

## 5. ERGEBNISSE DER TRANSMISSIONSELEKTRONENMIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGEN

### 5.1 Die befiederte Haut

Im transmissionselektronenmikroskopischen Bild besitzen die untersuchten Proben der Rücken- und Brustepidermis eine durchschnittliche Dicke von 21,82  $\mu\text{m}$  (Variationsbreite: 20,00  $\mu\text{m}$  - 23,91  $\mu\text{m}$ ). Das Stratum corneum allein ist durchschnittlich 3,64  $\mu\text{m}$  (Variationsbreite: 2,42 - 5,37  $\mu\text{m}$ ) dick. Die lebende Epidermis ist aus 7 bis 8 Zellagen aufgebaut, deren Zellen in Richtung auf die Hautoberfläche kontinuierlich an Höhe abnehmen und gleichzeitig an Länge zunehmen (Abb. 9a). Ebenso verändern die Zellkerne ihre Form. Sie haben im Stratum basale ein rundliches bis hochovales Erscheinungsbild und flachen in Richtung auf die Oberfläche zu quereovalen Zellkernen ab. Die Zellen des Stratum basale sind von einer extrazellulären, kontinuierlichen Grenzschicht unterlagert, der Basalmembran, resp. der Membrana basalis (Abb. 9b). Sie trennt die Epidermis von der Dermis. Die Basalmembran lässt sich elektronenmikroskopisch in mehrere Untereinheiten unterschiedlicher Elektronendichte gliedern. Unmittelbar an die Zellmembran der Basalzellen angrenzend zeigt sich eine zirka 40 nm schmale, wenig elektronendichte Lamina rara. An diese schließt sich die etwas breitere, zirka 50 bis 60 nm dicke, stärker elektronendichte Lamina densa an. Zwischen beiden Schichten, die zusammen als Basallamina bezeichnet werden, sind sehr feine, fast unscheinbare, elektronenlichte Verbindungslinien zu erkennen. Als äußerer Anteil der Basalmembran, und damit unmittelbar an die Dermis angrenzend, schließt sich die Lamina fibroreticularis an.

#### 5.1.1 Das Stratum basale

Die Basalzellen sind über zahlreiche Halbdesmomen (Hemidesmosomen) auf der Basallamina verankert. Die basalen Zellmembranen der Basalzellen und die Basalmembran verlaufen überwiegend geradlinig (Abb. 9b). Selten treten intrazytoplasmatische Einfaltungen auf. Es ist eine mäßig bis starke Pinozytoseaktivität an der basalen Zellmembran der Basalzellen zu verzeichnen, die durch das mäßige bis zahl-

reiche Auftreten intrazellulärer Pinozytosevesikel zum Stoffaustausch mit dem gefäßführenden Bindegewebe deutlich wird.

Die Basalzellen besitzen eine kubische bis hochprismatische Form und bilden eine Lage aus relativ großen Zellen, die dicht und regelmäßig angeordneter sind. In dem zentral liegenden, überwiegend euchromatischen Zellkernen kommt meist ein deutliches Kernkörperchen vor. Die Kerne weisen häufig mehrere Einfaltungen der Kernmembran in das Karyoplasma auf, in denen nicht selten ein Golgi-Apparat zu beobachten ist. Neben maximal drei Golgi-Apparaten, die in einer Basalzelle gezählt worden sind, sind vor allem Mitochondrien vom Cristatyp, viele freie Ribosomen, rauhes endoplasmatisches Retikulum (rER) und selten glattes endoplasmatisches Retikulum vorhanden (Abb. 10a). Das rER kommt teilweise in Form abgeplatteter Säckchen mit einem spaltförmigen Lumen, aber auch als Bläschen mit erweiterten Zisternen von bis zu 200 nm vor. Fetteinlagerungen im Zytoplasma der Basalzellen in Form von Fetttropfen ohne Membrangrenzung sind selten. Daneben kommen als Zytoskelett Intermediärfilamente vor, die vornehmlich mit den Desmosomen (Maculae adherentes) und Hemidesmosomen in Verbindung stehen. Man nennt sie auch Tonofilamente. Einige kleine, im Zytoplasma liegende intermediäre Filamentbündel mit einem Durchmesser von zirka 50 nm treten ebenfalls auf (Abb 10a). Die Basalzellen sind untereinander und mit den Spinosazellen über zahlreiche Desmosomen verknüpft. Dabei ist die Anzahl und Größe dieser Zellkontakte zwischen den Basalzellen geringer als zu den Spinosazellen. Die Interzellularräume zwischen den Basalzellen sind überwiegend gleichmäßig eng, mit einer Weite von ungefähr 25 nm. Sie enthalten ein wenig elektronendichtes Material. Der Spalt zwischen den desmosomalen Haftplatten ist mit etwa 50 nm weiter. Selten treten blasige Erweiterungen in den Interzellularräumen zwischen den Basalzellen auf, die dann bis zu 0,6 µm weit sein können und häufig mit elektronendichtem, grobkörnigem Material angefüllt sind.

### 5. 1. 2 Das Stratum intermedium

Das Stratum spinosum, ein Teil des Stratum intermedium, besteht aus 5 bis 6 Zellagen. Die Spinosazellen sind im Vergleich zu den Basalzellen deutlich abgeflacht, so daß den zentral gelegenen Zellkern meist nur noch ein schmaler Zytoplasmasaum von den basalen und superfiziellen Zellgrenzen trennt. Die Spinosazellen der obersten Zellage sind am stärksten abgeplattet. Dort wo der Zellkern angeschnitten ist,

besitzt die Zelle meist ihre höchste Stelle. In Richtung auf ihre seitlichen Pole wird sie erheblich flacher und verjüngt sich kontinuierlich. Während beispielsweise eine durchschnittliche Basalzelle Ausmaße von etwa 8 µm Höhe und 6 µm Breite aufweist, hat eine durchschnittliche Spinosazelle aus der obersten Spinosazellreihe eine Höhe von zirka 5 µm (im Kernanschnitt) bzw. 3 bis 1,5 µm zu den Zellpolen hin und ist parallel zur Hautoberfläche bis zu 27,5 µm lang. Die Zellorganellen, die bereits im Stratum basale auftreten, kommen ebenfalls in den Spinosazellen vor. Mitochondrien und Golgi-Apparate kommen dabei in ähnlich großer Anzahl vor. Eine Zunahme ist bei den freien Ribosomen, die häufig als Polyribosomen (Abb. 10 b) formiert sind, und dem rauhen endoplasmatischen Retikulum zu verzeichnen. Im oberen Stratum intermedium degenerieren die Organellen und nehmen zahlenmäßig wieder ab. Während der Degenerationsphase sind die Mitochondrien relativ groß, weniger elektronendicht und weisen teils eine zerrissene Organellenmembran auf. Ihre Cristae sind nur noch schemenhaft zu erkennen und liegen teils ungeordnet im Zellorganelleninnenraum. Rauhes endoplasmatisches Retikulum ist in den oberen Zellreihen der lebenden Epidermis kaum noch nachzuweisen. Dafür gibt es eine große Anzahl freier Ribosomen. Erstmals im Stratum spinosum beobachtet man das Auftreten eines neuen Zellorganellentyps, die „multigranular bodies“. Ihre Zahl nimmt kontinuierlich während des Differenzierungsprozesses der Intermediärzellen zu. Reziprok zu dem Verfall der Zellorganellen nimmt das Zytoskelett in Form von Filamentbündeln unterschiedlicher Dicke, die vornehmlich in Richtung der Differenzierung orientiert sind, zu. Die Filamentbündel nehmen in ihrer Zahl und ihrem Durchmesser zu. So treten in den obersten Intermediärzellen Filamentbündel mit einem Durchmesser bis zu 101 nm auf. Neben diesen langen, elektronendichten Filamentbündeln kommen in den obersten Zellagen kurze, gleich elektronendichte, polymorph geformte Bündel vor, die hauptsächlich zellperipher liegen (Abb. 12 b). Sie treten häufig mit den zahlreichen Desmosomen der Intermediärzellen in Kontakt. Die Zellkerne sind im oberen Stratum intermedium nur noch selten angeschnitten. Die überwiegend engen Interzellularräume zwischen den Intermediärzellen sind durch zahlreiche Desmosomen überbrückt, wobei die Zellmembranen nur mäßig ineinander verzahnt sind.

Schon in der tiefsten Spinosazellage treten „multigranular bodies“ (MGBs) auf. Sie nehmen innerhalb der lebenden Epidermis zur Oberfläche hin an Zahl und Größe zu. Die „MGBs“ befinden sich im unteren Stratum spinosum hauptsächlich in Nähe der

superfiziellen Zellgrenze. Hier weisen sie eine Größe von 0,28 bis 0,48  $\mu\text{m}$  auf (Abb. 11a). Sie bestehen aus einem runden bis ovalen Körper, der durch eine dreilagige Hüllmembran begrenzt wird. Innerhalb befinden sich mehrere kleine Granula (Abb. 11a), die jeweils von einer Membran umgeben und mit parallel zueinander liegenden Lamellen angefüllt sind. Parallelität herrscht nur innerhalb der einzelnen Granula, während die Lamellenstapel verschiedener Granula in der Regel unterschiedlich orientiert sind. Es wechseln sich elektronendichte und weniger elektronendichte Lamellen kontinuierlich ab. Dieses typische Aussehen besitzen diese Organellen nicht immer. Nicht selten tritt innerhalb aller oder auch nur einiger Granula an Stelle der lamellären Strukturen ein feinkörniges, mittelstark elektronendichtes Material auf. Andererseits können die „multigranular bodies“ auch nur als mit einer Membran ummantelte Organellen, die einen elektronendichten, feinkörnigen Inhalt besitzen, vorkommen (Abb. 11c). Es treten auch „lamellar bodies“ auf, die denen der Säugetiere entsprechen, nämlich ein mit einer Membran ummanteltes Körperchen, dessen Inhalt vollends mit parallel angeordneten Membranstapeln angefüllt ist, ohne granuläre Untereinheiten aufzuweisen (Abb. 12 a). Im oberen Stratum spinosum sind die „multigranular bodies“ zu einer großen Anzahl angewachsen. Sie liegen in den abgeflachten Zellen zentral über die gesamte Länge der Zelle hinweg verteilt. Sie befinden sich größtenteils direkt nebeneinander und bilden kleine Kolonien. Hier erreichen sie eine Größe bis zu 0,7  $\mu\text{m}$ . Bei einigen „MGBs“ sind die umgebenden Membranen eingerissen und Teile der Lamellenstapel liegen frei im Zytoplasma. Andere liegen sehr eng beieinander und sind teilweise von einer gemeinsamen Membran umgeben, was den Schluß nahe legt, daß sie miteinander verschmelzen. Dieses Phänomen sieht man nur in den obersten Lagen des Stratum intermedium resp. in den obersten Spinosazellagen und im Stratum transitivum. Innerhalb einiger „multigranular bodies“ treten runde bis ovale, elektronenlichte bis mäßig elektronendichte Areale auf, die sich von dem elektronendichteren Rest des Organells abheben. Sie gleichen dem Bild herausgelöster Fetttropfen.

Die Anzahl und Größe der intrazellulären Fette bzw. Fetttropfen (Abb. 12a) nehmen in der obersten Zellreihe der Spinosazellschicht, die unmittelbar an das Stratum transitivum angrenzt, abrupt zu. Sie liegen diffus in der Zelle verteilt und häufig benachbart zu den „multigranular bodies“. Das nach der histologischen Probenverarbeitung vollständig oder auch nur teilweise herausgelöste Fett hinterläßt helle, meist runde

Areale, die Durchmesser bis zu 1  $\mu\text{m}$  aufweisen können (Abb. 12 a). Wenn Reste von Fett verblieben sind, befinden sie sich überwiegend als mittelstark elektronendichte Substanz am Rand der Vakuole. Einige wenige dieser optisch leeren Räume sind von einer Membran umhüllt, was für normale neutrale Fetteinschlüsse wie Fettsäuren, Triglyzeride, Cholesterin oder Steroide, die als Fetttropfen im Zytoplasma abgelagert werden, völlig untypisch ist. In wenigen dieser membranumhüllten leeren Räume befinden sich randständige Reste des sonst herausgelösten Materials, das lamelläre Strukturen erkennen lässt, wie sie in den „multigranular bodies“ vorkommen. Dort wo das Fett noch im Gewebe erhalten geblieben ist, tritt es in Form mäßig elektronendichter (mittelgrauer) Tropfen auf, die in sich homogen sind oder schon teilweise kleine, helle, runde Herauslösungen aufweisen. Je weiter die Keratinozyten differenziert sind, um so vollständiger ist die Herauslösung des Fettes und um so größer sind die verbleibenden optisch leeren Vakuolen. In den obersten Spinosazellen treten runde bis ovale Vakuolen auf, die einen Durchmesser bis zu 8,5  $\mu\text{m}$  aufweisen können.

Ein Stratum granulosum ist in den untersuchten Hautarealen des Rückens und der Brust nicht vorhanden.

### 5. 1. 3 Das Stratum transitivum

Das Stratum transitivum besteht als oberflächlichste Schicht des Stratum intermedium aus einer diskontinuierlichen Zellage, das heißt, nicht an jeder Stelle der Epidermis tritt zwischen Stratum spinosum und Stratum corneum eine Übergangszelle auf. Die Transitivumzellen sind mit gemessenen Zellhöhen von 0,56  $\mu\text{m}$  (Zellpole) bis 1,62  $\mu\text{m}$  (Zellmitte) weiter abgeflacht. Sie besitzen ein typisches, spongiöses Aussehen, das durch das Auftreten zahlreicher herausgelöster Fetttropfen und durch die abrupt einsetzende Verhornung gekennzeichnet ist. Größtenteils sind die runden, elektronenleichten Vakuolen miteinander verbunden, was im Zentrum der Zelle zu einem optisch leeren, durchgängigen, langgezogenen Raum führt (Abb. 12b). In der Peripherie der Transitivumzellen kommt ein zirka 0,2  $\mu\text{m}$  breites, bei 40.000 facher Vergrößerung nahezu homogenes Band aus verdichteten Keratinfilamenten von mittlerer Elektronendichte vor (Abb. 12b). Stellenweise befinden sich innerhalb

dieses „Keratinbandes“ kleine runde, diffus verteilte Aufhellungen. Zwischen diesem Band und der eigentlichen Zellmembran ist das elektronendichte, schmale „marginale Band“ (Abb. 12b, Einleger) sichtbar, dessen Elektronendichte ausgeprägter ist, als die des sich nach innen anschließenden, breiten Bandes aus Keratinfilamenten. Im Bereich der Desmosomen ist das stark elektronendichte „marginale Band“ durch wenig elektronendichte Abschnitte unterbrochen (Abb. 12b, Einleger). Die Desmosomen zwischen Transitivumzellen und Hornzellen sind in ihrer typischen Struktur gut erkennbar. Sie besitzen eine ungefähre Länge von 250 nm und eine Breite von zirka 80 nm. Im Zentrum der Zellen sind wenige Zellorganellenreste vorhanden. Selten kann ein Kernrest beobachtet werden. Der Interzellularraum zwischen den Übergangszellen und zwischen Übergangs- und Hornzellen ist überwiegend eng. Im Interzellularraum befindet sich meist ein kontrastreiches, fein- bis grobkörniges Material. Membranstapel sind im Interzellularraum nicht nachzuweisen.

Die „multigranular bodies“ sind als vollständiges Zellorganell, resp. als membranumhülltes Körperchen mit Membranstapeln, nur noch selten vorhanden. Häufig sind „MGBs“ mit zerrissenen umhüllenden Membranen zu beobachten. Der Verband der Lamellen, die ursprünglich zu Membranstapeln geordnet vorliegen, löst sich auf, mit der Folge eines zunehmenden Parallelitätsverlustes. Die Hüllmembran löst sich, und es treten frei im Zytoplasma liegende, einzelne Membranstapel ohne Membranhüllung oder auch nur einzelne Membranen im Zentrum der Übergangszellen auf. Stellenweise kann man innerhalb der zerfallenden „MGBs“ runde Aufhellungen ausmachen. In einigen Zellen können weder die „multigranular bodies“ noch deren Bestandteile gefunden werden.

#### 5. 1. 4 Das Stratum corneum

Die Hornzellagen des Stratum corneum sind auch im Elektronenmikroskop nur schwierig eindeutig zu bestimmen<sup>1</sup>, wobei die größte, gezählte Anzahl 22 Hornzellagen betrug. Die Zellen sind stark abgeflacht und je weiter sie zur Oberfläche vorgeschoben werden, um so flacher werden sie (Abb. 3a). Die Höhe einer durchschnittlichen jungen Hornzelle aus der basalsten Reihe des Stratum corneum bewegt sich in einem Rahmen von 0,70 bis 0,50  $\mu\text{m}$ . Die darüberliegende etwas ältere Hornzelle kann bereits auf 0,40  $\mu\text{m}$  abgeflacht sein. Eine alte Hornzelle, etwa in der 15ten Hornzellage, besitzt durchschnittlich eine Höhe von 0,05  $\mu\text{m}$ . Innerhalb der Hornzellen bleibt während der Verhornung bis in die oberste Hälfte des Stratum corneum intrazellulär ein heller, optisch leerer, spaltförmiger Raum (Abb. 13) vorhanden, der mit dem Interzellularraum verwechselt werden kann. Dieser helle, zentral gelegene, längliche Raum innerhalb der Hornzellen wird in Richtung auf die Oberfläche immer schmaler. Die jüngsten Hornzellen besitzen noch einen relativ breiten, häufig noch diskontinuierlichen - sich nicht durch die gesamte Länge der Zelle ziehenden - optisch leeren Zentralspalt (Abb. 13a). Er erscheint einerseits als eine Aneinanderreihung optisch leerer, runder bis ovaler Vakuolen (Abb. 14a), die noch ganz oder ansatzweise von elektronendichtem Material wie Organellenresten oder Keratinfilamenten, getrennt sind. Dieses dunkelgraue, elektronendichte Material ist teils homogen, teils mit zahlreichen, überwiegend parallel übereinander liegenden Lamellenstapeln, mit sich regelmäßig abwechselnder Elektronendichte - wie die Membranstapel der „multigranular bodies“ - durchsetzt (Abb. 14a). Eine membranöse Umhüllung dieser Lamellenstapel gibt es nicht (Abb. 14a, b). Mit dem Fortschreiten der Verhornung bildet sich intrazellulär ein durch die ganze Zelle ziehender optisch leerer Zentralspalt, in dem sich stellenweise eine hellgraue, homogene Substanz befinden kann. Etwa ab der 4. bis 5. Hornzellage ist das „marginale Band“ nicht mehr elektronenmikroskopisch nachzuweisen (Abb. 13c), ebenso kann in diesem Bereich auch keine Zellmembran elektronenoptisch mehr dargestellt werden. Die Elektronendichte des Keratins nimmt ebenfalls ab (Abb. 13c). Zwischen den jungen Hornzellen

---

<sup>1</sup> Dies liegt daran, daß zum einen bei der Bearbeitung der transmissionselektronenmikroskopischen Proben die Hornzellschicht teilweise oder auch ganz verloren gehen kann. Es kam nicht selten vor, daß bei einigen Ultradünnschnitten nur noch die lebende Epidermis und die Lederhaut vorhanden waren. Bei anderen Schnitten fand man das Stratum corneum abgelöst und in einem erheblichen Abstand von der lebenden Epidermis entfernt innerhalb des Ultradünnschnitts liegend. Zum anderen sind die Hornzellen je älter um so ausgeprägter - außerordentlich dünn und aufgrund ihrer intrazellulären hellen, langgestreckten Räume nur schwer von den Interzellularräumen abzugrenzen.

sind die Interzellularräume relativ regelmäßig weit mit Ausmaßen von 0,48 bis 0,79  $\mu\text{m}$  (Abb. 13a). Teilweise treten auch kleinblasige Erweiterungen auf. Die Interzellularräume zwischen den älteren Hornzellen ab der 4. bis 5. Zellage sind in der Regel sehr weit. Sie sind elektronenlicht und enthalten kaum Material (Abb. 13c). Im Bereich der Desmosomen, die nur noch andeutungsweise zu erkennen sind, gibt es noch enge Kontakte zwischen den jüngeren Hornzellen. Der Kontakt durch die Desmosomen geht im weiteren Verlauf der Differenzierung verloren. Außen an den dünnen Hornlamellen befinden sich kleine, stark elektronendichte, längliche Strukturen mit einer durchschnittlich gemessenen Länge von 60 bis 140 nm und einer Breite von ungefähr 40 bis 10 nm (Abb. 13a).

Morphologische Unterschiede in der Ultrastruktur der gemeinen befiederten Haut von biotinsupplementierten Tieren und von Biotinmangeltieren sind nicht erkennbar.

#### 5. 1 .5 Die TEM-Enzymnachweise in der befiederten Körperhaut

##### Die Thiaminpyrophosphatase und saure Phosphatase

Eine Enzymaktivität der Thiaminpyrophosphatase und der sauren Phosphatase sind weder in der Lederhaut noch in der Epidermis der untersuchten Brust- und Rücken-hautproben nachweisbar.

##### Die Adenosintriphosphatase

In Hautproben von biotinsupplementierten Tieren verläuft der Nachweis der Adenosintriphosphatase in der Oberhaut negativ, in der Lederhaut hingegen positiv. Enzymaktivität läßt sich hauptsächlich in den Gefäßen der Lederhaut nachweisen. In den dort vorkommenden ungefensterten Kapillaren und postkapillären Venolen sind schwarze, punktförmige Niederschläge in den Bereichen, wo die Endothelzellmembranen an die kontinuierliche Basallamina angrenzt und in der Basallamina selbst festzustellen. In den Zellmembranabschnitten der Endothelzellen, die an Nachbarendothelzellen grenzen, kommen nur geringe, positive Reaktionsprodukte vor. Die dem Kapillarlumen zugewandten Endothelzellmembranabschnitte reagieren negativ auf den Nachweis. Die stärkste Enzymaktivität weist die Basallamina auf, die



die Endothelzellen gegenüber den Perizyten trennt und die Perizyten ebenfalls vollständig umgibt.

Die Hautproben von Biotinmangeltieren reagieren auf den Aktivitätsnachweis der Adenosintriphosphatase sowohl in der Epidermis als auch in der Lederhaut und speziell in den Gefäßen vollständig negativ.

## 5.2 Die Schuppenhäute der „reticulate scales“ und der „scutate scales“

Die Differenzierung der Epidermis beider Schuppenhäute verläuft sehr ähnlich. Daher soll die Keratinisierung und Verhornung der Keratinozyten, resp. der Korneozyten in der Haut der „reticulate scales“ ausführlich beschrieben werden und in der Haut der „scutate scales“ nur auf Besonderheiten eingegangen werden.

### 5.2.1 Die Schuppenhaut des Metatarsalballens („reticulate scales“)

#### 5.2.1.1 Das Stratum basale

Die hochprismatischen Basalzellen der Epidermis des Mittelfußballens besitzen eine Höhe bis zu 10  $\mu\text{m}$  und eine Breite von durchschnittlich 4,2  $\mu\text{m}$ . Sie stehen mit der Basallamina, die ein Teil der Basalmembran ist, über deutliche elektronendichte Hemidesmosomen in Kontakt (Abb. 15b). Die Basallamina mißt eine Dicke zwischen 0,06 und 0,1  $\mu\text{m}$ . Von den Hemidesmosomen gehen Tonofilamente ins Zellinnere ab. Sie sind relativ kurz und werden stellenweise von feinen, parallel zur basalen Zellmembran verlaufenden Intermediärfilamenten durchzogen und bilden somit ein schmales, lockeres, zellperipheres Netzwerk. An der basalen Zellmembran der Basalzellen sind häufig kleine Pinozytosevesikel zu sehen. Die Basalzellen der „reticulate scales“ weisen im Verhältnis zu den Basalzellen der Brust- und Rückenhaut ein bereits relativ gut ausgeprägtes Zytoskelett auf. Im Zytoplasma liegen viele kleine Filamentbündel mit Durchmessern von 40 bis 125 nm, deren Filamentfasern locker miteinander verbunden sind. Der Verlauf der Filamentfasern und Filamentfaserbündel ist weitgehend parallel zueinander und liegt überwiegend in einer senkrechten Achse zur Basalmembran. Der Zellkerne liegen meist zentral und besitzen einige kurze Einziehungen der Kernmembran in das Kerninnere. Sie haben eine runde bis

hochovale Form und nehmen etwa ein Drittel des Zellinhaltes ein (Abb. 15a). Der perinukleäre Raum ist etwa 40 nm breit. Die äußere Kernmembran ist größtenteils mit Ribosomen besetzt. Nicht selten treten in unmittelbarer Nähe zum Kern helle, optisch leere Räume auf (Abb. 15a). Selten ist der Zellkern sogar völlig von einem zytoplasmafremen Raum umgeben. Die in relativ großer Anzahl vorhandenen Mitochondrien vom Cristatyp liegen meist in unmittelbarer Nähe zum Zellkern. Die Anschnitte sind rund bis oval und besitzen einen Querdurchmesser (runde Anschnitte) von ungefähr 0,40 bis 0,64  $\mu\text{m}$  (Abb. 15b). Längsanschnitte von Mitochondrien können ein Ausmaß bis zu 1,26  $\mu\text{m}$  aufweisen. Weiterhin kommen in mäßiger Anzahl Golgi-Apparate vor, die ebenfalls sehr nah am Zellkern liegen. Rauhes endoplasmatisches Retikulum mit bis zu 80 nm weiten Zisternen und freie Ribosomen treten ebenfalls in mäßiger Anzahl auf. Die seitlichen Zellmembranen zwischen den Basalzellen sind nur mäßig ineinander verzahnt und besitzen als Zellkontakte einige Desmosomen. Der Interzellularraum zwischen den Basalzellen ist vorwiegend eng mit einer Weite von ungefähr 25 nm. Zwischen den Haftplatten der Desmosomen erweitert sich der Interzellularspalt auf ungefähr 70 bis 100 nm. Gelegentlich treten interzelluläre Erweiterungen zwischen den seitlichen Basalzellmembranen mit Ausmaßen bis zu 380 nm auf. Diese blasigen Erweiterungen enthalten teils elektronendichtes Material, in dem kleine, stärker elektronendichte Körnchen liegen oder homogenes bis feinkörniges Material von mittlerer Elektronendichte.

Die Anzahl der Fettropfen in den Basalzellen der Oberhaut der „reticulate scales“ ist größer als in den Basalzellen der befiederten Haut. Die zytoplasmatischen Fetteinlagerungen treten in Form membranloser Tropfen in mäßiger Anzahl auf, die überwiegend vollständig erhalten sind (Abb. 15b). Nur in der Peripherie dieser Tropfen ist nahezu regelmäßig ein heller, schmaler Saum sichtbar (Abb. 15b). Die Fettropfen besitzen hier einen Durchmesser von ungefähr 0,32 bis 0,60  $\mu\text{m}$ .

In der Haut von Biotinmangeltieren treten zwischen den Basalzellen und zwischen den Basal- und Spinosazellen stark erweiterte Interzellularräume auf (Abb. 20a). Sie haben Ausmaße bis zu 1  $\mu\text{m}$  Weite. Es treten Zusammenhangstrennungen zwischen den Basalzellen untereinander und zu den Spinosazellen auf, die auch den Bereich der Desmosomen einschließen (Abb. 20b). Neben den elektronenoptisch leeren Interzellularräumen existieren vereinzelte Inseln aus wenig elektronendichtem,

feinkörnigem Material (Abb. 20a).

#### 5. 2. 1. 2 Das Stratum intermedium

Das Abflachen der Zellen im Stratum spinosum passiert im Vergleich zu den Spinosazellen der Brust- und Rückenhaut nicht so abrupt. Die untersten 3 bis 4 Zellagen weisen noch eine hochprismatische Zellform auf (Abb. 16a), die dann allmählich über eine kubische Gestalt in eine abgeflachte, längliche Zellform übergeht. Die Zellkontakte zwischen den Basalzellen und den darüberliegenden Spinosazellen sind zahlreich vorhanden. Der Interzellularraum zwischen den beiden Haftplatten der Desmosomen ist bis zu 50 nm breit. Der Interzellularraum außerhalb der Desmosomen ist mit ungefähr 25 nm deutlich enger. Vereinzelt treten kleine Erweiterungen im Zellzwischenraum auf, die mit überwiegend homogenem, mäßig elektronendichtem Material angefüllt sind. Die Zellorganellen der Spinosazellen sind Mitochondrien, Golgi-Apparat, rER, frei im Zytoplasma liegende Ribosomen, wenig sER und in Größe und Anzahl zunehmende „multigranular bodies" (Abb. 16b, c). Mit Ausnahme der Mitochondrien, die in etwa gleich großer Zahl vorliegen, nimmt der Zellorganellenbesatz vorerst innerhalb der Spinosazellschicht zu. Das Zytoskelett wird während der Differenzierung ebenfalls dichter. In den oberen Spinosazellagen kommen lange Intermediärfilamentbündel mittlerer Elektronendichte vor, die Durchmesser von 280 nm bis maximal 550 nm - dann bestehend aus mehreren aneinander gelagerten Filamentbündeln - aufweisen. Sie besitzen bei einer Vergrößerung von 25.000 fach eine homogene Struktur.

Bis zur siebten Spinosazellage zeigen die Zellen einen kompakten Inhalt, der kaum elektronenoptisch leere Vakuolen enthält. Etwa ab der achten Spinosazellage werden die Spinosazellen zunehmend spongiös (Abb. 17a). Sie weisen eine große Anzahl von runden bis ovalen, scheinbar miteinander verschmelzende (Abb. 17a), nahezu strukturleere Areale auf, die häufig mit einer Membran ummantelt sind (Abb. 17, 18b). In diesen oberen Spinosazellen beherrschen diese leeren Räume mit nahe beieinander liegenden, in großer Anzahl vorkommenden „multigranular bodies" (Abb. 17a), durchflochten von Keratinfilamentbündeln das Bild, bis sie fließend von Übergangszellen fortgesetzt werden. Die Interzellularräume zwischen den Spinosazellen sind überwiegend eng mit wenigen kleinblasigen Erweiterungen von bis zu 0,24 µm.

Ab der zweiten Spinosazellage treten überwiegend im oberen Bereich der Zellen

einige kleine, meist rundliche bis ovale Anschnitte von membranumhüllten Körperchen, den „multigranular bodies“ auf. Sie besitzen hier eine Größe von 80 bis 240 nm. Die zirka 80 nm großen „MGBs“ weisen einen homogenen, elektronendichten Inhalt auf. Lamelläre Strukturen sind im Inneren nicht zu beobachten. In den „multigranular bodies“ bis zu einer Größe von 130  $\mu\text{m}$  sind meistens keine granulären Untereinheiten innerhalb des Organells zu sehen. Einige dieser Organellen enthalten Membranstapel, die jedoch häufig nicht vollständig den Organelleninhalt ausfüllen. Andere sind von einem weitgehend homogenen, elektronendichten Inhalt angefüllt. Im mittleren Bereich des Stratum spinosum, zirka ab der 4. bis 6. Zellage, treten „MGBs“ auf, die eine Größe zwischen 280 nm und 825 nm besitzen (Abb. 16 b, c). In den gleichen Zellen kommen sowohl kleine als auch große „MGBs“ vor. Die „multigranular bodies“ ab 200 nm Durchmesser zeigen schon häufiger deutliche Membranstapel, die entweder das gesamte Organell oder nur einen Teil dessen ausfüllen. Selten treten hingegen granuläre Untereinheiten innerhalb der Organellen auf. Erst in „MGBs“ ab einer Größe von zirka 300 nm sind granuläre Untereinheiten deutlich innerhalb des membranummantelten Organells zu beobachten. Je größer die „MGBs“, um so größer sind auch die granulären Untereinheiten. Ein beispielsweise 225 nm großes „multigranular bodie“ besitzt mehrere kleine Granula mit Durchmessern von 50,25 bis 75,40 nm, während ein „MGB“ von 525 nm, in derselben Zelle vorkommend, im Inneren Granula mit Durchmessern von 100 bis 176 nm besitzt, die je mit einem Lamellenstapel angefüllt sind. Im obersten Stratum spinosum nimmt die Anzahl der „MGBs“ zu. Ab der siebten Zellage liegen die „MGBs“ häufig zu Kolonien zusammengeschlossen vor. Nicht selten sind im Zentrum der stark abgeflachten Spinosazellen bis zu acht Organellen auf einem engen Areal zu beobachten (Abb. 17a). Neben den runden bis ovalen Formen treten auch einige bizarre Formen auf. Sie können relativ langgezogen, mit oder ohne hantelförmiger Einschnürung, oder auch länglich krumm sein. In den oberen Lagen der Spinosazellen überwiegen die „MGBs“ mit Durchmessern zwischen 500 und 650 nm. Es treten jedoch auch „MGBs“ mit Größen um 200 nm auf, die wiederum selten Granula enthalten. Die großen „multigranular bodies“ weisen in der oberen Spinosazellschicht oft helle, kreisrunde Herauslösungen unterschiedlichen Ausmaßes in ihrem Inneren auf (Abb. 16b). Herauslösungen größten Ausmaßes, wie sie in der obersten Spinosazellreihe am häufigsten zu sehen sind, stellen sich als große, optisch leere, meist runde bis ovale Areale dar, die in der Peripherie nur noch einen schmalen Saum elektro-

nendichten, homogenen Materials aufweisen (Abb. 16a). Stellenweise finden sich in dem elektronendichten randständigen Material einige mehr oder weniger parallel zueinander liegende Lamellen. Es treten Verschmelzungen dieser „vakuolisierten MGBs“ auf, in denen noch einzelne Spangen zu sehen sind, die die einst eigenständigen Vakuolen andeutungsweise oder vollständig trennen (Abb. 18 a). Diese vereinigten „vakuolisierten MGBs“ haben Ausmaße von bis zu 2,5  $\mu\text{m}$  (Abb. 18a). Zwischen diesen großen, hellen Arealen liegen in enger Nachbarschaft „MGBs“, die ihr typisches Aussehen noch nicht verloren haben.

Die intrazellulären Fette nehmen innerhalb des Stratum spinosum während der Differenzierung in dem Maße zu, in dem sich die „multigranular bodies“ zu neutralen Fetten umwandeln. Das Fett ist in der Regel aus dem Zytoplasma herausgelöst, so daß nur noch elektronenoptisch leere, meist runde Areale zurückbleiben (Abb. 18a). Sowohl die Anzahl als auch die Größe der optisch leeren Areale nehmen zu. Peripher dieser Areale sind gelegentlich noch homogene Fettreste von mittelgradiger Elektronendichte sichtbar, die teilweise einige parallel zueinander liegende Lamellen enthalten. Einige dieser zytoplasmatischen Fetteinlagerungen sind teilweise von einer Membran umgeben (Abb. 18b), was für neutrale Fetttropfen untypisch ist. In unmittelbarer Nachbarschaft zu diesen elektronenoptisch leeren Arealen liegen häufig „MGBs“ (Abb. 18), die teils noch ihre typische Form oder schon degenerative Erscheinungen aufweisen, wie den Verlust der Parallelität innerhalb der Membranstapel, zerrissene Organellenmembranen oder helle Herauslösungen (Abb. 18b) innerhalb der Organelle.

Bei Biotinmangeltieren zeigt der epidermale Zellverband ein unruhiges, uneinheitliches Bild durch das Auftreten von einigen Zellen, die ein sehr helles, sehr lockeres Zytoplasma besitzen (Abb. 21a). Zellorganellen sind in diesen Zellen nicht deutlich auszumachen. Außerdem kommen ab dem mittleren Stratum spinosum riesige, blasige Erweiterungen in den Interzellularräumen vor, die Durchmesser bis zu 19  $\mu\text{m}$  (Abb. 21b) und mehr erreichen. Ihre Verbindung zum weniger stark erweiterten Interzellullarraum ist elektronenmikroskopisch eindeutig nachweisbar (Abb. 21a, b; 22). Die blasigen interzellulären Erweiterungen enthalten sehr feinkörniges bis homogenes Material von mittlerer bis geringer Elektronendichte. Innerhalb der interzellulären Blasen liegen häufig kleinere, membranumhüllte Inseln mit ebenfalls feinkörni-

gem, mäßig elektronendichtem Inhalt (Abb. 21b). Es kommen darin auch helle, optisch leere, runde bis ovale Areale vor, wie sie bei herausgelöstem Fett gesehen werden können (Abb. 21b). Sie befinden sich auch häufiger in weniger stark erweiterten interzellulären Abschnitten. Nicht selten sind blasige Vorstülpungen benachbarter Zellen in den stark erweiterten Interzellularraum zu beobachten, die im Unterschied zum Rest der Zelle ein weniger elektronendichtes fein- bis grobkörniges Zytoplasma aufweisen (Abb. 21b), das den kleinen membranumhüllten Inseln in den blasigen Erweiterungen gleicht. In den blasig erweiterten Interzellularräumen sind teilweise an der Grenze zu benachbarten epidermalen Zellen Doppelmembranen deutlich darzustellen (Abb. 22c - Einleger). Seltener kommen Erweiterungen des Interzellularraumes vor, die eindeutig Reste von Zellkernen und Zellorganellen enthalten (Abb. 23a).

Innerhalb der stark veränderten, suprapapillären Epidermisareale konnten keine „MGBs“ oder Membranstapel beobachtet werden.

### 5. 2. 1. 3 Das Stratum transitivum

Anders als bei der dünnen, befiederten Haut, besitzt das Stratum transitivum des Metatarsalballens ein bis zwei kontinuierliche Zellagen. Innerhalb dieser Zellschicht tritt das stark elektronendichte „marginale Band“ auf, das auf Höhe der desmosomalen Zellkontakte unterbrochen ist (Abb. 19a). Im Stratum transitivum setzt sich der Prozeß der zunehmenden Degeneration der Zellorganellen und der Zellkerne fort. Die Keratinfilamentbündel lagern sich zu breiten Keratinmassen zusammen, die meist in der Zellperipherie lokalisiert sind. Die „MGBs“, die hier eine Größe bis 0,7 nm aufweisen können, wandeln sich zunehmend zu Fett um und verschmelzen zu großen optisch leeren Vakuolen, die noch stellenweise Lamellen aufweisen können. Es ergeben sich daraus bis zu 0,8 nm große Fettvakuolen. Diese sind im Zellzentrum angesiedelt. Nicht selten treten frei im Zytoplasma liegende, kleine Lamellenstapel oder einzelne Lamellen auf.

Bei Biotinmangeltieren treten im Stratum transitivum großblasige Erweiterungen der Interzellularräume auf, wie sie schon im Stratum spinosum beschrieben wurden.

#### 5. 2. 1. 4 Stratum corneum

Die jungen Hornzellen enthalten in ihrem Inneren Schollen aus homogenem, elektronendichtem Hornmaterial, die durch helle, wenig elektronendichte Spalten getrennt sind (Abb. 19a). In der Zellperipherie liegt das Hornmaterial meist als breites Band dem „marginalen Band“ von innen an. Zwischen den Hornschollen sind häufig lamelläre Strukturen zu beobachten, die im periodischen Wechsel elektronendichte und weniger elektronendichte Lamellen aufweisen (Abb. 19b).

Die Hornzellen in der Haut von Biotinmangeltieren zeigen innerhalb der jungen Hornzellen vermehrt Kernreste und Fetttropfen mit vollständigem Inhalt. Die Keratinmassen zeigen ein inhomogenes Aussehen. Die Hornzellen besitzen bis in die alten Hornschichten hinein ein sehr kompaktes Zellgefüge, das kaum sichtbare Interzellularräume aufweist.

#### 5. 2. 1. 5 Die TEM-Enzymnachweise in der Haut der „reticulate scales“

##### Die Thiaminpyrophosphatase und die sauren Phosphatase

Weder in der Haut von biotinsupplementierten Tieren noch von Biotinmangeltieren kann eine Enzymaktivität der Thiaminpyrophosphatase und der sauren Phosphatase nachgewiesen werden.

##### Die Adenosintriphosphatase

Wie schon für die befiederte Körperhaut beschrieben, verläuft auch in der Haut der „reticulate scales“ von biotinsupplementierten Tieren der Nachweis der Adenosintriphosphatase in der Oberhaut negativ, in der Lederhaut hingegen positiv. Enzymaktivität läßt sich hauptsächlich in den Gefäßen der Lederhaut nachweisen. In den ungefensterten Kapillaren sowie den Arteriolen und Venolen sind schwarze, punktförmige Niederschläge in den Zellmembranen der Endothelzellen und der kontinuierlichen Basallamina festzustellen, wobei die Endothelzellmembranen, die an Nachbarendothelzellen grenzen, nur wenig positive Reaktionsprodukte aufweisen. Die dem Kapillarlumen zugewandten Endothelzellmembranabschnitte reagieren negativ auf den Nachweis. Die stärkste Enzymaktivität weist die Basallamina auf, die Endothelzellen und Perizyten voneinander trennt, und die Perizyten ebenfalls vollständig umgibt (Abb. 24a). Bei Biotinmangeltieren reagieren die Hautproben auf den Aktivitäts-

nachweis der Adenosintriphosphatase sowohl in der Epidermis als auch in der Lederhaut und speziell in den Gefäßen absolut negativ (Abb. 24b).

### 5. 2. 2 Die Schuppenhaut dorsal am Tarsometatarsus („scutate scales“)

Wie bereits in der Literaturübersicht beschrieben, ist die Epidermis der „scutate scales“ in verschiedene Abschnitte einzuteilen. Der äußere Epidermisabschnitt unterliegt der harten Verhornung, deren Resultat eine Schuppe ist. Der Bereich zwischen den Schuppen wird in den inneren Epidermisabschnitt und in die Scharnierregion („hinge“) eingeteilt. Beide unterliegen der weichen Verhornung. Die Zuordnung der Ultradünnschnitte zu den verschiedenen Abschnitten der „scutate scales“ erfolgte hauptsächlich anhand der deutlich unterschiedlichen Verteilung der Fetttropfen innerhalb der lebenden Epidermis.

#### 5. 2. 2. 1 Das Stratum basale

In den Basalzellen des äußeren Epidermisabschnittes befindet sich eine große Anzahl von Fetttropfen, die zum ganz überwiegenden Teil im Zytoplasma fixiert sind, also nicht während der Bearbeitung der Proben herausgelöst wurden. Im Gegensatz zu den aus „multigranular bodies“ entstehenden Fetttropfen, weisen diese keine Membranstrukturen auf. Bei Biotinmangeltieren sind die in den Basalzellen befindlichen Fetttropfen zahlenmäßig vermehrt. Pro Basalzellanschnitt wurden maximal 100 Fetttropfen, mit Durchmessern zwischen 0,2 und 1,6 µm, gezählt. Die Fetttropfen liegen überwiegend in den basalen Abschnitten der Basalzellen und verdrängen die Zellkerne und andere Zellorganellen wie die Mitochondrien in die oberen Bereiche der Zellen. Die Kernmembran wird durch die dicht gedrängten Fetttropfen in das Karyoplasma vorgeschoben. Zwischen den Fetteinlagerungen liegt eine relativ große Anzahl von weitlemigem, glattem endoplasmatischem Retikulum.

Die Basalzellen des inneren Epidermisabschnittes und der Scharnierregion weisen eine geringe Anzahl an Fetttropfen auf, die bei Biotinmangel unverändert bleibt.



#### 5. 2. 2. 2 Das Stratum intermedium, Stratum transitivum und Stratum corneum

Die epidermale Differenzierung in den äußeren Epidermisabschnitten der „scutate scales“ verläuft ähnlich wie im Metatarsalballen und wird deshalb hier nicht mehr beschrieben.

Die inneren Epidermisabschnitte und die Scharnierregion der „scutate scales“ durchlaufen eine epidermale Differenzierung, die der der befiederten Haut gleicht.

Die pathohistologischen Biotinmangelveränderungen in den inneren Epidermisabschnitten der „scutate scales“ entsprechen den Veränderung wie sie im Metatarsalballen beschrieben wurden.

#### 5. 2. 2. 3 Die TEM-Enzymnachweise in der Haut der „scutate scales“

Die transmissionselektronenmikroskopischen Ergebnisse der Enzymnachweise entsprechen den Ergebnissen der „reticulate scales“.