

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

**Immunhistochemische Untersuchungen zum Zytokeratinmuster epithelialer
Zellen der Haut des Huhnes**

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

vorgelegt von
Amrit Dortschy
Tierärztin aus Leipzig

Berlin 2004
Journal-Nr. 2812

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.- Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter.	Univ.- Prof. Dr. Volker Bergmann
Zweiter Gutachter:	Univ.- Prof. Dr. Dr. Hafez Mohamed Hafez
Dritter Gutachter:	Univ.- Prof. Dr. Dieter Ebner

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus): immunohistochemistry, cytokeratin,
monoclonal antibodies, poultry, epidermis

Tag der Promotion: 30.04.2004

Alles, was ist,
ist um seiner selbst willen da.

Georg Büchner

meiner Mutter und Gabriele

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1	Einleitung und Zielstellung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Haut und Hautgebilde von Hühnervögeln	3
2.1.1	Funktion und Aufbau der Vogelhaut	3
2.1.2	Anhangsgebilde der Hühnerhaut	4
2.1.3	Horngebilde der Hühnerhaut	4
2.1.3.1	Verhornungsarten	5
2.1.3.2	Schuppentypen	6
2.1.4	Allgemeiner histologischer Aufbau	6
2.1.4.1	Epidermis	6
2.1.4.1.1	Embryonale Entwicklung	6
2.1.4.1.2	Aufbau der adulten Epidermis	7
2.1.4.2	Korium	11
2.1.4.3	Subkutis	12
2.1.5	Federn	12
2.1.5.1	Federentwicklung (Ontogenese)	12
2.1.5.2	Federfollikel	13
2.1.5.3	Federarten und Federstruktur	14
2.1.5.4	Befiederung (Federraine, Federfluren)	14
2.1.6	Bau spezieller Hautgebiete unter besonderer Betrachtung der Epidermis in unterschiedlichem Lebensalter	15
2.1.6.1	Federraine (Apteria)	15
2.1.6.2	Federfluren (Pterylae)	15
2.1.6.3	Ballen (Pulvini)	16
2.1.6.4	Kamm (Crista carnos)	16
2.1.6.5	Schuppenhaut des Tarsometatarsus	17

2.2	Zytokeratine	18
2.2.1	Einteilung der Keratine und Verteilung von α - und β -Keratinen in der Epidermis der Vögel	18
2.2.2	Einordnung der Zytokeratine in das zytoskelettale System	19
2.2.3	Einteilung der Zytokeratine	22
2.2.3.1	Molekulargewicht und isoelektrischer Punkt	22
2.2.3.2	Subfamilien und Paarbildung	22
2.2.4	Zytokeratinexpression in Epithelzellen	23
2.2.4.1	Zytokeratine in humanen Epithelzellen	23
2.2.4.2	Zytokeratine in aviären Epithelzellen	25
2.2.5	Lokalisation von Zytokeratinen in den Zelllagen der Epidermis ausgewählter Vertebraten	26
2.2.5.1	Zytokeratine in humaner Epidermis	26
2.2.5.2	Zytokeratine in kaniner Epidermis	26
2.2.5.3	Zytokeratine in aviärer Epidermis	27
2.2.6	Zytokeratinantikörper	28
2.2.7	Immunhistochemische Färbemethoden	30
3	Eigene Untersuchungen	32
3.1	Material und Methoden	32
3.1.1	Verwendete Tiere	32
3.1.2	Probenmaterial	33
3.1.3	Antikörper, Geräte und Chemikalien	35
3.1.3.1	Verwendete Antikörper	35
3.1.3.2	Geräte und Chemikalien	35

3.1.4	Methoden	37
3.1.4.1	Gewebeaufbereitung und histologische Untersuchung	37
3.1.4.2	Immunhistochemische Voruntersuchungen	37
3.1.4.2.1	Antikörper und Vorbehandlungen	37
3.1.4.2.2	Immunhistochemische Färbung	38
3.1.4.2.3	Herstellung der immunhistochemisch benötigten Reagenzien	39
3.1.4.2.4	Färbeprotokoll	40
3.1.4.3	Immunhistochemische Hauptuntersuchungen	42
3.1.4.4	Kontrollen für die Immunhistochemie	42
3.1.4.4.1	Positive Kontrolle	42
3.1.4.4.2	Negative Kontrolle	42
3.1.4.6	Auswertungsverfahren	42
3.2	Ergebnisse	45
3.2.1	Histologischer Aufbau der Haut des Huhnes nach HE-Färbung	45
3.2.1.1	Histologie der Epidermis in Abhängigkeit von Alter und Hautregion	45
3.2.1.2	Histologie in Abhängigkeit von der Nutzungsrichtung	47
3.2.2	Ergebnisse der immunhistochemischen Färbungen	47
3.2.2.1	Ergebnisse der immunhistochemischen Voruntersuchungen	47
3.2.2.2	Ergebnisse der immunhistochemischen Kontrollen	49
3.2.2.3	Ergebnisse der immunhistochemischen Hauptuntersuchungen	49
3.2.2.3.1	Befunde der mit AE 1 markierten Hautproben	50
3.2.2.3.1.1	Farbintensität und -regelmäßigkeit im Stratum basale	51
3.2.2.3.1.2	Farbintensität und -regelmäßigkeit im Stratum suprabasale	52

3.2.2.3.1.3	Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit vom Alter	54
3.2.2.3.1.4	Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Hautregion	61
3.2.2.3.1.5	Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Nutzungsrichtung	64
3.2.2.3.1.6	Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum corneum	64
3.2.2.3.1.7	Färbeergebnisse von AE 1 im Federfollikel	64
3.2.2.3.2	Befunde der mit AE 3 markierten Hautproben	66
3.2.2.3.2.1	Farbintensität und -regelmäßigkeit im Stratum basale und im Stratum suprabasale	66
3.2.2.3.2.2	Färbeergebnisse von AE 3 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit vom Alter	68
3.2.2.3.2.3	Färbeergebnisse von AE 3 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Hautregion	71
3.2.2.3.2.4	Färbeergebnisse von AE 3 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Nutzungsrichtung	72
3.2.2.3.2.5	Färbeergebnisse von AE 3 im Stratum corneum	73
3.2.2.3.2.6	Färbeergebnisse von AE 3 im Federfollikel	74
3.2.2.3.3	Befunde der mit LP 34 markierten Hautproben	76
3.2.2.3.3.1	Färbeergebnisse von LP 34 im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Hautregion	76
3.2.2.3.3.2	Farbintensität und -regelmäßigkeit in Abhängigkeit von der Hautregion	78
3.2.2.3.3.3	Färbeergebnisse von LP 34 im Stratum suprabasale in Abhängigkeit vom Alter	82
3.2.2.3.3.4	Färbeergebnisse von LP 34 im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Nutzungsrichtung	83
3.2.2.3.3.5	Färbeergebnisse von LP 34 im Stratum corneum	84
3.2.2.3.3.6	Färbeergebnisse von LP 34 im Federfollikel	85
3.2.2.3.4	Befunde der mit LL 002 markierten Hautproben	88
3.2.2.3.4.1	Farbintensität und -regelmäßigkeit im Stratum corneum	88
3.2.2.3.4.2	Färbeergebnisse von LL 002 im Stratum corneum in Abhängigkeit von Hautregion und Alter	89

4	Diskussion	90
5	Zusammenfassung	106
6	Summary	108
7	Literaturverzeichnis	110
8	Anhang	125
8.1	Tabellen	125
8.2	Abkürzungsverzeichnis	141

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, meinen Dank aussprechen.

Mein herzlicher Dank gilt dabei zuerst Herrn Prof. Dr. V. Bergmann, der nicht nur für die Überlassung des Themas zeichnet, sondern auch durch seine überaus kompetente und jederzeit hilfreiche Unterstützung zur Anfertigung und Abfassung der Arbeit wesentlich beigetragen hat.

Daneben danke ich allen Mitarbeitern des Institutes für Veterinär-Pathologie für die stets freundliche Unterstützung bei allen praktischen Arbeiten, allen voran Frau Gabriele Hahn und Frau Heide Irmer für umfangreiche Hilfestellungen im Labor im Zusammenhang mit der Immunfärbung sowie Frau Harder und Frau Ansorge für die Hilfe bei der Anfertigung von Schnittpäparaten. Außerdem danke ich Herrn Daniel Rund für die Unterstützung bei der Anfertigung der Fotos.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Familie sowie allen Freunden und Bekannten, die durch ihr Interesse und ihre moralische Unterstützung einen maßgeblichen Anteil am Gelingen der Arbeit haben. Insbesondere sei in diesem Zusammenhang Gabriele Walther und meiner Mutter gedankt, die mir viel Verständnis und Geduld entgegenbrachten und mich gerade in schwierigen Phasen zu motivieren vermochten. Namentlich möchte ich außerdem meinem Cousin Martin Dortschy, Dr. Elisabeth Springer-Heinze und Dr. Andreas Springer-Heinze sowie Karin Lehmann und Dr. Ulrike Pfisterer danken, die mir in Einzelfragen in unkomplizierter Art und Weise mit Rat und Tat zur Seite standen.

Lebenslauf

Name: Amrit Monika Dortschy
Geburtsdatum: 31.03.1967 in Leipzig
Mutter: Monika Maria Dortschy, Schauspielerin

1973 bis 1983 10-jähriger Besuch der Polytechnischen Oberschule in Frankfurt/Oder

1983 bis 1985 2-jähriger Besuch der Erweiterten Oberschule in Frankfurt/Oder

1985 bis 1987 Schauspielstudium
Hochschule für Schauspielkunst "Ernst Busch" Berlin

1987 bis 1989 Schnittmeisterassistentin
DEFA-Studio für Synchronisation

1989 bis 1991 Bearbeiterin für Ökonomie
Humboldt-Universität Berlin
Fachbereich Landwirtschaft und Gartenbau

1991 bis 1997 Studium der Veterinärmedizin
Humboldt-Universität Berlin (bis 30.09.1992)
Freie Universität Berlin, Standort Mitte (ab 01.10.1992)

März 1997: Abschluss der Tierärztlichen Prüfung

April 1997: Approbation als Tierärztin

Juni bis August 1997 Mitarbeit in einer Kleintierklinik in Landegg / Österreich

Oktober 1997 bis 2003 Doktorandin am Institut für Veterinär-Pathologie der Freien Universität Berlin

April 2000 bis März 2001 Förderung der Dissertation durch ein Stipendium nach dem Gesetz zur Förderung des wissenschaftlichen Nachwuchses des Landes Berlin (NaFöG)

April 1999 bis Dezember 1999 Hospitantz in einer Kleintierpraxis in Berlin

Januar 2000 bis Juli 2003 Anfangsassistentz (Teilzeit) in einer Kleintierpraxis in Berlin

seit August 2003 Assistentin (Vollzeit) in einer Kleintierpraxis in Berlin

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt wurde. Ich habe keine anderen als die im Literaturverzeichnis aufgeführten Quellen benutzt.

Eine Promotionsarbeit über dieses Thema liegt noch nicht vor.

Berlin, den 03.02.2004

Amrit Dortschy