiterbildung

07/98 - 07/99:	Fortbildung bei Siemens zur <u>Informationstechnologin in Multimedia</u>
----------------	--