

In der vorliegenden Arbeit wurden immunhistologische Untersuchungen an Hautbiopsien von Hunden und Katzen mit verschiedenen Dermatopathien durchgeführt. Die Indikation zur Biopsieentnahme basierte auf einer gründlichen, zum Teil wiederholten klinischen Untersuchung. Untersucht wurden Hautbiopsien von insgesamt 71 hautkranken Hunden, 10 hautkranken Katzen sowie 17 hautgesunden Hunden, die als Vergleichsmaterial dienten. Die Gruppe der hautkranken Hunde enthielt neun Hunde mit bullösen autoimmunen Hautkrankheiten, 19 Hunde mit allergisch, 15 Hunde mit bakteriell und 10 Hunde mit endokrinologisch bedingten Hautkrankheiten, je zwei Hunde mit Dermatomykosen bzw. parasitären Hautkrankheiten, je ein Hund mit kutaner Leishmaniose und Color mutant alopecia. Bei weiteren 10 Hunden konnte die Ursache der Hautkrankheit nicht geklärt werden.

Die immunhistologische Untersuchung diente dem Nachweis von intraepithelial abgelagertem IgG, IgM und IgA sowie der Komplementkomponente C<sub>3</sub>, die bei bullösen autoimmunen Krankheiten in charakteristischer Form als interzelluläres Netzmuster und/oder als lineare Reaktion der Basalmembran nachweisbar sind. Die Untersuchung wurde an jeweils zwei, nach Möglichkeit aus der gleichen Hautlokalisation stammenden Biopsien durchgeführt. Eine Biopsie wurde in Michelschem Medium konserviert, die andere in neutralem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die immunhistologische Untersuchung erfolgte mit der direkten Immunfluoreszenzmethode am in Michelschem Medium konservierten Kryostatmaterial und mit der indirekten Immunperoxidase-methode am formalinfixierten Paraffinmaterial.

In der Gruppe der autoimmunen Hautkrankheiten bei Hunden waren mit beiden Methoden in acht von neun Fällen positive immunhistologische Befunde zu erheben: bei Pemphigus vulgaris und foliaceus ein interzelluläres Netzmuster, beim Pemphigus erythematodes ein interzelluläres Netzmuster und lineare Reaktion der Basalmembran und beim bullösen Pemphigoid eine lineare Reaktion der Basalmembran. Bezogen auf diese Erkrankungsgruppe stellen sich beide Methoden mit vergleichbarer Sensitivität dar. Die Vorteile der Immunperoxidase liegen in der gleichzeitig möglichen Beurteilung von histomor-

phologischen und immunhistologischen Befunden, der unbegrenzten Haltbarkeit der Präparate sowie der Untersuchung mittels normaler Lichtmikroskopie.

Auch bei nicht-autoimmun erkrankten Hunden waren in Einzelfällen mit beiden Methoden positive immunhistologische Befunde zu erheben. Hierbei waren mit der Immunperoxidase häufiger positive Ergebnisse zu verzeichnen als mit der Immunfluoreszenz. Bei bakteriellen Hautkrankheiten lag in der Immunperoxidase in acht von 15, in der Immunfluoreszenz in vier von 15 Fällen ein interzelluläres Netzmuster der Epidermis vor. Mit abnehmender Häufigkeit fanden sich auch in der Gruppe der ungeklärten Hautkrankheiten und bei allergisch bedingten Hautkrankheiten positive Befunde. In allen diesen Fällen wurde IgG nachgewiesen. IgM- und C<sub>3</sub>-Ablagerungen fanden sich nur in Einzelfällen, IgA-Ablagerungen waren nicht vorhanden. Diese positiven Befunde werden als Folge einer Durchtränkung der Epidermis mit Plasmabestandteilen, wie sie bei entzündlichen Veränderungen der Haut zu erwarten sind, verstanden. Immunglobuline, als wesentlicher Bestandteil des Plasmas werden dabei mit immunhistologischen Methoden nachgewiesen. Diese Hypothese unterstützend wurden bei endokrinen Hautkrankheiten, bei denen entzündliche Veränderungen der Epidermis minimal sind, keine Immunglobulinablagerungen nachgewiesen.

Bei der zur Kontrolle durchgeführten immunhistologischen Untersuchung von gesunder Mundschleimhaut des Hundes zeigte sich in der indirekten Immunperoxidase in acht von 10 Fällen für IgG und in allen 10 Fällen für C<sub>3</sub> ein interzelluläres Netzmuster im Epithel. Mittels direkter Immunfluoreszenz war in vier Fällen für IgG und in fünf Fällen für C<sub>3</sub> ein interzelluläres Netzmuster nachzuweisen. Eine Erklärung dieser Befunde ist nicht möglich. Demnach ist diese Lokalisation für die immunhistologische Untersuchung problematisch, da in der Mehrzahl der Fälle mit positiven Befunden zu rechnen ist, ohne daß eine autoimmune Pathogenese vorliegen muß.

Insgesamt stellen bei der Untersuchung von Hautbiopsien sowohl die Immunfluoreszenz- als auch die Immunperoxidasemethode wertvolle diagnostische Verfahren dar, die aber nur in Verbindung mit klinischen und histomorphologischen Befunden die Diagnose einer autoimmunen Hautkrankheit sichern können.

## 5. SUMMARY

Waltraud Zipfel:

### Immunohistological study of skin biopsies from dogs and cats with different dermatopathies with special consideration of autoimmune skin diseases

In this dissertation an immunohistological study of skin biopsies taken from dogs and cats with different dermatopathies was carried out. The indication for taking biopsies was based on thorough, partly repeated clinical examinations. Skin biopsies were studied from a total of 71 dogs and 10 cats with dermatological disorders and for comparison from 17 dogs without evidence of skin disease. The group of diseased dogs contained nine dogs with bullous autoimmune skin diseases, 19 dogs with allergic, 15 with bacterial and 10 dogs with endocrine skin diseases, two dogs with dermatomycosis, two dogs with parasitic skin diseases, one dog with cutaneous Leishmaniasis and one dog with Color mutant alopecia. In 10 dogs the aetiology of the skin disease was not elucidated.

With immunohistological techniques it was attempted to demonstrate intraepithelial deposits of IgG, IgM and IgA and the complement component C<sub>3</sub>. In bullous autoimmune skin diseases these deposits can be demonstrated as an intercellular reaction pattern and/or a linear reaction along the basement membrane. The immunohistological study was carried out on two biopsies, possibly taken from the same skin location. One biopsy was conserved in Michel's Medium, the other fixed in neutral formalin and embedded in paraffin. The immunohistological techniques applied were direct immunofluorescence on cryostat sections (Michel's Medium) and the indirect immunoperoxidase on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue.

In the group of autoimmune skin diseases in dogs positive results were obtained in eight out of nine cases: an intercellular reaction pattern in pemphigus vulgaris und foliaceus, an intercellular reaction pattern and a linear reaction at the basement membrane in pemphigus erythematosus, and a linear reaction at the basement membrane in bullous pemphigoid. It was found that both methods have comparable sensitivity. The advantage of the

immunoperoxidase method is the simultaneous evaluation of histomorphological and immunohistological findings, the unlimited preservation of the histological slides and the examination with normal light microscopy.

Furthermore, positive immunohistological results were obtained with both methods in few cases of non-autoimmune skin diseases in dogs. The immunoperoxidase method yielded positive results more frequently than the immunofluorescence method. In the group of bacterial skin diseases an intercellular pattern in the epidermis was seen in 8/15 cases using immunoperoxidase, and in 4/15 cases using immunofluorescence. With decreasing frequency positive results were obtained in the group of skin diseases with uncertain aetiology and in allergic skin diseases. In positive cases deposits of IgG were demonstrated. Deposits of IgM and C<sub>3</sub> were present only in individual cases and IgA deposits were never detected. These positive findings are considered as a sequel of an insudation of the epidermis with blood plasma, which is to be expected in inflammatory conditions in the skin. In this case, immunoglobulins among other proteins, are just constituents of the blood plasma. In support of this hypothesis immunoglobulin deposits were absent in endocrine skin disorders which mainly lack inflammatory changes.

As a control tissue the oral mucosa of normal dogs was studied with the indirect immunoperoxidase method. An intercellular reaction pattern of the epidermis was demonstrated in 8/10 cases for IgG and in all 10 cases for C<sub>3</sub>. With the direct immunofluorescence an intercellular reaction pattern was present in 4/10 cases for IgG and in 5/10 for C<sub>3</sub>. These findings are difficult to explain. However, it is clear that the oral mucosa is not suitable for an immunohistological examination in cases suspect for an autoimmune pathogenesis.

It is concluded that for the examination of skin biopsies, both the immunofluorescence and the immunoperoxidase methods, are valuable diagnostic procedures. They should always be used in conjunction with clinical and histomorphological findings in order to establish a diagnosis of autoimmune skin disease.