

E. DISKUSSION

Die äußere Haut ist als Grenzschicht des lebenden Organismus zu seiner Umwelt in einzigartiger Weise den mannigfaltigen exogenen Einflüssen ausgesetzt. Die Haut der Vögel und Säugetiere weist einen vergleichbaren Grundbauplan auf, der durch ein verhornendes, mehrschichtiges Plattenepithel gekennzeichnet ist, das von einer gefäßführenden Bindegewebsschicht unterlagert ist. Die Haut schützt den Organismus vor mechanischen und chemischen Einflüssen, vor Austrocknen und hat somit Anteil an der Thermoregulation sowie an der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes. Trotz der strukturellen und funktionellen Gemeinsamkeiten sind die Differenzen in der makroskopischen Anatomie der Haut verschiedener Tierarten so groß, daß es in vielen Fällen sogar dem Laien möglich ist, anhand der isolierten Hautoberfläche die Spezies zu erkennen, von der sie stammt. Ganz besonders spezifische Hautmodifikationen sind die Federn und Haare oder der Huf, die Klaue und Krallen sowie Hautschuppen, die auf die speziellen Lebensräume und den herrschenden Lebensbedingungen angepaßt sind.

Damit die Haut ihre unterschiedlichen Funktionen voll erfüllen kann, muß sie gesund sein. Äußere und innere Faktoren können die Haut primär oder auch sekundär durch Funktionseinschränkungen innerer Organe beeinträchtigen und damit ihre Leistungsfähigkeit beeinträchtigen. Voraussetzungen für einen gesunden Organismus sind unter anderem eine ausgewogene Ernährung und damit die Zufuhr essentieller Nährstoffe, Vitamine und Spurenelemente. Biotin, ein wasserlösliches Vitamin, wird sowohl endogen gebildet als auch mit der Nahrung aufgenommen. Bei einem ausgeprägten Biotinmangel können nachweislich lebenswichtige Organe wie die Leber und die Nieren geschädigt werden (BALNAVE et al., 1977) und damit kommt neben einer direkten auch ein indirekte Beeinflussung der Hautfunktion in Betracht.

Im ersten Teil der folgenden Ausführungen werden die erlangten Kenntnisse zu den physiologischen Prozessen, die während der Differenzierung der gesunden Hühnerhaut ablaufen, behandelt und denen bei den Säugetieren gegenübergestellt. Im zweiten Teil werden die eigenen Beobachtungen zum Biotinmangel mit der Literatur bei Vögeln und Säugetieren verglichen.

Das Hautmaterial ist nach Kriterien ausgewählt worden, um sowohl die Auswirkungen einer unterschiedlichen Verhornung, einer anderen mechanischen Beanspruchung und der Befiederung auf die physiologische Struktur und auf die Ausprägung des Biotinmangels zu berücksichtigen.

Die vorliegende Arbeit legt ihren methodischen Schwerpunkt auf die Elektronenmikroskopie, um die Ursache für die biotinmangelbedingten Erscheinungen, die FRIGG und THORHORST (1980) lichtmikroskopisch untersucht haben, auf ultrastruktureller Ebene aufzuklären.

Weiterhin schien es sinnvoll, zusätzliche histochemische Nachweise durchzuführen, um Aufschlüsse über die „multigranular bodies“ und die epidermalen Lipide zu bekommen, die bei der Differenzierung der Vogelhaut eine entscheidende Rolle spielen (MENON et al., 1986; ELIAS et al., 1987). Zudem greift Biotin in den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel ein. Eines der ersten Mangelsymptome bei verschiedenen Tierarten und auch beim Huhn ist eine trockene und spröde Haut, was auf einen veränderten Flüssigkeits- oder Fettgehalt hinweist.

Außerdem sollte die Reaktion der Dermis auf einen Biotinmangel mit der Rasterelektronenmikroskopie dargestellt werden. Daß mit einer solchen dermalen Beeinflussung zu rechnen ist, erklärt sich aus der wechselseitigen funktionellen Abhängigkeit der Dermis und Epidermis. Die Oberfläche des Stratum papillare, sowie die kongruente innere Oberfläche der Epidermis, die sich zueinander wie Patritze und Matritze verhalten (ZIETZSCHMANN, 1918), kann nach Trennung beider Anteile voneinander mit dem Rasterelektronenmikroskop dreidimensional dargestellt werden und gewährt somit eine direkte Ansicht beider Grenzflächen. Weiterhin ist die dreidimensionale rasterelektronenmikroskopische Darstellung des Papillarkörpers eine weitaus effektivere Methode als die aufwendigen Rekonstruktionen aus Serienschritten.

Eine Untersuchung der Enzymaktivitäten verschiedener für die Keratinisierung und Verhornung der Epidermis wichtiger Enzyme erschien sinnvoll, da biotinmangelbedingte Hemmungen von Stoffwechselwegen bereits in anderen Organen festgestellt wurden (ARINZE u. MISTRY, 1971), die mögliche Auswirkungen auch auf den Hautstoffwechsel und seine Enzyme haben könnten.

1. DIE EPIDERMALERE DIFFERENZIERUNG DER VOGEL- UND SÄUGETIERHAUT

Die epidermale Differenzierung gliedert sich in die Keratinisierung der Basalzellen bis hin zu den Übergangszellen und in die sich anschließende Verhornung, die bereits in den Übergangszellen beginnt und mit dem Abschilfern der alten Hornzellen endet (BUDRAS et al., 1998). Die epidermalen Zellen, die den Prozeß der Keratinisierung durchlaufen, werden Keratinozyten beziehungsweise beim Vogel Sebokeratinozyten (ELIAS, 1987) oder bei den Meeressäugern Lipokeratinozyten (MENON, 1986b) genannt. Die Zellen, die verhornen, heißen Korneozyten oder Hornzellen und beim Vogel entsprechend Sebokorneozyten. Dabei ist unter Keratinisierung nicht nur die Bildung von Keratinfilamenten zu verstehen, sondern das gesamte Differenzierungsgeschehen der Keratinozyten, das auch die Bildung von „multigranular bodies“ (MÜLLING u. BUDRAS, 1998) und die Lipogenese einschließt.

1.1 Die Keratinisierung

Die Keratinisierung der Hühnerhaut weist neben einigen spezifischen lokalen Besonderheiten, auf die etwas später eingegangen wird, ein allgemeingültiges Differenzierungsprinzip auf. Während der Keratinisierung durchlaufen die Sebokeratinozyten einen strukturellen Wandel. Dieser hat Auswirkungen auf die Zellform der Sebokeratinozyten, den Grad der Keratinfilamentbildung und -bündelung, den Organellenbesatz und auf das Lipidmuster. Die kubischen bis hochprismatischen Basalzellen werden zu langgestreckten, parallel zur Hautoberfläche verlaufenden, abgeplatteten Übergangszellen. Diese Entwicklung ist besonders deutlich in der dünnen, nur wenige epidermale Zellagen umfassenden, befiederten Epidermis nachzuvollziehen, wo sich dieser Prozeß bis in die verhornenden Sebokorneozyten deutlich fortsetzt. Mit der fortschreitenden epidermalen Differenzierung kommt es zu einer Verdichtung des epidermalen Zytoskeletts, die durch eine verstärkte Bildung von Keratinfilamenten und deren Bindung zu Keratinfilamentbündel gekennzeichnet ist. Die Bildung der Strukturproteine, zu denen die Keratinfilamente gehören, erfolgt durch die zahlreich vorhandenen, freien und an das endoplasmatische Retikulum

gebunden Ribosomen. Die Interaktionen zwischen den Keratinfilamenten, die zur Bündelung dieser führen, werden durch keratinfilamentassoziierte Proteine vermittelt. Die Bindung erfolgt durch Disulfidbrücken, was durch die Zunahme dieser Bindungsart ab der Verhornungsgrenze nachzuweisen war. Der innere Epidermisabschnitt der „scutate scales“ zeigt allgemein eine schwache Reaktion auf Schwefelgruppen. Insbesondere der geringere Gesamtgehalt an Disulfidbrücken deutet auf einen weich verhornenden Epidermisabschnitt hin (BARNETT u. SEELIGMAN, 1952b), worauf im Kapitel Verhornung näher eingegangen werden soll. Die „multigranular bodies“ lassen sich in der Hühnerhaut ab dem untersten Drittel des Stratum intermedium als kleine, meist runde, elektronendichte Körperchen nachweisen. Mit zunehmender Differenzierung, beginnend im mittleren Stratum intermedium, werden die „multigranular bodies“ zu neutralen Lipiden umgewandelt. Der überwiegende Teil ihres Inhalts, „membrane coating material“, verbleibt während der Keratinisierung in den Sebokeratinozyten. Somit stehen die „multigranular bodies“ im direkten Zusammenhang mit der Zunahme der neutralen Lipide während der epidermalen Differenzierung und der Bildung des für die Vogelepidermis charakteristischen Stratum transitivum.

Lokalspezifische Besonderheiten in der Hühnerhaut während der Keratinisierung zeigen die „multigranular bodies“ der befiederten Hühnerhaut, die weniger PAS-positive Kohlenhydratverbindungen aufweisen, als jene der Epidermis der Beinschuppen. Des weiteren zeichnen sich die Basalzellen der äußeren Epidermisabschnitte der „scutate scales“ durch eine große Anzahl an Fetttropfen aus, die in dieser Menge in keinem anderen untersuchten Epidermisabschnitt vorkommen. Außerdem zeigt der Nachweis von sauren und neutralen Lipiden in den Schuppenhäuten der „scutate scales“ und der „reticulate scales“ unterschiedliche Reaktionen, die auf ein anderes Lipidmuster in der Epidermis hindeuten.

Die epidermale Differenzierung bei Säugetieren weist einen entscheidenden Unterschied auf. Die „membrane coating granules“, das säugetierspezifische Homologon zu den „multigranular bodies“ der Vögel, werden während der Keratinisierung durch Exozytose aus den epidermalen Zellen in den Interzellularraum entlassen, wo sie ab dem Bereich der Verhornungsgrenze bis zur Hautoberfläche eine Permeabilitätsbarriere bilden. Da grundlegende Unterschiede in der Keratini-

sierung der Vogelepidermis und der Säugetierepidermis auf den „multigranular bodies“, respektive „membrane coating granules“ beruhen, und diese in einem engen Zusammenhang zu dem sich verändernden Lipidmuster während der epidermalen Differenzierung zu sehen sind, werden im folgenden diese Organellen und ihre Homologa in der Säugetierepidermis sowie die epidermalen Lipide näher beleuchtet.

Die für die Hühnerepidermis typischen „multigranular bodies“ sind wie ihre Homologa bei Reptilien und Säugetieren (LANDMANN, 1980) durch eine Hüllmembran vom Zytoplasma abgegrenzt. Typisch für aviäre „multigranular bodies“ sind die im Anschnitt sichtbaren kleinen, rundlichen Untereinheiten, resp. „Granula“, im Inneren des Organells, die ebenfalls von einer Membran umgeben sind. Innerhalb der „Granula“ liegen die Lamellen mit abwechselnder Elektronendichte nahezu parallel. Die Lamellenstapel verschiedener „Granula“ weisen hingegen keine Parallelität zueinander auf. Neben diesen typischen Lamellenkörperchen der Vögel, wurde in allen untersuchten Hautlokalisationen eine Strukturvariante gefunden, die im Anschnitt wenige oder gar keine Lamellen erkennen läßt. Der Inhalt dieser „Granula“ ist hier mittelgradig elektronendicht und feinkörnig strukturiert. Möglicherweise ist es anschnittbedingt, ob Membranstapel in den verschiedenartigen aviären Lamellenkörperchen zu sehen sind oder nicht. Eine zweite Strukturvariante gleicht den „lamellar bodies“ der Säugetiere, bestehend aus einem Stapel paralleler Lamellen und umgeben von einer Hüllmembran (FRITHIOF u. WERSÄLL, 1965). Diese Art von Lamellenkörperchen ist in der untersuchten Hühnerhaut überwiegend in den weniger differenzierten, also tieferen Zellagen der Epidermis anzutreffen, während die typischen aviären „multigranular bodies“ meistens in den höheren Differenzierungsstadien der Epidermiszellen vorkommen. Wahrscheinlich beruhen diese Strukturvarianten auf einen „Reifungsprozeß“ dieser Organellen, der im Endstadium die neutralen Fetttropfen entstehen läßt. Es ist bekannt, daß die „multigranular bodies“ verschiedene Enzyme beinhalten (ELIAS et al., 1988), die an der strukturellen Wandlung der „multigranular bodies“ während der epidermalen Differenzierung wahrscheinlich teilhaben.

Das Schicksal der „membrane coating granules“ der Säugetiere, beziehungsweise das der „multigranular bodies“ der Vögel, gestaltet sich während der Keratinisierung

unterschiedlich. Außerdem gibt es beim Huhn lokale Abhängigkeiten. So weisen die „scutate scales“ in der gesamten lebenden Epidermis keinen kohlenhydratreichen Interzellularkitt auf, während in der Interzellulärsubstanz zwischen den Übergangszellen der Metatarsalballenepidermis („reticulate scales“) eine geringgradige Zunahme an PAS-positiven Kohlenhydratverbindungen stattfindet. Es gibt demnach in den verschiedenen Lokalisationen der Hühnerepidermis graduelle Abweichungen hinsichtlich des Zeitpunktes der Ausschleusung der „multigranular bodies“ in den Interzellularraum. Das wird auch durch die Untersuchungen von MENON et al. (1981) bestätigt, die einen Übertritt von Fetttropfen in den Interzellularraum des Stratum transitivum im Bereich des Riktus¹ bei adulten Hühnern beschreiben. Neben der Lokalisation der Hautstellen scheinen auch andere Faktoren auf die Ausschleusung der „multigranular bodies“ Einfluß zu nehmen. So weisen MENON et al. (1986) und LANDMANN (1980) interzellulär gelegene „bilayer“-Strukturen an frisch geschlüpften Vogelküken nach. Somit hängt die Exozytose der aviären „multigranular bodies“ entweder von äußeren Einflüssen wie der Dichte des Federkleides ab, die, wenn sie gering ist, eine erhöhte Permeabilitätsbarriere fordert, oder vom Alter des Tieres allgemein. Bei adulten Vögeln, die unter „normalen Umweltbedingungen“ leben, verbleibt der größte Teil der „multigranular bodies“ in den Sebokeratinozyten, was den entscheidenden Unterschied zur Säugerepidermis ausmacht.

Bei Landsäugetieren und in besonders großer Zahl auch bei Meeressäugern (MENON et al., 1986b) verschmelzen die Membranen der „membrane coating granules“ im oberen Stratum intermedium mit den Zellmembranen der Keratinozyten (LAVKER, 1976) beziehungsweise der Lipokeratinozyten der Meeressäuger (MENON et al., 1986) und entlassen ihren Inhalt in den Interzellularraum. Die Membranstapel, die dann in den Interzellularräumen der Säugetierepidermis nachweisbar sind, bilden bis zum mittleren Stratum corneum bei den Landsäugetieren (ELIAS et al., 1977) oder darüber hinaus auch noch im gesamten Stratum corneum bei Meeressäugern (MENON et al., 1986b) eine Barriere gegen das Austrocknen und Eindringen von Substanzen (ELIAS et al., 1977; MÜLLING u. BUDRAS, 1998).

Der zweite entscheidende Unterschied zwischen den „multigranular bodies“ der Hühner und den „membrane coating granules“ der Säugetiere ist die Umwandlung

¹ Der Riktus ist eine dreieckige Hautregion kaudal der Mundwinkel (SALOMON, 1993).

der Organellen während der Keratinisierung zu neutralem Fett. Dieser Vorgang ist im elektronenmikroskopischen Präparat ab dem mittleren Stratum intermedium zu verfolgen. Er ist durch Strukturverlust der Membranstapel, Verlust der Hüllmembran, durch zunehmende Löslichkeit durch Fixierungsmittel und einem Zusammenfließen zu großen Fetttropfen gekennzeichnet. Dieser Strukturwandel gibt dem Stratum transitivum sein typisches spongiöses Aussehen, das durch Herauslösen der Lipide bedingt ist. Eine Besonderheit dieser, aus dem Reifungsprozeß der „multigranular bodies“ hervorgehenden Fetttropfen, ist ihr hoher Gehalt an PAS-positiven Kohlenhydratverbindungen. Er weist auf das reichliche Vorkommen an Glykolipiden hin, während die zahlreichen Fetttropfen in den Basalzellen der „scutate scales“ oder die vereinzelt vorkommenden Fetttropfen in der Rumpf- oder Ballenepidermis kaum PAS-positive Kohlenhydratverbindungen enthalten. Diesen Glykolipiden wird von HUANG (1983) eine wichtige Funktion im Zell zu Zell-Zusammenhalt zugeschrieben. Die Auswirkungen auf das Hornzellgefüge werden im Abschnitt - Verhornung - besprochen.

Für die „membrane coating granules“ beziehungsweise „multigranular bodies“ wird die Funktion als Permeabilitätsbarriere (ELIAS, 1983) beschrieben und diskutiert. Aus den eigenen Ergebnissen und denen aus Untersuchungen von ELIAS et al. (1987) und MENON et al. (1986a) an adulten Vogelarten geht hervor, daß die „multigranular bodies“ in Form der gebildeten Fetttropfen größtenteils erst während der Verhornung in den Interzellularraum übertreten. Für die epidermale Permeabilitätsbarriere der Vögelhaut ergeben sich daraus zwei Unterschiede zur Säugetierhaut. Zum einen besteht die Permeabilitätsbarriere nur in einem eng begrenzten Bereich und zum anderen vermittelt ein anders strukturiertes Material, das beim Vogel überwiegend aus neutralen Lipiden besteht, diese Barriere. Die Auswirkungen für die Vögel sollen im Folgenden erörtert werden. Der transepidermale Wasserverlust ist bei Vögeln im Vergleich zu Säugetieren relativ hoch. So werden für die Haut des Menschen (MENON et al., 1986a) und die von haarlosen Mäusen 3 bis 12 ppm/cm²/h gemessen, während adulte Tauben (MENON et al., 1986b, ELIAS et al., 1987) mit 30 bis 40 ppm/cm²/h ein Vielfaches mehr an Flüssigkeit über die Haut verlieren. Der geringere Verdunstungsschutz, den die Vogelhaut bietet, läßt sich zum einen durch die kürzere Barrierestrecke erklären und zum anderen durch die homogenen Lipidmassen, die möglicherweise durchlässiger

sind als die „bilayer“-Strukturen. So führen SCHNEIDER und WOHLRAB (1997) eine eingeschränkte Barrierefunktion auf den Verlust der lamellären Strukturen in den „membrane coating granules“ bei Säugetieren zurück. In Anbetracht dieses hohen transepidermalen Flüssigkeitsverlustes stellt sich die Frage, wie der Wasser- und Elektrolythaushalt der Vögel konstant gehalten werden kann und welche arttypischen Eigenheiten dieser Spezies dazu beitragen. Zunächst ist in diesem Zusammenhang auf das Fehlen von Schweißdrüsen in der Vogelhaut (VOLLMERHAUS u. SINOWATZ, 1992) sowie auf das Entleeren fester Exkreme aus der Kloake hinzuweisen. Außerdem bietet die Abdeckung eines Großteils des Körpers durch das Federkleid Schutz vor Verdunstung. Die Haut der Landsäugetiere hingegen, die mehr oder weniger dicht mit Schweißdrüsen ausgestattet ist, verliert durch das Schwitzen große Mengen an Flüssigkeit. Außerdem wird der Harnstoff mit relativ großen Mengen Urins ausgeschieden, was ebenfalls zu hohen Flüssigkeitsverlusten führt. Daher scheint den Vögeln eine weniger effektive Permeabilitätsbarriere gegen einen transepidermalen Wasserverlust zu genügen, ohne das sich daraus ein Nachteil für diese Spezies ergeben würde. BUDDENBROCK (1956) formulierte: „Der Wasserhaushalt der Vögel bietet sehr viel weniger Probleme als derjenige der Säugetiere.“. Worin liegt aber der Vorteil? Die Vögel haben das Fehlen von Talgdrüsen, deren Sekret die epidermale Oberfläche von Landsäugetieren geschmeidig hält, zu kompensieren. Dadurch, daß die „multigranular bodies“ der Vögel nicht in der Verhornungsgrenze ausgeschleust werden, sondern überwiegend erst in Form neutraler Lipide in den Interzellularraum der älteren Sebokorneozyten übertreten, können sie die Aufgabe der fehlenden Talgdrüsen teilweise übernehmen, wie dies auch ELIAS et al. (1987) diskutieren. MENON et al. (1986b), die den Schweinswal als Vertreter der Meeressäuger untersucht haben, berichten von einer großen Zahl an „membrane coating granules“, die ihren Inhalt in den epidermalen Interzellularraum entlassen. Dabei sind „bilayer“-Strukturen bis in das äußerste Stratum corneum elektronenmikroskopisch darzustellen. Als mögliche Erklärung für das Auftreten der großen Anzahl an „membrane coating granules“ und für den Erhalt der Membranstapel im Interzellularraum des gesamten Stratum corneum diskutieren MENON und Mitarbeiter (1986b) den sonst erhöhten Verlust an körpereigener Flüssigkeit in die hypertone Umwelt (PENZLIN, 1996), also als ein Schutz gegen einen erhöhten transepidermalen Wasserverlust durch einen osmotischen Gradienten. Damit scheint die Struktur der Permeabilitätsbarriere in Form der

„bilayer“ eine entscheidende Rolle für die Wirksamkeit gegen den Flüssigkeitsverlust über die Haut zu spielen. Es ist zu vermuten, daß die homogenen Neutrallipide einen weniger effektiven Schutz bilden.

Das Auftreten epidermaler Lipide in Form einer großen Anzahl Fetttropfen in der Basalzellschicht des äußeren Epidermisabschnitts der „scutate scales“ ist eine der lokalen Besonderheiten, die innerhalb der untersuchten Hautlokalisationen aufgefallen sind. In diesem Ausmaß kommen Fetttropfen weder in der inneren Epidermis der „scutate scales“, noch in der befiederten Rumpfhaut, noch in den „reticulate scales“ vor. In den unmittelbar benachbarten Sebokeratinozyten, die sich zur Hautoberfläche hin anschließen, nimmt die Zahl der Fetttropfen abrupt ab, so daß in den Basalzellen von einer Metabolisierung der Lipide auszugehen ist. Solche Fettansammlungen in der Basalzellschicht sind von ELIAS et al. (1987) auch in der federlosen Kopfhaut adulter Störche (*Ibis leucocephalus*) beschrieben worden. Dabei besteht zwischen der fehlenden Befiederung und dem vermehrten Auftreten von Fetttropfen in den Basalzellen ein enger Zusammenhang, da erst mit dem Älterwerden der Störche und dem gleichzeitigen Verlust der Kopffedern zunehmend Fetttropfen in den Basalzellen entstehen (SHAH et al., 1977). Danach scheint ein geminderter Schutz der Epidermis durch die fehlende Befiederung zu einer verstärkten Bildung von Neutrallipiden in der Tiefe der Epidermis zu führen. ELIAS und Mitarbeiter (1987) erklären sich die Funktion der basalen Fetttropfen, wie die des Melanins in der pigmentierten Haut, als Schutz vor ultravioletter Strahlung. Es ist denkbar, daß der äußere Epidermisabschnitt der „scutate scales“ aufgrund seiner exponierten Lage basale Fetttropfen zum Schutz vor ultravioletter Strahlung bildet, während die innere Epidermis der „scutate scales“ und die „reticulate scales“ geschützt unterhalb der äußeren Schuppenhaut, respective palmar der Füße liegen und somit dieses Schutzes nicht bedürfen. Zum anderen ist es auch denkbar, daß die Lipide in den Basalzellen als Energiereserven dienen, um den Differenzierungsprozeß zu unterstützen. Andererseits kommt für die basalen Fetttropfen auch eine Funktion als Isolationsbarriere in Frage und damit ein Teilhaben an der Thermoregulation. Dafür sprechen die anatomischen Verhältnisse im Bereich des Tarsometatarsus, wo die großen Blutgefäße relativ oberflächlich und ungeschützt

von der Muskulatur verlaufen und somit möglicherweise vor vermehrtem Wärmeverlust geschützt werden müssen.

Im Zusammenhang mit der großen Anzahl Fetttropfen in den äußeren Epidermisabschnitten der „scutate scales“ stehen die unterschiedlichen Lipidmuster der untersuchten Schuppenhäute. So ist in den Basalzellen dieser Hautabschnitte ein Gemisch aus neutralen und sauren Lipiden anzutreffen. Der neutrale Anteil entspricht den PAS-negativen, membranlosen Lipidtropfen, die innerhalb der Basalzellen metabolisiert werden und in den darüberliegenden Zellagen nicht mehr vorkommen. In den darüberliegenden epidermalen Zellen einschließlich der Seborneozyten kommen überwiegend saure Lipide vor. In den Basalzellen der „reticulate scales“ befinden sich im Gegensatz dazu nur vereinzelt membranlose, PAS-negative, neutrale Fetttropfen und damit überwiegend saure Lipide, wie der Nilblausulfat-Nachweis anzeigt. Erst im Stratum corneum der „reticulate scales“ ist die Zunahme der neutralen Lipide sichtbar. In beiden Schuppenhäuten und in der befiederten Haut kommt es während der Differenzierung zu einer Zunahme an Neutrallipiden, die durch die Wandlung der „multigranular bodies“ zu teilweise membranumhüllten, kohlenhydrathaltigen Lipidtropfen deutlich wird.

Die Verteilung der Lipide ändert sich während der epidermalen Differenzierung bei Vögeln und Säugetieren. Die Zunahme an Neutrallipiden während der epidermalen Differenzierung ist unter anderem von MENON et al. (1986) für die befiederte abdominale Haut der Tauben und von LAMPE et al. (1983) für die abdominale Haut des Menschen beschrieben worden. Während in den tiefen Schichten der Haut die sauren (polaren) Lipide überwiegen, dominieren im Stratum corneum die Neutrallipide. Zu den neutralen Lipiden der Vogelhaut gehören die Triglyceride, die Sterolester, freie Sterole und freie Fettsäuren. Squalene sowie Wachsester – die Hauptlipidkomponenten der Schweißdrüsen von Säugetieren (NICOLAIDES, 1974) – kommen in der Vogelhaut nicht vor (MENON et al., 1985). Zu den sauren oder polaren Lipiden zählen die Phospholipide und Glycolipide, die aufgrund ihrer amphiphilen Eigenschaft Doppelmembranen bilden können (STRYER, 1987). Nach Untersuchungen an der adulten Taube von MENON et al. (1985) nimmt der Phospholipidanteil der Lipidfraktion im Stratum corneum drastisch ab. Glykosphingolipide und deren Hauptkomponente, die Ceramide, sind bei der Taube im Stratum corneum zu zirka gleich großen Anteilen nachweisbar. Im Unterschied dazu sind im Stratum corneum der Landsäugetiere kaum Glykosphingolipide im Stratum

corneum nachzuweisen, dafür aber in relativ großen Mengen deren Abbauprodukte, die Ceramide (GRAY et al., 1980; LAMPE et al., 1983b). Beim Schweinswal wird ebenfalls eine Abnahme der Phospholipide und eine Zunahme der Sphingolipide während der Verhornung der Epidermis festgestellt (MENON et al., 1986). Im Gegensatz zu den Landsäugetieren sind bei Walen Glykosphingolipide bis in die oberen Schichten des Stratum corneum in relativ großer Anzahl vorhanden, während die Ceramide nur in geringen Mengen vorkommen (MENON et al., 1986). Histologisch lassen sich die biochemisch nachgewiesenen Glykosphingolipide im gesamten Stratum corneum der Meeressäuger als PAS-positive „bilayer“-Strukturen darstellen. Als Grund für das Fortbestehen der Glykosphingolipide in der Hornschicht der Meeressäuger wird das Fehlen oder eine Inaktivität von Enzymen, wie den Glykosidasen, diskutiert (NEMANIC et al., 1980, MENON, et al., 1986). Sie werden für den Verlust der Zuckerreste verantwortlich gemacht, der sich histochemisch durch das Ausbleiben der Lektinreaktion und durch eine negative PAS-Reaktion im Stratum corneum verdeutlichen lässt. NEMANIC et al. (1980) weisen verschiedene Glykosidasen im Stratum granulosum der Haut von Mäusen und Menschen nach, die den Abbau der Glykosphingolipide bewirken und deren Abwesenheit in der Hornschicht dieser Spezies bedingen können.

1.2 Die Verhornung

Die Verhornung der Hühnerepidermis beginnt im Stratum transitivum, das in den verschiedenen untersuchten Hautstellen eine variable Dicke besitzt. Da das Stratum corneum der befiederten Haut und das der Schuppenhäute in seiner Struktur erheblich voneinander abweichen, sollen die befiederten und unbefiederten Hautabschnitte separat besprochen werden.

Der Übergang von der lebenden Epidermis zu den toten Sebokorneozyten geschieht in der befiederten Haut sehr abrupt, was in Anbetracht der wenigen epidermalen Zellagen verständlich ist. Übergangszellen und jungen Sebokorneozyten sind durch massive Ablagerungen von Hornmaterial in der Zellperipherie gekennzeichnet, das im Zellanschnitt als breites Hornband der Zellmembran innen anliegt. Die in den Übergangszellen noch vorkommenden Zellorganellenreste lösen sich auf und die Fetttropfen fließen zu einer homogenen Masse im Zellzentrum zusammen, was für die Sebokorneozyten der befiederten Haut typisch ist. In den Übergangszellen und den jungen Hornzellen liegt zwischen dem Hornmantel und der Sebokorneozytenmembran das stark elektronendichte „marginale Band“. Wie in den eigenen Untersuchungen dargestellt werden konnte, lösen sich sowohl das „marginale Band“ als auch die Zellmembran der Sebokorneozyten ab der Mitte des Stratum corneum auf. Außerdem sind die Desmosomen weitgehend lysiert. Durch Risse in dem zellulären Hornmantel tritt der lipophile Zellinhalt in den Interzellularraum aus und erweitert diesen. Auf der Hautoberfläche werden nicht ganze Hornzellen abgeschilfert, sondern nur hauchdünne Hornschollen, die einst Bestandteile des ursprünglich dichten, peripheren Hornbandes der jeweiligen Sebokorneozyten waren. Sie gelangen, umgeben von einer lipophilen Masse, an die Hautoberfläche.

Die Sebokorneozyten der Schuppenhäute flachen im Gegensatz zu den Sebokorneozyten der befiederten Haut nur mäßig ab. Die Übergangsphase von lebender zur toten Epidermis verläuft über mehrere Zellagen und weniger abrupt als in der befiederten Haut. Das Hornmaterial ist teilweise auch hier zu einem zellperipheren Band vereinigt, das jedoch im Vergleich zur befiederten Haut weniger einheitlich und kontinuierlich ausgebildet ist. Im Inneren der jungen Hornzellen liegen überwiegend solide „Hornschollen“, die von lipophilem Material umgeben sind. Stellenweise treten Membranstapel aus zerfallenen „multigranular bodies“ zwischen den „Hornschollen“

auf. Im Verlaufe des Verhornungsprozesses zerfallen die „Hornschollen“ der Sebokorneozyten der „reticulate scales“ und der inneren Epidermisabschnitte der „scutate scales“ in kleinere Bruchstücke. Die vorerst in den jungen Hornzellen noch vorhandenen Membranstapel lösen sich auf und sind in oberflächlicheren Lagen nicht mehr nachzuweisen. Die Sebokorneozyten der äußeren Epidermis der „scutate scales“ sind am solidesten aufgebaut, da sie überwiegend mit Horn angefüllt sind und vergleichsweise nur wenig lipophiles Material aufweisen. Die Integrität der Sebokorneozyten bleibt auch im alten Horn erkennbar, so daß an der Hautoberfläche ganze Hornzellen abschilfern. Die Desmosomenreste bleiben in den äußeren Abschnitten der „scutate scales“ und in den „reticulate scales“ zwischen den alten Hornzellen erkennbar. Die Interzellularräume sind überwiegend eng, so daß hier im Vergleich zur befiederten Epidermis nur wenig Material in den Zellzwischenraum entlassen wird.

Die unterschiedlich strukturierten Hornzellgefüge der befiederten Haut und der unbefiederten Schuppenhaut sind teilweise auf eine erheblich geringere Menge an Kohlenhydratverbindungen in den „multigranular bodies“ der befiederten Haut zurückzuführen. Wie die Ergebnisse der vorliegenden Studie beweisen, sind die „multigranular bodies“ der befiederten Haut nicht als diastasestabile PAS-positive Zellinhalte nachzuweisen, im Gegensatz zu den der untersuchten Schuppenhäute und der von anderen Autoren nachgewiesenen „membrane coating granules“ (LANDMAN, 1980; MÜLLING, 1993). Positive PAS-Reaktionen werden durch vorhandene Kohlenhydratverbindungen verursacht, wobei Glykogen durch die Inkubation mit Diastase ausgeschlossen ist. HUANG (1983) schreibt den Zuckerverbindungen eine wichtige Funktion im Zusammenhalt benachbarter Zellen zu, der bei Meeressäugern, wie dem Schweinswal (*Phocena phocena*), von besonderer Bedeutung ist, da sie ständig mit einem, auf ihrer Körperoberfläche wirkenden, erhöhten Widerstand konfrontiert sind. Zudem ist ihre Haut der aufweichenden Wirkung des Wassers ausgesetzt. Da die Haut diesen von außen wirkenden Kräften ungeschützt ausgesetzt ist, müssen intrakutane Faktoren die Anpassung an die Umwelt erbringen, was nach MENON und Mitarbeitern (1986) durch die in den Interzellularräumen entlassenen, kohlenhydratreichen Membranstapel der zahlreich vorhandenen „membrane coating granules“ erfolgt.

Die befiederte Haut ist durch ihr geschlossenes Federkleid gegenüber äußeren Einflüssen, wie vor dem Austrocknen oder vor mechanischer Belastung gut geschützt. Speziell beim fliegenden Vogel bietet es Schutz vor der verstärkten mechanischen Reibung beim Flug. Somit bedeutet das lockere Hornzellgefüge der befiederten Vogelhaut einen Vorteil für die epidermale Regeneration, da somit ein leichteres Abschilfern alter Hornzellschüppchen und das Freisetzen der Lipide ermöglicht wird. Aus diesen Beobachtungen beim Säugetier und beim Vogel ist zu folgern, daß ein ungenügend von außen geschütztes Hornzellgefüge, das starken mechanischen äußeren Einflüssen ausgesetzt ist, den notwendigen festeren Zusammenhalt der Hornzellen wenigstens teilweise über eine größere Anzahl an Kohlenhydratverbindungen in der Interzellulärsubstanz realisiert. Außerdem korreliert ein kohlenhydratreicher Interzellulärkitt auch mit der Hornschichtdicke.

Die eigenen Untersuchungen an der befiederten Hühnerhaut bestätigen den von ELIAS et al. (1987) beschriebenen Austritt der zu Fetttropfen gewordenen „multigranular bodies“ in den Interzellulärraum ab dem mittleren Stratum corneum. Es fällt auf, daß der Austritt des lipophilen Materials mit der Auflösung der Hornzellmembran zusammenfällt. Der Vergleich des Fettübertritts in den Interzellulärraum mit dem Vorgang der Sekretion in holokrinen Drüsen (ELIAS et al., 1987) ist nicht zulässig. Holokrine Drüsenzellen der Bürzeldrüse zerfallen zu Talg, der über Ausführungsgänge an die Hautoberfläche gelangt. Diese Drüsenzellen nehmen bis zu ihrem Untergang an Volumen zu und verhornen nicht (MENON et al., 1981). Dagegen flachen die epidermalen Zellen der befiederten Haut sehr stark ab. Ein weiterer Unterschied besteht darin, daß die Lipidfreisetzung in einem längst abgestorbenen Hornzellverband erfolgt, während in den holokrinen sezernierenden Talgdrüsen die Lipidfreisetzung aus einer absterbenden Zelle erfolgt. Die Sekretion ist als aktiver Vorgang an eine lebende Zelle gebunden, auch wenn diese beim holokrinen Typ am Lebensende erfolgt. Um ein Irreführen durch den Begriff „holokrine Sekretion“ im Zusammenhang mit der Lipidfreisetzung aus den Sebokorneozyten der Vogelepidermis in den interzellulären Raum zu vermeiden, sollte man eher unverfänglich von einer Fettfreisetzung aus den Hornzellen des mittleren Stratum corneum berichten.

Welche Vorgänge beim Fettaustritt eine Rolle spielen, wird bei einem Vergleich zwischen Vögeln und Säugetieren deutlich. Bei den Säugetieren verschmelzen die

„membrane coating granules“ mit ihrer Hüllmembran mit der epidermalen Zellmembran und entlassen somit nach dem Prinzip der Exozytose ihren Inhalt in den Interzellularraum. Da die aviären „multigranular bodies“ ihre Hüllmembranen bereits in der Übergangsschicht verloren haben, ist eine Exozytose für dieses Material nicht mehr möglich. MENON et al. (1981) demonstrierten in der Epidermis des Riktus, in der bereits im Stratum transitivum ein relativ großer Teil der Fetttropfen in den Zwischenzellraum übertritt, das Auftreten von Brüchen in den Übergangszell- und Hornzellmembranen. Solche Zellwandbrüche sind in den eigenen Untersuchungen nicht festgestellt worden. Allerdings zeigen die eigenen Untersuchungen über die befiederte Haut auch, daß die relativ engen Interzellularräume zwischen den Hornzellen im Laufe des passiven Zellnachschiebs an die Hautoberfläche erheblich breiter werden, während die Hornzellhöhe kontinuierlich zur Hautoberfläche hin abnimmt. Es ist daher naheliegend, daß der Austritt des „Fettkerns“ in den Zellzwischenraum zur Zellabflachung beiträgt. Da die Zellmembran und das „marginale Band“ im mittleren Stratum corneum nicht mehr vorhanden sind, können sie auch als Hindernis für den Fettaustritt aus dem Hornzellinneren keine Rolle mehr spielen. Das einzige Hindernis ist das zellperipher gelegene Hornband, das ab der mittleren Hornschicht die Abgrenzung zwischen den Hornzellen bildet. Für die Freisetzung der Lipide aus den toten Hornzellen kommen nur noch passive Vorgänge in Frage, die den peripheren Hornmantel passierbar werden lassen. Ausschlaggebend sind dabei äußere mechanische Faktoren, wie das Putzen des Gefieders sowie die Bewegungen der Haut und der Federn, die den Hornmantel brüchig werden lassen. Damit ist der Prozeß der Lipidfreisetzung aus den aviären Hornzellen eine Folge des natürlichen Hornzellerfalls.

2. AUSWIRKUNGEN DES BIOTINMANGELS AUF DIE HÜHNERHAUT

Die Untersuchungen zu den Hautveränderungen bei einem Biotinmangel wurden an der befiederten und unbefiederten Haut von Hühnerküken durchgeführt. Da die Hühner gegenüber einem Biotinmangel relativ empfindlich reagieren, wurde diese Spezies für die vorliegende Studie ausgewählt. Untersuchungen aus den vierziger Jahren belegen, daß durch eine Diät mit geringem Biotingehalt - auch ohne den Zusatz von Eiklar oder Avidin (HEGSTED et al., 1940; ANSBACHER und LANDY, 1941) - bei Hühnerküken ein Mangel zu erzeugen ist, da deren Biotinbedarf im Vergleich zu anderen Spezies wie der Ratte relativ hoch ist. Es wird berichtet, daß die Eigensynthese von Biotin im Gastrointestinaltrakt bei Hühnerküken selbst unter normalen Konditionen nicht ausreicht, um deren Bedarf zu decken. In einem Vorversuch zu der vorliegenden Arbeit trat jedoch die Schwierigkeit auf, daß die Mangelgruppe, der nur eine halbsynthetische, biotinfreie Diät ohne Zusatz von Avidin angeboten wurde, nach sieben Wochen noch keine Anzeichen eines Mangels aufwies, obwohl nach Literaturangaben innerhalb einer drei- bis vierwöchigen Depletionsphase Wachstumsdepressionen und schließlich Hautläsionen eintreten sollen. Daraufhin wurde im Hauptversuch der Mangelgruppe zusätzlich Avidin verabreicht, wie dies schon bei FRIGG und THORHORST (1980) erfolgreich durchgeführt wurde. Die Gruppe K erhielt weiterhin nur die halbsynthetische Biotinmangeldiät und entwickelte teilweise auch Mangelsymptome, die jedoch geringgradiger waren. Warum konnten nun bei scheinbar gleichen Voraussetzungen, sprich Futterration mit niedrigem Biotingehalt, bei HEGSTED et al. (1940) sowie ANSBACHER und LANDY (1941) ein Mangel erzeugt werden, während in unserem Vorversuch dies nicht möglich war? Weiterhin stellt sich die Frage, warum individuell unterschiedlich schwere Krankheitszustände bei den Tieren der Gruppe K in unserem Hauptversuch auftreten? Eine mögliche Erklärung wäre, daß die Tiere einen unterschiedlichen individuellen Biotinstatus besitzen. Die Nahrung der Hühnerembryonen ist der Eidotter, welcher im allgemeinen reich an Biotin ist. Muttertiere, die selbst mit Biotin unterversorgt sind, stellen ihren Nachkommen geringere Konzentrationen des Vitamins zur Verfügung (BREWER u. EDWARDS, 1971). In den gravierendsten Fällen sterben die Hühnerembryonen ab oder kommen mißgebildet zur Welt (WHITEHEAD et al., 1985). Heute jedoch – im Gegensatz zu

den Versuchen von 1940 – ist die Versorgung der Muttertiere mit Biotin im allgemeinen sehr gut, so daß auch die Nachkommen vorerst ausreichend mit dem Vitamin versorgt sind. Andererseits kann die Ausstattung des Gastrointestinaltraktes mit Mikroorganismen Auswirkungen auf das Vermögen der körpereigenen Biotinsynthese haben und damit auf die Empfindlichkeit gegenüber einer Biotinmangeldiät. Die mikrobielle Besiedlung des Darmes erfolgt mit der ersten Nahrungsaufnahme, wobei die Komposition der Futtermittel auf die Darmflora Einfluß nimmt. Zudem ist Biotin als ein Wachstumsfaktor für Bakterien bekannt (GYÖRGY u. LANGER, 1968). Da die Tiere der Gruppen M und K direkt nach dem Schlüpfen die Biotinmangeldiät erhielten, kann eine ungenügende Besiedlung mit Darmflora oder ein Ungleichgewicht in den Bakterienpopulationen eingetreten sein, was die intestinale Biotinsynthese zusätzlich negativ beeinflußt haben kann.

Nicht zuletzt können auch die verabreichten Futtermittel unterschiedliche Konzentrationen an bioverfügbarem Biotin enthalten haben. Außerdem sind in der Literatur sehr unterschiedliche Werte zum Biotingehalt und deren Bioverfügbarkeit in den verschiedenen Nahrungsmitteln zu finden. Das könnte dann die unterschiedlichen Ergebnisse verschiedener Studien erklären, natürlich aber nicht die unterschiedlich schweren Krankheitsstadien der Hühnerküken in Gruppe K.

In den eigenen Laboruntersuchungen wurden die Lebergewichte, die Leberbiotin-gehalte und die Biotingehalte des Plasmas aller Versuchstiere ermittelt. Die Lebern erfahren tendenziell bei zunehmender Biotinversorgung eine Gewichtszunahme. Die Tiere der Gruppe M, die praktisch ohne Biotin aufgewachsen sind, haben ein durchschnittliches Lebergewicht von 15,03 g, die Lebergewichte der Tiere der Gruppe K liegen bei durchschnittlich 22,17 g und die der biotinsupplementierten Tiere bei 24,68 g. Da die Organgewichte in direkter Abhängigkeit zur Körpergröße stehen, sind bei den im Wachstum zurückgebliebenen Tiere geringere Organgewichte zu erwarten.

Zwischen den mit Biotin unterversorgten Gruppen (M und K) und der Gruppe B sind deutliche Unterschiede in den Leber- und Plasmabiotingehalten festzustellen. Die Gruppen M und K weisen mit Durchschnittswerten von 575 ng (M) und 595 ng (K) pro g Lebergewebe ähnliche Biotingehalte auf. Deutlich mehr Biotin ist in den Lebern der Tiere der Gruppe B nachzuweisen, deren Durchschnittswert mit 4980 ng/g fast

um das Zehnfache höher liegt. Ähnlich wie die Leberbiotingehalte verhalten sich die Plasmabiotingehalte, die in der Gruppe M durchschnittlich bei 403,3 ng/l (ohne den Ausreißerwert des Tieres 1, siehe 2. Laborbefunde, S. 61) und für die Gruppe K bei 450 ng/l liegen. Die Gruppe B besitzt einen um das Zehnfache höheren Biotingehalt im Blutplasma. Damit läßt sich trotz der geringen Anzahl an Meßwerten eine enge Korrelation der Biotingehalte des Plasmas und der Leberbiotingehalte vermuten. Bei dem Tier 1 der Gruppe M ist die enge Korrelation der Plasmabiotin- und der Leberbiotingehalte nicht gegeben. Es verwundert, daß bei gleicher restriktiver Biotinversorgung das Tier 1 der Gruppe M einen 3 - bis 4 fach höheren Plasmabiotingehalt aufweist und dieser relativ hohe Biotingehalt im Plasma sich dann nicht auf den Lebergehalt auswirkt, sondern dieser so niedrig ist wie der der übrigen Gruppenmitglieder.

Klinisch manifest wird der Biotinmangel in der vorliegenden Studie in Form von Hautläsionen im Bereich der Schnabel- und Augenwinkel sowie der Zehen und der Metatarsalballen bei allen Tieren der Gruppe M und teilweise auch bei Tieren der Gruppe K. Alle betroffenen Hautstellen werden besonders beansprucht, sei es durch eine starke Druckbelastung oder durch ständige Bewegung. Damit liegt der Schluß nahe - zu dem auch FRIGG und THORHORST (1980) gekommen sind -, daß in einer anhaltenden Biotinmangelsituation die exzessiv beanspruchten Hautstellen besonders empfindlich reagieren. Auch Hautareale, die in enger Nachbarschaft zu starren, hart verhornenden Hautabschnitten liegen wie beispielsweise die Scharnierregionen und die inneren Epidermisabschnitte zwischen den starren „scutate scales“, die als Pufferzone fungieren und überhaupt erst Bewegung in dem Bereich ermöglichen, sind stärker beansprucht. Demzufolge verwundert es auch nicht, daß in der vorliegenden Untersuchung auch in diesem Bereich ähnliche pathohistologische Veränderungen in Form blasig erweiterter Interzellularräume nachgewiesen werden konnten, während die hart verhornende äußere Epidermis der Schuppen unversehrt blieb. Damit ist das Auftreten der Biotinmangelsymptome zumindest im Anfangsstadium der Hypovitaminose in enger Beziehung zu weich verhornenden und gleichzeitig stark beanspruchten Hautabschnitten zu sehen.

Auch bei Säugetierspezies sind die stark beanspruchten Hautlokalisationen bei einem Biotinmangel besonders schwer betroffen. So stellen GLÄTTLI et al. (1975)

bei Ferkeln nach einer dreiwöchigen Biotinmangeldiät Erosionen am weich verhornenden Klauenballen, im Grenzbereich zwischen äußerer Haut und Kronsaum der Klauen sowie am Zungenrücken fest.

2.1 Biotinmangelbedingte Störungen im Ablauf der Keratinisierung

Die mit bloßem Auge faßbaren Veränderungen im Metatarsalballen lassen sich bei histologischer Betrachtung auf eine epidermale - und dermale Hyperplasie zurückführen. Eine Dickenzunahme der Epidermis ist nur im Bereich der Schuppen zu beobachten, während die Epidermis zwischen den retikulären Schuppen in ihrem Ausmaß nahezu unverändert bleibt. Wie die eigenen licht- und transmissions-elektronenmikroskopischen Untersuchungen ergeben haben und teilweise durch andere Autoren bestätigt wird, ist die Dickenzunahme der Epidermis unter den „reticulate scales“ hauptsächlich auf eine starke Verbreiterung des Stratum spinosum (Akanthose²) zurückzuführen, die teils durch eine erhöhte Mitoserate (FRIGG u. THORHORST, 1980) in den Basalzellen bedingt ist, teils durch ein interzelluläres Ödem mit stark erweiterten Interzellularräumen. Außerdem konnte in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden, daß es bei einem Biotinmangel zu einer gestörten Keratinfilamentbildung und zu einem Ausbleiben der orthokeratotischen Verhornung kommt. Zwei bedeutende Faktoren, die bisher unberücksichtigt blieben.

Im Stratum basale und im tiefen Stratum intermedium sind unterhalb der retikulären Schuppen die Sebokeratinozyten durch ein hochgradiges interzelluläres Ödem auseinander gedrängt. Der Verlust der engen Nachbarschaft der epidermalen Zellen zueinander und das Zerreißen der desmosomalen Zellkontakte bei einem interzellulärem Ödem (CHEVILLE, 1994) führen zu einem gestörten Informations- und Stoffaustausch zwischen den Epidermiszellen. Die für die Oberhaut lebensnotwendige Diffusion von Nährstoffen aus den Kapillaren der Lederhaut ist dabei stark eingeschränkt. Das erklärt auch die besonders schweren dyskeratotischen Veränderungen in den suprapapillären Abschnitten und dort besonders in den oberflächlichsten vitalen Zellagen, die direkt unterhalb der Hornschicht liegen.

² Akanthose (gr. Acanthosis): Vermehrung der Stachelzellen in der Epidermis (Pschyrembel)

Die Sebokeratinozyten im oberen Abschnitt des Stratum intermedium sind stark verändert im Sinne einer hydropischen Degeneration. Es fällt auf, daß die Intermediärzellen unterhalb der retikulären Hornschuppen kaum noch Zellorganellen besitzen und relativ wenig Keratinfilamente aufweisen. Außerdem sind die epidermalen Zellen teilweise sehr elektronenlicht und stark vergrößert, was für eine hydropische Degeneration spricht, die nach CHEVILLE (1994) durch das Auftreten expandierender Zellen und eine Lysis von Keratinfilamenten charakterisiert ist. Die geringe Anzahl an nachgewiesenen Keratinfilamenten und filamentbündel ist aber eher Ausdruck des Unvermögens der epidermalen Zellen, ihre Syntheseleistungen, wie eben die Bildung von Intermediärfilamenten und deren Verknüpfung, unter dem Einfluß eines Biotinmangels zu erbringen. Die interzellulären Erweiterungen im oberen Stratum intermedium sind im Gegensatz zu den tiefer gelegenen epidermalen Zellzwischenräumen überwiegend mit feinkörnigem Material angefüllt, in dem sich teilweise Reste von Zellorganellen befinden. Es ist daraus zu schlußfolgern, daß diese durch untergegangene Sebokeratinozyten entstanden sind, deren Zellmembran relativ früh der Degeneration unterliegt und somit das Zytoplasma mit Organellenresten im Interzellularraum nachzuweisen ist. An einigen Stellen der unmittelbar benachbarten Zellen lassen sich noch Membranreste der untergehenden Sebokeratinozyten in Form von Doppelmembranen erkennen.

Die Formveränderungen des Papillarkörpers resultiert in einer Oberflächenvergrößerung, die funktionell eine erhöhte Festigkeit zwischen Epidermis und Dermis und eine größere Diffusionsfläche zur besseren Ernährung der Oberhaut bedingen. Die Lederhaut bildet physiologischerweise generell nur dort einen ausgeprägten Papillarkörper aus, wo die nutritive Versorgung der Oberhaut per diffusionem entweder aufgrund der Dicke der Epidermis oder wegen erheblicher Druckbelastung problematisch ist wie beispielsweise in der Haut der Fußsohlen des Menschen, der Ballen der Hunde- und Katzenpfoten und natürlich auch in der Haut der Metatarsalballen des Huhnes. Daher ist die Formveränderung der Dermis eine Reaktion auf die biotinmangelbedingte epidermale Hyperplasie. Die vermehrte Anzahl und die größtenteils dilatierten Gefäßanschnitte in der Lederhaut wirken sich ihrerseits natürlich auch auf die Versorgung und Integrität der Oberhaut aus, so daß sich die Veränderungen der Dermis und Epidermis sich gegenseitig bedingen.

Eigene Untersuchungen ergeben weiterhin, daß die „multigranular bodies“ in der Epidermis beider Schuppenhäute bei Biotinmangel ihre chemische Zusammensetzung dahingehend ändern, daß PAS-positive Kohlenhydratverbindungen wie die Glucolipide nicht mehr nachweisbar sind und somit lichtmikroskopisch nicht sichtbar gemacht werden können. Trotzdem bleiben sie in den „scutate scales“ und in den Zwischenschuppenbereichen der „reticulate scales“ transmissionselektronenmikroskopisch darstellbar. Da die Hauptkomponenten der „multigranular bodies“ die doppelmembranbildenden Phospho- (LANDMAN, 1980) und Glykolipide sind, liegt der Schluß nahe, daß der Anteil an Glykolipiden in den „multigranular bodies“ bei einem Biotinmangel vermindert ist. In der stark geschädigten suprapapillären Epidermis der Metatarsalballen fehlen hingegen die „multigranular bodies“ sowohl im licht- als auch im elektronenmikroskopischen Präparat völlig. Während das in den weit oberflächlichen Abschnitten nicht weiter erstaunt, da dort die meisten der Zellorganellen degeneriert und nur noch selten darzustellen sind, ist ihre Abwesenheit in den tieferen Schichten der suprapapillären Epidermis auf eine gestörte Bildung der „multigranular bodies“ zurückzuführen, da hier andere Zellorganellen noch relativ gut erhalten sind. Damit scheint es offensichtlich, daß es zu Beginn der Biotinmangelsituation zu einer veränderten substantiellen Zusammensetzung der „multigranular bodies“ kommt, die die negative PAS-Reaktion bedingt, während bei einem fortgeschrittenen Biotinmangel keine „multigranular bodies“ mehr gebildet werden.

Während der epidermalen Differenzierung wird das Lipidmuster der Epidermis sowohl beim Säugetier als auch beim Vogel zu Gunsten der Neutrallipide verschoben. In der suprapapillären Epidermis der „reticulate scales“ kommt es bei Biotinmangel zu einer Änderung des Lipidmusters. Die deutliche Zunahme an neutralen Lipiden im Stratum corneum, wie sie in der Epidermis der biotinversorgten Tiere darzustellen ist, fehlt in den suprapapillären Abschnitten von Biotinmangeltieren. Ein offensichtlicher Grund dafür sind die fehlenden „multigranular bodies“, die durch ihre Umwandlung zu Fetttropfen an der Zunahme der Neutrallipide in der Hornschicht beteiligt sind. Vermutlich handelt es sich aber um ein multifaktorielles Geschehen, da Biotin als Coenzym der Acetyl-CoA-Carboxylase für die Bildung von freien Fettsäuren im Organismus unerlässlich ist und als Coenzym der Pyruvatcarboxylase für die Bereitstellung von Energie sorgt. Ein Fehlen essentieller Fettsäuren ist eine weiterer

Faktor, der in diesem Zusammenhang zu berücksichtigen ist. Es ist bekannt, daß ein Mangel an essentiellen Fettsäuren, besonders an Linol- und Arachidonsäure, beim sogenannten „essentiellen Fettsäuremangel“ (EFAD = essential fatty acid deficiency), der als Modell für Studien zum epidermalen Lipidmetabolismus bedeutsam ist, zu einem völligen Verlust der lamellären Strukturen in den „multigranular bodies“ führt. Darüber hinaus ist die lebende Epidermis selbst zur Synthese relativ großer Mengen von nicht essentiellen Fettsäuren befähigt (MONGER et al., 1988). So reagiert die Epidermis auf einen erhöhten transepidermalen Wasserverlust mit einer vermehrten Bildung freier Fettsäuren (GRUBAUER et al., 1987; OTTEY et al., 1995) und mit einer gesteigerten Sterolsynthese (PROKSCH et al., 1991). Die Zunahme der Fetttropfen in den Basalzellen der äußeren Abschnitte der „scutate scales“ bei Biotinmangel ist möglicherweise als Kompensationsversuch der Epidermis zu werten, um Hautfunktionsstörungen im obigen Sinne aufzufangen oder den erkrankten Organismus thermoregulatorisch stärker vor Wärmeverlust und damit vor Energieverlust zu schützen.

2.2 Störungen im Ablauf der Verhornung bei einem Biotinmangel

Über dem stark veränderten Stratum intermedium der Metatarsalballenepidermis befindet sich ein verdicktes aber lichtmikroskopisch in der Zellstruktur weitgehend unverändertes Stratum corneum. Da physiologischerweise die Erneuerung der Epidermis zirka zwei bis vier Wochen dauert (ALBERTS et al., 1995), sind die äußeren Hornzellagen zu Beginn des Versuchs, also noch unter relativ normalen Bedingungen gebildet worden. Da in den stark degenerierten Intermediärzellen unterhalb der Hornzellen kaum Keratinfilamente gebildet werden, und nahezu keine Keratinfilamentbündelung stattfindet, fehlen bei einem Biotinmangel die Voraussetzungen für eine Verhornung der epidermalen Zellen. Somit führt ein Biotinmangel in der dyskeratotischen suprapapillären Epidermis der Metatarsalballen von Biotinmangeltieren zu einer Verhornungsstörung der Epidermiszellen. Die typischen aviären Übergangszellen, in denen die Interaktionen zwischen den Keratinfilamentbündel mit den intermediärfilamentassoziierten Proteinen zu soliden Hornmassen beginnt, sind in der hochgradig geschädigten Biotinmangelhaut nicht nachzuweisen.

Statt dessen verlieren die Intermediärzellen ihre Integrität und degenerieren, so daß nach einem weiteren Abschilfern der toten oberflächlichen Hornzellen mit einem vollständigen Verlust oder einem Einbrechen des schützenden Stratum corneum zu rechnen ist.

Auf der Oberfläche der strukturell veränderten Metatarsalballen läßt sich im Ultradünnschnitt eine starke Besiedelung mit Bakterien nachweisen, während diese in Präparaten von gesunden Tieren nicht auftreten. Austretende Sekrete aus den Rissen in der Haut der Zehen und des Metatarsalballens sowie die tiefen Furchen zwischen den „reticulate scales“ bedingen ein Verkleben der Hautoberfläche mit Schmutz, was den erkrankten Ballen ihr dunkelverfärbtes Aussehen verleiht. Daher verwundert es auch nicht, daß im histologischen Schnitt in der Zwischenschuppenepidermis entzündliche Zellinfiltrate als Folge der biotinmangelbedingten, strukturellen Hautveränderungen nachzuweisen sind. Diese gravierenden pathologischen Veränderungen in der Epidermis, die letztendlich zu einer Dermatitis führen, kommen hauptsächlich in den Epidermisabschnitten unterhalb der „reticulate scales“ vor und ansatzweise in der weich verhornenden inneren Epidermis der „scutate scales“. Beide epidermalen Abschnitte sind besonderen Belastungen zum einen durch Druck und zum anderen durch die Nähe der weichen Zwischenschuppenabschnitte zu den hart verhornenden „scutate scales“ ausgesetzt. Außerdem bilden diese beiden Hautstellen weiches beziehungsweise intermediäres Horn (BRUSH u. WYLD, 1980) im Gegensatz zu dem harten Horn der äußeren Epidermisabschnitte der „scutate scales“. Daraus ist zu schlußfolgern, daß zum einen die mechanische Beanspruchung und zum anderen der Verhornungstyp der Hautabschnitte Faktoren sind, die die Empfindlichkeit gegenüber einem Biotinmangel bestimmen.

3. DER AKTIVITÄTSVERLUST DER ADENOSINTRIPHOSPHATASE BEI BIOTINMANGEL

In der vorliegenden Arbeit weisen die Endothelzellen und die Basalmembran der Gefäßanschnitte in der Lederhaut und der Subkutis der verschiedenen untersuchten Hautproben der biotinsupplementierten Tiere eine hohe Aktivität der membranständigen Mg^{2+} -abhängigen Adenosintriphosphatase auf (KRIKOR et al. 1993), die mit der Methode nach WACHSTEIN und MEISEL (1975) in den Blutkapillaren gut darzustellen ist (QUINONES u. BOGAERT, 1978). In der Haut der Biotinmangeltiere zeigen alle untersuchten Lokalisationen einen Aktivitätsverlust der Mg^{2+} -abhängigen Na^+ - K^+ -Adenosintriphosphatase in den Gefäßanschnitten der Lederhaut, also auch die sonst mikroskopisch unveränderte befiederte Haut von Biotinmangeltieren. Damit steht der Aktivitätsverlust der Na^+ - K^+ -ATPase am Beginn der dermatopathologischen Genese eines Biotinmangels.

Die membranständige Na, K-Pumpe transportiert unter Energieverbrauch (aktiver Transport) drei Natriumionen aus der Zelle heraus und gleichzeitig zwei Kaliumionen aus dem interzellulären Raum in die Zellen hinein (SKOU, 1988) und hält somit das für Transportvorgänge wichtige negative Membranpotential der Zellen aufrecht. Die Energie für diesen Transport wird aus der Hydrolyse des energiereichen Adenosintriphosphates (ATP) zu Adenosindiphosphat (ADP) und anorganischem Phosphat (Pi) gewonnen. Bei einer gehemmten Na, K-Pumpe kommt es gemäß des Konzentrationsgefälles zu einem Ausgleich der Kalium- und Natriumionen im intra- und extrazellulären Raum und zu einem Verlust des Membranpotentials. Ursache für ein inaktives Enzym kann das Fehlen seines Substrates sein, in diesem Fall des Adenosintriphosphats, was bei katabolen Prozessen wie der Glykolyse und der β -Oxidation direkt entsteht oder über ein Energieäquivalent wie $NAD(P)H+H^+$ in der mitochondrialen Atmungskette gebildet wird. Wie CULIC et al. (1997) an Endothelzellen der Aorta des Schweines herausgefunden haben, wird das Adenosintriphosphat zu drei Vierteln aus der Glykolyse gewonnen, so daß die biotinmangelbedingte Hemmung der Pyruvatcarboxylase (ARINZE u. MISTRY, 1971; ATWAL et al., 1972), die für die Glukoneogenese ein Schlüsselenzym darstellt, ursächlich für einen Aktivitätsverlust der Natrium-Kalium-Pumpe mitverantwortlich gemacht werden kann. Da die Endothelzellen einen Energie- und Sauerstoffmangel relativ gut tolerieren (CULIC et al., 1987), in dem sie die ATP-Synthese und den ATP-

Verbrauch reduzieren, wenn die Glykolyse nicht ablaufen kann, läßt sich der Aktivitätsverlust der ATPase in der befiederten Haut der untersuchten Biotinmangelhühner aus der Hypoglykämie (BANNISTER et al., 1976) erklären.

Der Verlust des Na^+ - K^+ -Gradienten, der durch eine inaktive, membranständige Adenosintriphosphatase zu erwarten ist, wirkt sich bei tierischen Zellen nachweislich auf den Transport von Zuckern und Aminosäuren (STRYER, 1987) aus. Die Bausteine gelangen dabei durch ein Na^+ -Symportsystem, das indirekt durch die Na-K-Pumpe angetrieben wird, aus dem extrazellulären Raum in die Zellen. Es ist denkbar, daß ein biotinmangelbedingter Aktivitätsverlust der ATPase in den dermalen Endothelzellen zu einer Hemmung von Transportmechanismen führt, die eine Unterversorgung der Haut mit essentiellen Molekülen zur Folge haben. Es bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten zu klären, auf welchem Weg ein Biotinmangel zu einem Aktivitätsverlust der dermalen ATPase führt. Denn neben dem Mangel an ATP spielen nachweislich auch Stoffwechselmetabolite wie Fettsäuren (HUANG et al., 1986) und Pyruvat (SUSSMAN et al., 1993), unabhängig vom Energiestatus der Zellen, für die Aktivität der Na^+ - K^+ -Pumpe eine Rolle.