

2 Literaturübersicht

Als Ausgangspunkt sollen im ersten Teil der Literaturübersicht die gegenwärtigen Kenntnisse zur Struktur der gesunden Hühnerhaut und ihrer Gebilde dargelegt werden. Im zweiten Teil schließt sich eine Darstellung des aktuellen Wissensstandes zu Zytokeratinen unter besondere Berücksichtigung von Charakteristik, Nomenklatur, Vorkommen und immunhistologischer Visualisierung an.

2.1 Haut und Hautgebilde von Hühnervögeln

2.1.1 Funktion und Aufbau der Vogelhaut

Das größte Organ aller Wirbeltiere ist die Haut (Integumentum commune).

Als äußere Bedeckung des Körpers erfüllt sie zwei Hauptaufgaben:

Zum einen schließt sie den Körper nach außen ab und schützt somit vor Austrocknung. Sie dient der Wärmeregulation, der Stoffausscheidung und der Energiespeicherung in speziellen Fettdepots.

Zum anderen hat sie vor allem eine Schutzfunktion vor chemischen und physikalischen Reizen der Umwelt sowie Infektionserregern und spielt als Sinnesorgan eine wichtige Rolle (KÜNZEL, 1990; SALOMON, 1993).

Auffälligste Besonderheit der Haut der Vögel ist, dass sie das für diese Wirbeltierklasse charakteristische Federkleid oder Gefieder bildet und trägt (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992). Neben dem passiven Wärmeschutz dient hauptsächlich das Gefieder als Kommunikationsfläche für Artgenossen und Artfremde und ermöglicht dem Vogel überhaupt das Fliegen (KÖNIG et al., 2001).

VOLLMERHAUS und SINOWATZ (1992) sowie KÖNIG et al. (2001) unterscheiden demnach auch unter funktionellen Aspekten befiederte und unbefiederte Hautregionen mit ihren jeweiligen morphologischen und histologischen Besonderheiten.

Grundsätzlich und ungeachtet deutlicher Differenzierungen in verschiedenen Körperregionen und bei den einzelnen Spezies ist die Vogelhaut in Homologie zu anderen Vertebraten dreischichtig aufgebaut. Sie besteht von außen nach innen aus der ektodermalen Epidermis (Oberhaut) und dem mesodermalen Korium (Lederhaut, Dermis), die gemeinsam das Integumentum proprium, also die Haut im engeren Sinn (Cutis) bilden, sowie der ebenfalls mesodermalen Subkutis (Unterhaut, Tela

subcutanea) (KÜNZEL, 1990; VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; SALOMON, 1993). Die Vogelhaut besitzt keine Schweißdrüsen. Talgdrüsen kommen vogelartspezifisch vor und sind dann auf drei Hautgebiete beschränkt. Die Bürzeldrüse, Glandula uropygialis, hat ihren Sitz über den freien Schwanzwirbeln, die Glandulae auriculares im äußeren Gehörgang und die Afterdrüsen, Glandulae venti, in der Kloake (PASS, 1989; VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; KÖNIG et al., 2001).

Analog zur behaarten Haut der Säuger ist die Vogelhaut unter dem Gefieder dünn. Dagegen ist die ungeschützte, nicht befiederte Haut dicker und widerstandsfähiger. Sie ist eigens zur Bildung von Anhängen befähigt und trägt insbesondere mit speziellen Modifikationen wie verschiedensten Horngebilden zusätzlichen mechanischen Anforderungen Rechnung (KÖNIG et al., 2001).

2.1.2 Anhangsgebilde der Hühnerhaut

Besondere Anhangsgebilde der Haut finden sich bei Hühnervögeln (*Gallus gallus*) am Kopf mit einer vertikalen Hautduplikatur über dem Stirnbein, dem Kamm (*Crista carnosus*) bzw. einer Art federbildendem Kamm, der Haube (*Crista pennarum*). Weitere, histologisch ähnliche Hautduplikaturen sind die paarigen, ventral an den Unterkieferästen angelegten Kehllappen (*Paleae*), die Wangen- oder Ohrlappen (*Lobi auriculares*) und der Rictus, ein dreieckiges Hautfeld in der Umgebung der Mundwinkel als Analogon zu den Lippen der Säuger (SALOMON, 1993).

2.1.3 Horngebilde der Hühnerhaut

Die Epidermis besitzt die Fähigkeit zu verhornen. Durch fortschreitende Differenzierung eines spezialisierten Gewebes bildet sich eine funktionell einheitliche Struktur (KÜNZEL, 1990). Die Verhornung kann insbesondere an unbefiederter Haut so stark sein, dass an umgrenzten Stellen sogenannte Horngebilde entstehen. Beim Huhn zählen zu diesen besonderen Bildungen der Schnabel (*Rostrum*), der Sporn (*Calcar*) und die großen und kleinen Hautschuppen (*Scuta* bzw. *Scutella*) an der als *Podotheca* bezeichneten, nicht befiederten Haut des Laufes (*Tarsometatarsus*) und

der Zehen sowie die Fußballen (Pulvini), die Krallen (Ungues) und nicht zuletzt die Federn (KOLB, 1991; SALOMON, 1993).

2.1.3.1 Verhornungsarten

Eigens an den Horngebilden können nach strukturellen Merkmalen zwei Arten der Verhornung unterschieden werden, die „harte“ und die „weiche“ Verhornung (KÜNZEL, 1990). Bei ersterer bleiben die Zellen in einem festen Zusammenhang und ermöglichen eine Formbildung. Strukturell werden die Zellen unter anderem durch sogenannte „harte“ Keratine (FRASER und MacRAE, 1980) geprägt, die bei Mensch und Tier typisch für Haar und Nägel formende Zellen sind und ebenso in den Papillen der Zunge wie in Retikulumzellen des Thymus vorkommen (Trichozyten) (LYNCH et al., 1986; HEID et al., 1988, CARVER und SAWYER, 1989). Die aus „hartem“ Horn bestehenden Anteile der spezialisierten Hühnerhaut umfassen die äußere Epidermis der „skutellaten“ Schuppen (vgl. Kap. 2.1.3.2) der Podotheken, den Sporn, den Krallenrücken und die Schnabelkanten sowie die Federn (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; KÖNIG et al., 2001).

Bei der „weichen“ Verhornung dagegen schilfern die Hornzellen in den äußeren Epidermislagen ständig ab. Diese Verhornungsart ergibt nur eine Bestanderhaltung der Gewebe und ist insgesamt für die, durch „weiche“ Keratine (entspricht Zytokeratinen) gekennzeichnete, nicht spezialisierte Epidermis charakteristisch (FRASER und MacRAE, 1980; KÜNZEL, 1990). Für die spezialisierten Horngebilde der Vögel ist die „weiche“ Verhornung in den Gebieten der inneren Epidermis und der Zone zwischen den Schuppen (Scharnierregion) der Podotheca typisch (LUCAS und STETTENHEIM, 1972); aber auch am Schnabelgrund und auf den Plantarflächen der Krallen findet sich entsprechend „weiches“ Horn (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; KÖNIG et al., 2001).

Die Härte des Hornes der Ballenhaut nimmt eine Mittelstellung zwischen diesen beiden Hornarten ein und wird, unter anderem charakterisiert durch ein Keratin mit mittlerem Molekulargewicht, als „intermediäres“ Horn bezeichnet (LUCAS und STETTENHEIM, 1972; SAWYER et al., 1986).

2.1.3.2 Schuppentypen

Die unbefiederte Haut des Laufes und der Zehen bildet verschiedene Schuppentypen aus, die nach Form, Feinstruktur und Entwicklung eingeteilt werden können. Einerseits differenzieren sich Epidermis und Korium auf der Dorsalfläche des Laufes und der Zehen in die großen Quertafeln (*Scuta*) und an der Plantarfläche des Laufes in die kleineren, meist sechseckigen Schildchen (*Scutella*) (LUCAS und STETTENHEIM, 1972). Große und kleine Schuppen des Tarsometatarsus werden als „skutellate“ Schuppen zusammengefasst (MEYER und RÖHRS, 1986).

Eine andere, in Entwicklung und Feinstruktur verschiedene Schuppenart sind die „retikulaten“ Schuppen (Reticulae) der Ballen des Mittelfußes und der Zehen (SAWYER und BORG, 1979, MEYER und RÖHRS, 1986).

LUCAS und STETTENHEIM (1972) bezeichnen auch die kleinen Schuppen an den Seitenflächen des Laufes und lateral und plantar der Zehen als Reticulae, während SAYWER und CRAIG (1977) diese nach ihrer Feinstruktur und Entwicklung in „retikulate“ und „interstitielle“ Schuppen unterteilen, erstere plantar an den Zehen, letztere an den Seitenflächen des Tarsometatarsus zu finden.

2.1.4 Allgemeiner histologischer Aufbau

2.1.4.1 Epidermis

2.1.4.1.1 Embryonale Entwicklung

Die embryonale Entwicklung der Epidermis ist bei LUCAS und STETTENHEIM (1972) für das Huhn beschrieben. Zunächst wird mit dem 2. Embryonaltag (ET) ein Periderm, das sich vom Ektoderm ableitet, gebildet. Ungefähr mit dem 5. ET sind bereits zwei Schichten vorhanden: ein äußeres Periderm und eine innere Basalschicht. Während das äußere Periderm bereits eine kontinuierliche Schicht, das Epiderm, bildet, besteht die Basalschicht zunächst nur aus einzelnen Zellen. Mit fortschreitender Mitose in beiden Schichten wird ein unabhängiges Wachstum ermöglicht. Eine vollständige Basalschicht ist erst mit dem 12. ET nachweisbar. Ab diesem Alter beginnen die Zellen dann eine intermediäre Schicht auszubilden und

bis zum 17. ET wird ein echtes keratinisierendes Epithel geformt, das nun mit der Ausformung der ersten Hornzellschicht als Epidermis adulte morphologische Charakteristiken erwirbt (PARAKKAL und MATOLTSY, 1968). Das Periderm wird, außer im Bereich des Kammes, wo es bis nach dem Schlupf persistieren kann, bis zum 18. ET abgestreift.

2.1.4.1.2 Aufbau der adulten Epidermis

Die Epidermis besteht aus einem mehrschichtigen, verhornenden Plattenepithel. Ihr histologischer Aufbau variiert zwischen den Vogelarten wenig, aber ihre Dicke ist speziesspezifisch und nach den Körperregionen sehr verschieden (AHMED et al., 1968, MATOLTSY, 1969). Beim Huhn ist die durch Federn geschützte Epidermis im Bereich des Körperrückens dicker als im Ventralbereich, während die unbefiederte Haut an den Ballen insgesamt die größte Dicke aufweist (AHMED et al., 1968).

Die Keratinozyten bilden die hauptsächliche Zellart in der Epidermis. Sie produzieren hauptsächlich Keratin als Hauptcharakteristikum der verhornenden und verhornten Zellen, das in den epithelialen Zelllagen der Haut charakteristische Filamente (Tonofilamente) ausbildet (MATOLTSY, 1969; KÜNZEL, 1990).

Darüber hinaus bilden die Keratinozyten der Vögel als Besonderheit zudem vermehrt Lipide (CANE and SPEARMANN, 1967; MATOLTSY, 1969; FREINKEL, 1972, LUCAS und STETTENHEIM, 1972; MENON et al., 1981; ELIAS et al., 1987). Entsprechend wird diese Epithelzellart beim Vogel auch als Sebokeratinozyt (Sebokeratozyt) bezeichnet (WRENCH et al., 1980, ELIAS et al., 1987).

Bei allen Wirbeltieren werden die Keratinozyten durch die gesamte Dicke der Epidermis von unten nach oben geschoben und kontinuierlich abgestoßen (KOLB, 1991). Dabei machen sie charakteristische Veränderungen durch (MATOLTSY, 1969), die eine Gliederung in Zellschichten erlaubt.

Schichtung

Grundlegend beschreiben LUCAS und STETTENHEIM (1972) die aviäre Epidermis von innen nach außen mit einem Stratum basale, einem Stratum intermedium,

einem Stratum transitivum und einem Stratum corneum. Letztere Schicht bildet die aus verhornten, toten Zellen (Keratozyten) bestehende Hautoberfläche. SAWYER et al. (1986) grenzen von der Hornschicht die übrigen Lagen lebender Zellen ab, indem sie diese zu einem Stratum germinativum (Regenerationsschicht nach KOLB, 1991) zusammenfassen.

Die unterste, meist einreihige Lage iso- bis hochprismatischer Zellen mit kugelförmig bis ellipsoid konturiertem Zellkern bildet das **Stratum basale** (LUCAS und STETTENHEIM, 1972). Die Basalzellen sitzen, durch Hemidesmosomen (punktförmige Haftkomplexe) verankert, unmittelbar der Basalmembran auf, die die Epidermis vom Korium trennt (MATOLTSY, 1969).

MATOLTSY beschreibt 1969 ausführlich die ultrastrukturellen Merkmale der wenig differenzierten Basalzelle. Sie besitzt einen große Zellkern, schmales Zytoplasma und Verzahnungen mit der jeweiligen Nachbarzelle über unregelmäßige Einziehungen und Ausbuchtungen der Plasmamembran. Ihr Zytoplasma enthält zahlreiche freie oder an endoplasmatisches Retikulum (ER) gebundene Ribosomen. In nur mäßiger Anzahl sind dagegen glattes ER und Mitochondrien vorhanden. Wenige Lipid- und Glykogentropfen sind erkennbar. Auch einzelne Filamente (vgl. Tonofilamente) mit einer Dicke von 6 bis 8 nm sind sichtbar, die sich zu größeren Bündeln (Tonofibrillen) vereinigen können. Eine spärliche Menge an Filamentbündeln sind hauptsächlich in der Nähe von Desmosomen, den zellverbindenden Haftkontakten, und von Hemidesmosomen sichtbar (MATOLTSY, 1969). Die Basalschicht ist die Bildungsschicht, Stratum germinativum, im engeren Sinn, da hier die Keratinozyten ständigen Mitosen unterliegen (LUCAS und STETTENHEIM, 1972). Die sich differenzierenden Tochterzellen werden in Richtung Hautoberfläche geschoben, verhornen zunehmend und ersetzen schließlich die abgeschilferten Hornschuppen

Das sich anschließende, je nach Körperregion zwei bis vier Zellreihen starke **Stratum intermedium** besteht aus großen polygonalen Zellen mit runden Zellkernen. Einerseits ist es dem *Stratum spinosum* der Säuger weitgehend homolog, da auch hier Desmosomen vorkommen, aber sie erscheinen lichtmikroskopisch weniger deutlich (SPEARMAN, 1983). Die Zellen besitzen große Zellkerne mit deutlichen Kernkörperchen (CANE und SPEARMAN, 1967). Das

Zytoplasma verfügt im Zentrum über zahlreiche Ribosomen. Das vermehrte Vorkommen an glattem ER und anderen tubulären Systemen (Golgi-Apparat), aber auch die Zunahme an Lipidtropfen und multigranulären Körperchen (multigranular bodies) in diesem Bereich, lässt ein hohes Maß an Syntheseaktivität erkennen (MATOLTSY, 1969). Neue Filamente werden im Randbereich der Zellen sichtbar und eine amorphe Substanz lagert sich an, das Keratohyalin. Diese Einlagerungen vergrößern sich in den oberen Zelllagen, nehmen eine unregelmäßige Form an und werden von MATOLTSY (1969) als Keratohyalingranula beschrieben, die den Prozess der Verhornung kennzeichnen (KÜNZEL, 1990). Die Keratohyalingranula sind lichtmikroskopisch basophil, aber da sie sehr klein sind, gelingt ihr Nachweis in aviärer Epidermis nur elektronenmikroskopisch (MATOLTSY, 1969; HODGES, 1974). Mit dem Nachweis dieser Granula erhält die dünne äußere Zelllage des Stratum intermedium den Charakter eines *Stratum granulosum*, das in der aviären Epidermis aber nur an spezifischen Hautstellen wie den Apterien, den Pterysten und der inneren Epidermisoberfläche als auch der Scharnierregion der „skutellaten“ Schuppen des Tarsometatarsus und der Zehen gefunden wird (PARAKKAL und MATOLTSY, 1968; MATOLTSY, 1969; SAWYER et al., 1986); diese Areale unterliegen der „weichen Verhornung“ (SAWYER et al., 1974).

Ein Stratum granulosum ist dagegen nicht in der äußeren Epidermis der „skutellaten“ Schuppen und den „retikulaten“ Schuppen des Ballens nachweisbar, wo SAWYER und BORG (1979) entsprechend keine Keratohyalingranula nachweisen konnten. In den oberen Zelllagen des Stratum intermedium beschreibt MATOLTSY (1969) die fortschreitende Verbindung der Keratohyalinmassen im jeweiligen Randbereich der Zellen und die spätere Ausformung eines dichten kortikalen Bandes unter Einbeziehung des dort befindlichen Filamentnetzes. Einzeln sichtbare Tonofibrillen kommen in sich differenzierenden Zellen wenig vor; sie verlaufen dann durch die ganze Zelle und verbinden entfernte Desmosomen.

Nicht zuletzt erkennt MATOLTSY (1969) auch „multigranular bodies“ in den oberen Zelllagen des Stratum intermedium. Sie sind hier groß und über das Zytoplasma verteilt. Dagegen nehmen Ribosomen, Mitochondrien und tubuläre Elemente in der Anzahl wieder ab.

Die folgende Zelllage, das **Stratum transitivum**, bildet sich aus abgeflachten Zellen mit kleinen Kernen, die schon weitgehend verhornen, und durch eine starke Eosinophilie des Zytoplasmas gekennzeichnet sind (CANE und SPEARMAN, 1967).

Bei SAWYER et al. (1986) geht diese Schicht unerwähnt im Stratum intermedium auf.

In den Zellen sind noch Filamente, Keratohyalin, Lipidtropfen und Reste der „multigranular bodies“ sichtbar, doch mit zunehmender Abflachung überwiegt in den Zellen eine elektronendichte Substanz, die die Zwischenräume des Filament-Keratohyalin-Komplexes ausfüllt (MATOLTSY, 1969). Im Zentrum der Zellen sind noch Lipidreste sichtbar (MATOLTSY, 1969). Wiederum ist je nach Körperregion die Zahl der Zellreihen dieser Schicht unterschiedlich. Sie reicht von einzelnen Übergangszellen bis zu mehreren Zellreihen (LUCAS und STETTENHEIM, 1972).

Die Lage kernloser, toter Zellen, die Hornzellschicht, **Stratum corneum**, bildet den Abschluss der Haut gegenüber der Umwelt. Die Anzahl der Zellreihen variiert je nach mechanischer Beanspruchung stark (AHMED et al., 1968).

Die eosinophilen Zellen sind flach (HODGES, 1974) und besitzen eine verdickte Plasmamembran (MATOLTSY, 1987). Sie enthalten Lipide sowie Filamente und eine amorphe Matrix, die sich vom Keratohyalin ableitet (MATOLTSY, 1987).

Mit zunehmendem Alter sind im Stratum corneum keine Lipide mehr nachweisbar (HODGES, 1974). An den Enden sind die Hornzellen zu Lamellen verbunden (CANE und SPEARMAN, 1967).

Die einzelnen Schichten der Epidermis sind schematisch in Abbildung 1 dargestellt.

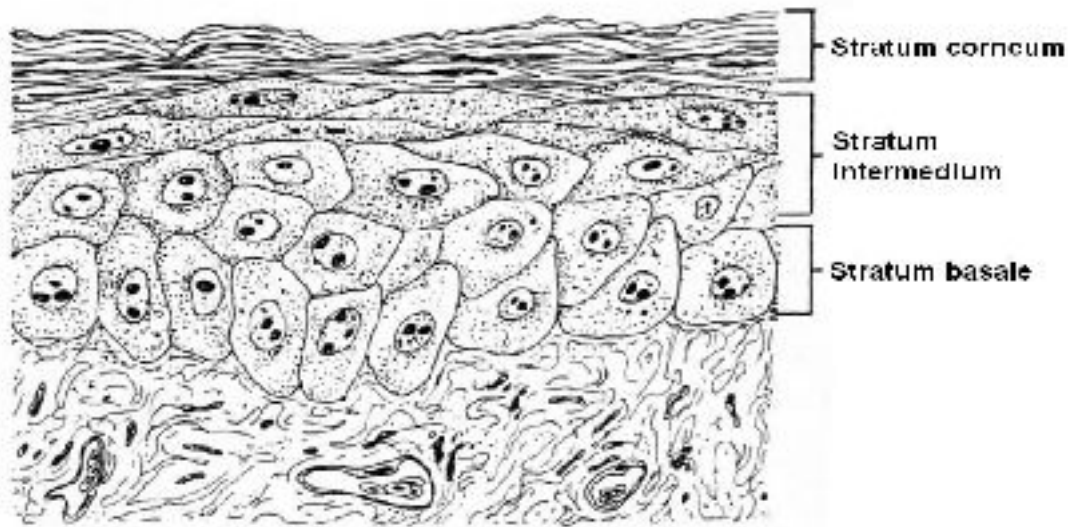


Abb. 1: Aufbau der Epidermis des Huhnes
 (nach VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992)

2.1.4.2 Korium

Das Korium der Hühnervögel ist dünner als das der Säugetiere und besteht aus zwei unterschiedlich beschaffenen bindegewebigen Lagen (McEWAN JENKINSON und BLACKBURN, 1968). Das Stratum superficiale stellt eine locker gefügte obere Lage mit regional unterschiedlicher Dicke dar. Sie bildet nur unter den Federfollikeln (KÖNIG et al., 2001) und an den Zehenballen (PREUSS und DONAT, 1993) einen deutlichen Papillarkörper aus, ansonsten formen sich Leisten- und Falten in Kongruenz zur Oberflächenform der Epidermis aus (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992).

Das Stratum profundum ist die tiefere Lage. Es teilt sich in ein Stratum compactum, eine dichte Lage, und ein Stratum laxum, eine lockere Lage. In letzterer befinden sich auch glatte Muskelzellen. Einerseits regulieren sie die Hautspannung, andererseits verbinden sie bandförmig die Federfollikel miteinander und dienen somit der Bewegung der Federn (OSTMANN et al., 1963; McEWAN JENKINSON und BLACKBURN, 1968). VOLLMERHAUS und SINOWATZ (1992) bezeichnen diese Muskelzüge auch als „echte“ Haut- bzw. Federmuskeln.

2.1.4.3 Subkutis

Unter dem Integumentum proprium liegt die durch Faszien begrenzte Subkutis (HODGES, 1974). Sie setzt sich aus locker angeordneten Bindegewebsbündeln mit reichlich eingelagerten Fettgewebsläppchen zusammen (PASS, 1989). Dazwischen verlaufen quergestreifte Muskeln, die am Skelett oder an dessen Muskulatur befestigt sind und die Hautspannung regulieren (SALOMON, 1993). Von VOLLMERHAUS und SINOWATZ (1992) werden sie auch „unechte“ Hautmuskeln genannt. Die Subkutis dient dem Integumentum proprium als Verschiebeschicht und enthält kranial über dem Brustbein beim Huhn einen Schleimbeutel, Bursa sterni (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; KÖNIG et al., 2001).

2.1.5 Federn

Der überwiegende Teil des Vogelkörpers wird von Federn (Pennae) bedeckt, die von der Haut gebildet werden und letztlich auch zu ihren Horngebilden gehören. Sie werden phylogenetisch als Abkömmlinge der Reptilschuppen angesehen (MEYER und RÖHRS, 1986; KOLB, 1991).

2.1.5.1 Federentwicklung (Ontogenese)

Im Gegensatz zum Haar der Säugetiere, das als epidermale Zellsäule entsteht, weist die Feder in ihrer Entstehungsphase einen zentralen Lederhautanteil auf.

Einleitend verdicken sich lokal Epidermis und darunter liegendes Korium. Im Folgenden verdichtet sich die Lederhaut zu einer Papille, über der sich dann die zapfenförmige Federanlage mit dem epidermale Überzug erhebt (SALOMON, 1993). Gleichzeitig senkt sich die Basis der Federanlage schlauchartig in die Haut ein. Es entsteht ein vielschichtiger doppelwandiger Epithelschlauch mit zentralem bindegewebigem vaskularisiertem Mark. Eine dünne Schicht verhornter Epithelzellen bildet dabei die Federscheide.

Von der epithelialen Matrixzone aus wird das Epithelrohr distal geschoben und enthält anfangs das Koriummark und ein Zentralgefäß, das sich im Laufe der

weiteren Entwicklung zusammen mit einem innenständigen Rest von Epithelzellen zurückzieht. Nun platzt die verhornte Federscheide, an der Federspitze beginnend, auf und bis zu einer kleinen Öffnung, dem oberen Nabel, kann sich die Feder entfalten; im Bereich der Federspule bleibt das Epithelrohr kreisrund. Nur noch vereinzelte querstehende Hornwände formen die luftgefüllten Kammern, die „Federseele“ der Spule (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992).

2.1.5.2 Federfollikel

Mit der Entwicklung einer Feder senkt sich die Haut zylindrisch (KÖNIG et al., 2001) und je nach Federgröße mehr oder weniger tief in Korium und Subkutis ein (HODGES, 1974). Die entstehende Höhle aus Korium und Epidermis wird als Federbalg oder -follikel (Folliculus) bezeichnet. Dabei bildet das Korium die äußere Follikelscheide und umgibt wie ein Strumpf die differenzierte Epidermis, die, bestehend aus einer äußeren Schicht lebender und einer die Follikelhöhle begrenzenden Schicht toter, verhornter Epidermiszellen, die innere Follikelscheide darstellt (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; SALOMON, 1993). An der Follikellederhaut setzen die glatten Federmuskeln an, die die Feder aufrichten und anlegen (SALOMON, 1993). Die epidermale Follikelwand umschließt die verhornte Wand der Federspule eng und verankert die Feder bis zur Mauser fest in der Haut (OSTMANN et al., 1963; ANGEL et al., 1982).

Das Korium formt am Grunde der Follikelhöhle eine bindegewebige Papille (McEWAN JENKINSON und BLACKBURN, 1968; VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992; SALOMON, 1993). Diese in den unteren Nabel (Umbilicus proximalis) der Federspule hineinragende Lederhautpapille ist gut durchblutet, besonders stark bei wachsenden Federn (OSTMANN et al., 1963), und geht in deren mesodermales Mark mit einer zentralen Arterie und einer Vene über (KÖNIG et al., 2001). Diese Federpulpa (McEWAN JENKINSON und BLACKBURN, 1968) dient der Nährstoffversorgung der Epidermis während der Federbildung und ist bei der reifen Feder zurückgezogen, so dass die Federspule, Luftkammern bildend (KÖNIG et al., 2001), weitgehend hohl erscheint (OSTMANN et al., 1963).

Die Epidermis ist im Bereich der Follikelbasis zu einem Epidermalkragen (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992), auch Matrix oder Ringwulst genannt

(SALOMON, 1993), verdickt. Bei jeder Federentwicklung proliferieren von hier aus die lebenden Epidermiszellen und der epidermale Federanteil entsteht, dessen tote Hornzellen die Federscheide bilden und die Spule als auch die Federanlage umgeben (SALOMON, 1993).

2.1.5.3 Federarten und Federstruktur

Die verschiedenen Federarten werden nach Bau und Funktion unterschieden.

So bestimmt die Konturfeder (*Penna contura*) das äußere Erscheinungsbild der Vögel. Ihr Aufbau aus Federkiel (*Scapus*) und festgefügtter Federfahne (*Vexillum*) ermöglicht es, gleichermaßen Deck- und Flugfeder zu sein (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992). Der in der Hautvertiefung, dem Federfollikel oder -balg, sitzende Anteil des Federkiesels wird als Federspule (*Calamus*) und der sichtbar aus der Haut ragende Anteil als Federschaft (*Rhachis*) bezeichnet (HODGES, 1974; VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992). Den Übergang markiert der obere Nabel (*Umbilicus distalis*). Hier entspringt eine zumeist kleine Nebenfeder (*Hypopenna*) (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992).

Die Flaumfedern oder echte Dunen (*Plumae*) werden erst sichtbar, wenn die Konturfedern angehoben werden. Sie bestehen nur aus einer Spule und einem großen Büschel Hornfädchen. Ihre Funktion als Wärmeisolatoren wird bei Hühnervögeln von Halbdunen (*Semiplumae*) übernommen, die zusätzlich einen deutlichen Schaft besitzen (KÖNIG et al., 2001).

Weitere Federarten mit speziellen Funktionen sind die Fadenfedern (*Filoplumae*) an den Augenlidern, weiterhin die am Kopf konzentrierten Borstenfedern (*Setae*) und die Puderfedern (*Pulviplumae*) (VOLLMERHAUS und SINOWATZ, 1992).

2.1.5.4 Befiederung (Federraine, Federfluren)

Das Huhn gehört zu den Vogelarten, bei denen die Federn nicht gleichmäßig über den ganzen Körper verteilt, sondern in typischer Weise in Gruppen angeordnet sind (LUCAS und STETTENHEIM, 1972; STETTENHEIM, 1972). Nach den *Nomina anatomica avium* (CLARK, 1993) werden die konturfedertragenden Hautareale als

Federfluren, Pterylae (Sing. Pteryla) bezeichnet. Diese werden von konturfederlosen, dafür vereinzelt Dunen tragenden Hautgebieten, den Federrainen, Apteria (Sing. Apterium), getrennt. Die Anordnung der 70 Federfluren, von denen es je nach Größe und Dichte der Federbälge starke und schwache gibt, ist von Vogelart zu Vogelart verschieden und für das Huhn ausführlich bei LUCAS und STETTENHEIM (1972) beschrieben.

2.1.6 Bau spezieller Hautgebiete des Huhnes unter besonderer Betrachtung der Epidermis in unterschiedlichem Lebensalter

2.1.6.1 Federraine (Apteria)

Der Hautaufbau der Apteria ist einfach und übersichtlich. In der besonderen Betrachtung der Epidermis beschreiben LUCAS und STETTENHEIM (1972) diese insgesamt als dünn und klar geschichtet. Beispielhaft sei das Apterium pectorale für den 1. Lebenstag (LT) und den 150. Lebenstag beschrieben:

Das Stratum germinativum ist am 1. LT zwei bis drei Zellen dick. Auf eine Lage Basalzellen, die zunächst breiter als hoch sind, folgt eine Lage Intermediärzellen. Auch eine Lage Übergangszellen (Stratum transitivum) sind nachweisbar. Das Stratum corneum ist mit vier bis fünf Lagen abgeflachter Zellen extrem dünn. Mit zunehmendem Lebensalter nimmt in erster Linie die Hornzellschicht an Dicke zu, so dass mit dem 150. LT das Stratum corneum mit ca. 15-20 Zelllagen insgesamt dicker als das Stratum germinativum ist (LUCAS und STETTENHEIM, 1972).

2.1.6.2 Federfluren (Pterylae)

Der Aufbau der Haut der Pterylae ist durch das Vorhandensein von Federfollikeln und anderen Hautstrukturen (Muskeln, Nerven, Blutgefäße) insgesamt komplexer als der der Apteria. Ungeachtet dieser besonderen Strukturen im Integumentum proprium konstatieren LUCAS und STETTENHEIM (1972) prinzipiell den gleichen Aufbau der Epidermis bei Apteria und Pterylae in entsprechenden Hautregionen und

Altersgruppen. MATOLTSY (1969) gibt für das Stratum corneum der befiederten Rückenhaut von Eintagsküken eine Dicke von 15-20 Reihen an und beschreibt zudem die Hornzellen als äußerst flach.

2.1.6.3 Ballen (Pulvini)

Mit abgekapselten Fettgewebkörpern als Grundstock unterlagern die Ballen entsprechend der mechanischen Belastung die Zehengelenke und werden nach Lokalisation in Sohlenballen (*Pulvinus metatarsalis*) und Zehenballen (*Pulvinus digitalis*) unterteilt. Der Sohlenballen allein besitzt drei unterschiedlich große Fettgewebkörper, die von einer Lederhaut mit ausgeprägtem Papillarkörper straff überzogen sind. Die darüberliegende Epidermis ist mit der Lederhaut fest verbunden und entspricht im Wesentlichen dem allgemeinen Aufbau. In deutlicher Weise nimmt hier das Stratum corneum im Vergleich zu anderen Hautstellen in allen Lebensaltern die größte Dicke an (AHMED et al., 1968). Ferner belegen Untersuchungen von SAWYER und BORG (1979), dass im Stratum intermedium der Ballenepidermis keine Keratohyalin granula geformt werden.

Als Besonderheit formen Epidermis und Dermis eine eigene Schuppenart, die „retikulaten“ Schuppen, aus, deren Bildung nicht von einer „Epidermisplakode“ wie bei den Schuppen des Tarsometarsus ausgeht, sondern dem alleinigen Strukturwandel der Dermis unterliegt (SAWYER und CRAIG, 1977; SHAMES und SAWYER, 1987). Es bilden sich symmetrische Schuppen, die sich nicht überlappen (HODGES, 1974) und so auch nur eine epidermale Oberfläche besitzen.

2.1.6.4 Kamm (Crista carnos)

Von innen nach außen beschreiben LUCAS und STETTENHEIM (1972) folgende Kammschichten für das Huhn: Die Zentral- oder Mittelschicht des Kammschichtes besteht aus subkutanem Fettgewebe, das jederseits von einer dünnen dermalen Schicht, dem Stratum laxum, flankiert wird. Es folgt eine breite dermale Intermediärschicht aus fibromukoidem Gewebe an, die der tiefen dermalen Schicht

entspricht. Sie ist überzogen von einer stark durchbluteten superfizialen dermalen Schicht und einer abschließenden Epidermis.

Auch die Epidermis des Kammes folgt dem allgemeinen histologischen Bau.

Ihre Gesamtdicke nimmt eine Mittelstellung zwischen der dünnen, befiederten Haut und der dicken, stark verhornten Haut der Füße ein. Die Basalzellen haben einen mehr zylindrischen Umriss und wölben sich in die Dermis vor, so dass die dermale Oberfläche schon am 1. LT sehr unregelmäßig ist und mit höherem Lebensalter fast Papillarcharakter erhält (LUCAS und STETTENHEIM, 1972). Das Stratum intermedium umfasst am 1. LT ein bis drei Zelllagen inklusive eines Stratums transitivum (LUCAS und STETTENHEIM, 1972). Das Stratum germinativum besteht dann beim adulten Tier aus ungefähr fünf Zelllagen. Das Stratum corneum macht ungefähr ein Drittel bis ein Halb der gesamten Epidermisdicke aus (HODGES, 1974). LUCAS und STETTENHEIM (1972) geben für den 1. LT schon eine Dicke von sieben bis acht Zellen an, die mit höherem Alter noch zunimmt.

2.1.6.5 Schuppenhaut des Tarsometatarsus

Die Haut des Laufes (Tarsometatarsus) des Huhnes ist im allgemeinen unbefiedert.

Die ebenfalls aus Stratum germinativum und Stratum corneum aufgebaute Epidermis der Podotheken bildet primär die „skutellaten“ Schuppen aus, die zu den besonderen Horngebilden gezählt werden.

Sie entstehen während der Embryonalentwicklung aus einer „Epidermisplakode“ ohne primäre Beteiligung des Korioms, das sich erst nachfolgend umstrukturiert (SAWYER, 1972a, b). Mit der Ausdifferenzierung schieben sich die „skutellaten“ Schuppen dachziegelartig übereinander (SAWYER et al., 1986) und bilden so durch Überlappung eine innere und eine äußere epidermale Oberfläche, die durch eine Scharnierregion gegeneinander abgegrenzt werden (HODGES, 1974; O`GUIN und SAWYER, 1982; SHAMES und SAWYER, 1987). Der Anteil lebender Zellen in der äußeren Epidermis beträgt 9 bis 11 Reihen (SHAMES et al., 1989).

Wie in der Ballenepidermis konnten SAWYER und BORG (1979) im Stratum intermedium der äußeren Epidermis keine Keratingranula finden.

2.2 Zytokeratine

2.2.1 Einteilungen der Keratine und Verteilung von α - und β -Keratinen in der Epidermis der Vögel

Bei höheren Wirbeltieren stellen die Keratine das Hauptprodukt der Differenzierungsvorgänge (Keratinisierung) der spezialisierten Zellen in Epidermis, Haaren, Federn, Wolle, Hufen und anderen verhornenden und nicht verhornenden Epithelgeweben dar (KÜNZEL, 1990). Keratine sind intrazelluläre, filamentbildende Strukturproteine, die aufgrund von Disulfidbrücken zwischen den Polypeptidketten der Cystinabschnitte stabil in Wasser und anderen chemischen Lösungsmitteln sind. Nach chemischen und physikalischen Eigenschaften können zwei große Keratingruppen unterschieden werden. Die eine große Gruppe bilden die „weichen“ α -Keratine, die in der sekundären Proteinstruktur aus mehrfach verdrillten α -Helices bestehen (RUDALL, 1947). Als basale Elemente des Zytoskeletts sind die α -Keratinpolypeptide in allen Epithelien einschließlich der nicht spezialisierten Epidermis zu finden. Sie stellen insbesondere Bestandteile der Tonofilamente dar und werden als **Zytokeratine** bezeichnet (MOLL et al., 1982; SUN et al., 1983).

Die zweite Proteingruppe umfasst die „harten“ β -Keratine mit sekundärer β -Faltblattstruktur (SHAMES und SAWYER, 1987). Sie formen Filamente von 3-4 nm (STEWART, 1977; FRASER und McRAE, 1980). Diese Keratingruppe kommt in den Schuppen der Reptilien vor. Auch spezifische aviäre Epithelgewebe weisen neben den obligaten α - gleichzeitig β -Keratine auf (SHAMES und SAWYER, 1987; CARVER und SAWYER, 1989; SHAMES et al., 1989); so in Horngebilden wie den Federn oder den Schuppen des Tarsometatarsus, deren β -Keratinpolypeptidpool jeweils charakteristisch ist. Die Federn sind hauptsächlich durch Polypeptide mit Molekulargewichten von ungefähr 10 kD geprägt, während die „skutellaten“ Schuppen vor allem Polypeptide mit höheren Molekulargewichten zwischen 14 kD und 25 kD besitzen (KEMP und ROGERS, 1972; DHOUILLY et al., 1978; O'GUIN und SAWYER, 1982).

Insgesamt ist die Verteilung von α - und β -Keratinen in den epidermalen Zelllagen der verschiedenen Horngebilde des Huhnes typisch. Die Zellen der äußeren Epidermis der „skutellaten“ Schuppen exprimieren sowohl α - als auch β -Keratine, erstere in allen Zellagen, letztere nur im Stratum intermedium und Stratum corneum

(PRESLAND et al., 1989; SHAMES et al., 1989). Dagegen besitzen die Zellen der inneren Epidermis und der Scharnierregion nur α -Keratine (SAWYER et al., 1974). Auch die „retikulaten“ Schuppen der Ballenepidermis exprimieren die obligaten Polypeptide des „weichen“ α -Keratin-Typs (SAWYER und BORG, 1979), allerdings daneben noch ein wasserlösliches Keratinpolypeptid mit mittlerem Molekulargewicht von ca. 26 kD (BRUSH und WYLD, 1980; O'GUIN und SAWYER, 1982; SAWYER et al., 1986). Dieses intermediäre Keratinpolypeptid fanden O'GUIN und SAWYER (1982) auch in den „skutellaten“ Schuppen, jedoch nicht in der schuppenlosen Epidermis des Körpers, in der sie auch keine β -Keratine nachweisen konnten.

2.2.2 Einordnung der Zytokeratine in das zytoskelettale System

Jede Eukaryontenzelle besitzt ein sogenanntes Zytoskelett, womit ein engmaschiges Proteinnetzwerk im Zytoplasma bezeichnet wird, das vielfältige Funktionen übernimmt. Neben der Erhaltung der Form und Stabilität einer Zelle ermöglicht es intrazelluläre und Eigenbewegungen sowie die Zellteilung (FRANKE, 1993).

Das Zytoskelett wird in den Körperzellen der Wirbeltiere von drei multigenen Proteinfaserfamilien dominiert: den aktinhaltigen Mikrofilamenten, den tubulinhaltigen Mikrotubuli und schließlich den Intermediärfilamenten (IF) (ECKERT und KARTENBECK, 1997).

Die Bezeichnung Intermediärfilamente wurde aufgrund elektronenmikroskopischer Untersuchungen von deren Durchmesser abgeleitet, der mit etwa 10 nm zwischen dem der aktinhaltigen Mikrofilamente (6 nm) und der Mikrotubuli (24 nm) in den Körperzellen bzw. der myosinenthaltenden Filamente (16 nm) in den Muskelzellen liegt (ISHIKAWA et al., 1968; ISHIKAWA et al., 1969).

Neben dem charakterisierenden Durchmesser erlaubt die Übereinstimmung in der zentralen, molekularen Proteinstruktur eine Einordnung in die Familie der Intermediärfilamente. Innerhalb eines α -helikalen Polypeptidmittelstückes besitzen alle Intermediärfilamente die gleiche Aminosäuresequenz, wohingegen sie in Kopf- und Schwanzstück unterschiedlich sind (FUCHS et al., 1981; GEISLER und WEBER, 1982; HANUKOGLU und FUCHS, 1983).

Ausgehend von Sequenzanalysen durch STEINERT und ROOP (1988), die die Zusammensetzung der IF aus spezifischen Polypeptiduntereinheiten detaillierter belegen, werden Intermediärfilamente in fünf Klassen, bestehend aus neun Gruppen eingeteilt.

Die **Klassen I und II** umfassen die **Zytokeratine** (CK, engl. *cytokeratins*), Klasse III Desmin, Vimentin, Gliafaserprotein (GFAP, engl. *glial fibrillary acidic protein*) und Peripherin, Klasse IV Neurofilament-Proteine, α -Internexin und Nestin. Die IF-Proteine dieser Klassen kommen im Zytoplasma vor. Dagegen ist die Klasse V, die die Lamine enthält, im Karyoplasma von Zellkernen zu finden (FISHER et al., 1986; McKEON et al., 1986; FRANKE, 1987).

Die Verteilung der IF sind für die Zellen höherer Wirbeltiere weitgehend typisch.

Dazu finden sich Übersichten bei LAZARIDES (1980 und 1982), OSBORN (1983), STEINERT et al. (1985); TRAUB (1985) und LOBECK (1990) sowie eigens für das Huhn bei SCHMIDT et al. (1979). Nach diesen Angaben sind in der folgenden Tabelle 1 die hauptsächlichen Vorkommen der IF-Proteine zusammengefasst.

Tab. 1: Intermediärfilamente und Zellspezifität

IF-Klasse	IF-Protein-Gruppe	Vorkommen
I	saure Zytokeratine	Zellen epithelialen Ursprungs
II	basische Zytokeratine	Zellen epithelialen Ursprungs
III	Desmin Vimentin GFAP Peripherin	Muskelzellen Zellen mesenchymalen Ursprungs Gliazellen (Astrozyten und Schwann-Zellen) periphere Neurone
IV	Neurofilamente Internexin Nestin	Nervenzellen
V	Lamine	alle Zellen (Zellkern)

Wie aus der Tabelle ersichtlich, kommen die CK-Filamente in allen Zellen epithelialen Ursprungs und ihren Derivaten (Haare, Federn) vor. Dabei werden sie in mehrschichtigen Plattenepithelien wie der Epidermis auch als Tonofilamente bezeichnet (SUN et al., 1983). Sie können lose angeordnet oder durch IF-assoziierte (nicht membranöse) Proteine zu dichten Bündeln (Tonofibrillen) vereinigt sein. Letztlich sind sie in der Epidermis an den Plaques der Desmosomen und Hemidesmosomen verankert (COWIN, 1985; LANE und ALEXANDER, 1990; SCHWARZ et al., 1990).

Doch trotz weitgehender Zellspezifität sind auch Koexistenzen von Zytokeratinen mit anderen IF-Proteinen in einer Zelle möglich (LAZARIDES, 1982). Beim Menschen wurden Zytokeratine zusätzlich zu Desmin in mesenchymalen Zellen nachgewiesen (FRANKE und MOLL, 1987), und auch Untersuchungen bei Mensch und Tier an normalen und malignen epithelialen Zellen in vivo und in vitro ergaben das gemeinsame Vorkommen von CK und Vimentin (FRANKE et al., 1979; McLELLAN und BEDFORD, 1997) sowie von CK und GFAP (ACHTSTÄTTER et al., 1986) und von CK und Neurofilament-Protein (MOLL et al., 1984). Von MARKL und FRANKE (1988) liegen für die Regenbogenforelle Ergebnisse vor, die zeigen, dass bei dieser Tierart in weiten Bereichen der mesenchymal abgeleiteten Gewebe Zytokeratine exprimiert werden und nicht Vimentin wie bei höheren Wirbeltieren.

2.2.3 Einteilung der Zytokeratine

2.2.3.1 Molekulargewicht und isoelektrischer Punkt

Die Zytokeratine bilden mit über 30 unterschiedlichen Polypeptiden die größte und komplexeste Gruppe innerhalb der IF-Proteine (ECKERT und KARTENBECK, 1997). Nach Untersuchungen der menschlichen Epithelien stellten bereits MOLL et al. (1982) einen Katalog von 19 verschiedenen Zytokeratinsubtypen auf, der später um einen Subtyp 20 ergänzt wurde (MOLL et al., 1990 und 1992).

Demnach sind die Zytokeratine mittels Katalognummern (CK 1 bis CK 20) geordnet und entsprechend ihrem Molekulargewicht, das zwischen 68 und 40 Kilodalton (kD) liegt, sowie ihrem isoelektrischen Punkt, der zwischen pH 7,8 und 4,9 liegt, charakterisiert (MOLL et al., 1982; COOPER et al., 1985; STEINERT et al., 1985; MOLL et al., 1992).

2.2.3.2 Subfamilien und Paarbildung

Mit der Bestimmung des Molekulargewichtes und des isoelektrischen Punktes der einzelnen Mitglieder kann die große Gruppe der Zytokeratine in zwei Subfamilien geteilt werden (TSENG et al., 1982; FUCHS und MARCHUK, 1983; SUN et al., 1984; QUINLAN et al., 1985), die gleichzeitig den zwei IF-Sequenzklassen entsprechen (STEINERT und ROOP, 1988). Die erste IF-Klasse enthält die CK 9 bis CK 20, die der Subfamilie A (=Typ I) entsprechen. Sie sind mit 40 bis 64 kD und pH 4,9 - 6,2 kleiner und saurer als die neutral-basischen CK 1 bis CK 8 (52 bis 67 kD, pH 6 - 7,8), die die zweite IF-Klasse und somit die Subfamilie B (=Typ II) bilden.

In den CK-Filamenten sind immer ein saures und ein basisches Zytokeratin von ähnlichem Molekulargewicht gepaart (O`GUIN et al., 1987) und bilden so Heterodimere (FUCHS et al., 1987; STEINERT und ROOP, 1988).

Mit Hilfe eines CK-Paares kann der Zelltyp und der Differenzierungsgrad einer Zelle charakterisiert werden (EICHNER et al., 1984; SUN et al., 1984; JIANG et al., 1993). Beispielsweise stellt in der Epidermis das Paar CK 5/14 einen Permanentmarker dar,

während die Paare CK 1/10 bzw. CK 2/10 Marker für die Keratinisierung sind oder das Paar CK 6/16 ein Marker für die Proliferation ist (SUN et al., 1983).

2.2.4 Zytokeratinexpression in Epithelzellen

In den unterschiedlichen Epithelien der Vertebraten kommen Zytokeratine regelmäßig und in besonderer Verteilung vor (FUCHS und MARCHUK, 1983).

Die Herausarbeitung einzelner epithelialer Zytokeratinmustern mittels unterschiedlicher Methoden wie Gelelektrophorese oder Antikörperstudien ist bei niederen Wirbeltieren wie Fischen (THOMPSON et al., 1987, MARKL und FRANKE, 1988; BUNTON, 1993) ebenso erfolgreich wie bei evolutionär höher stehenden Tieren wie Vögeln (OLAH und GLICK, 1992; TAKIGUCHI-HAYASHI et al., 1996) oder verschiedenen Säugerspezies, z.B. Ratte und Maus (GARCIA-IGLESIAS et al., 1997; PEREZ-MARTINEZ et al., 1998), Kaninchen (TSENG et al., 1982; SUN et al., 1985), Pferd (HAMADA et al., 1990), Rind (FRANKE et al., 1979), Schwein (ROELS et al., 1997), Hund (CARDONA et al., 1989; KOZAKI et al., 2001; RANABAL, 1994; VOS et al., 1989; DESNOYERS et al., 1990; SADUNSKY et al., 1991; WALTER, 1998 und 2001) oder Katze (IVANYI et al., 1993; MULAS et al., 1994).

2.2.4.1 Zytokeratine in humanen Epithelzellen

Für den Menschen liegen bereits umfassende Untersuchungen über das Vorkommens von Zytokeratinen in den verschiedenen Epithelarten und damit ihre Expressionsmuster vor. Sie stellen sich folgendermaßen dar:

In einfach geschichteten Epithelien sind hauptsächlich vier Zytokeratine festgestellt worden: CK 7 und CK 8, CK 18 und CK 19 (FRANKE et al., 1981; MOLL, 1982, TSENG et al., 1982). Dazu kommt CK 20, das zudem in den Superfizialzellen des Übergangsepithels vorkommt, mit weitgehend eingeschränkter Expression (MOLL et al., 1990 und 1992; MIETTINEN, 1995). Diese Zytokeratine werden auch als zylinderepitheltypische Zytokeratine bezeichnet (VYBERG und MOLL, 2001). Stets werden CK 8 und CK 18 als Paar exprimiert (SUN et al., 1984; MOLL, 1986). Kombiniert mit den übrigen zylinderepitheltypischen Zytokeratinen ergeben sich drei

Hauptmuster in einfachen Epithelien. Zum einen werden CK 8/18 allein exprimiert, zum zweiten CK 8/18 in Kombination mit CK 19 oder zum dritten CK 7, CK 8/18 und CK 19; selten wird CK 7 nur mit CK 8/18 exprimiert (DOCKHORN-DWORNICZAK et al., 1987; EYKEN et al., 1988).

In mehrfach geschichteten Epithelien werden neben dem zylinderepitheltypischen CK 19, das auch in der Basalschicht aller Plattenepithelien außer der Haut vorkommt (BARTEK et al., 1986), andere spezifische Zytokeratine gefunden, die als plattenepitheltypische Zytokeratine bezeichnet werden (VYBERG und MOLL, 2001). Die hohe Komplexität dieser Zytokeratinmuster ergibt sich aus der Mehrschichtigkeit des Epithels (basale und suprabasale Zellschichten) und dem Status der einzelnen Zelle (Zelltyp und Differenzierungsstadium). Die Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die Zytokeratinexpression in den verschiedenen Epithelien des Menschen:

Tab. 2: Zytokeratinmuster in verschiedenen humanen Epithelien
(nach VYBERG und MOLL, 2001)

Epitheliale Zellen	Saure Zytokeratine Typ A (I)	Neutral-basische Zytokeratine Typ B (II)
<u>einfach geschichtete Epithelien</u>	20 (46) 19 (40) 18 (45) =	8 (52,5) 7 (54)
<u>mehrfach geschichtete Epithelien</u> Suprabasale Zellschicht		
verhornte Zellen (Epidermis)	9 (64) 11 (56) 10 (56,5) =	1 (68) 2 (65,5)
Cornea	12 (55) =	3 (63)
unverhornte Zellen	13 (54) =	4 (59)
hoher zellulärer Turnover (unverhorntes Plattenepithel, Hyperproliferation, Wundheilung)	16 (48) =	6 (56)
Basale Zellschicht	19 (40) 17 (46) 15 (50) 14 (50) =	5 (58)

(CK-Typ fettgedruckt, Molekulargewicht in kD in Klammern, typische Paare mit doppeltem Strich verbunden)

2.2.4.2 Zytokeratine in aviären Epithelzellen

In den aviären Epithelgeweben wurden bisher folgende Zytokeratinmuster ermittelt: Zytokeratine sind neben Vimentin die ersten IF, die während der frühen Stadien der aviären Embryonalentwicklung erscheinen (BIEHL et al., 1986; ERICKSON et al., 1987, PAGE, 1989). Die frühesten Zytokeratine im embryonalen Epithel des Huhnes und der Wachtel sind CK 7, CK 8 und CK 18 (ERICKSON et al., 1987; PAGE, 1989), die auch für die embryonalen und die einfachen Epithelien des Menschen charakteristisch sind (SUN et al., 1984).

In mehrfach geschichteten Epithelien werden auch beim Huhn mit fortschreitender Differenzierung der epithelialen Gewebe die Zytokeratinzusammensetzungen komplexer. Eine vergleichbare Einteilung in zwei Subfamilien mit Paarbildung zwischen einem höhermolekularen basischen (Typ II-) und einem niedermolekularen sauren (Typ I-) Zytokeratin wie beim Menschen wurde auch beim Huhn festgestellt. Aber bemerkenswerterweise haben die bei Mensch und Huhn sich entsprechenden Zytokeratin-Paare abweichende Molekulargewichte. Trotz dieser Unterschiedlichkeit nehmen O'GUIN et al. (1987) funktionelle CK-Äquivalenzen an, mit denen der Typ und der Differenzierungsgrad der einzelnen Epithelzelle vergleichbar zu bestimmen ist. Demgemäß werden in der Tabelle 3, trotz unterschiedlicher Molekulargewichte bei Mensch und Huhn, gleiche Zytokeratine den einzelnen Epithelarten zugeordnet:

Tab. 3: Zytokeratin-Paare in verschiedenen Epithelien von Mensch und Huhn (modifiziert nach O'GUIN et al., 1987)

Epitheliale Zellen	Mensch (MG)	Huhn (MG)	CK-Äquivalente
<u>einfach geschichtete Epithelien</u>	52kD/45kD	51,5kD/42kD	8/18
<u>mehrfach geschichtete Epithelien</u>			
verhornte Zellen (Epidermis)	65-67kD/56,5kD	62kD/59kD	1, 2/10
Cornea	64kD/55kD	66kD/52,5kD	3/12
unverhornte Zellen (Schleimhaut)	59kD/51kD	55,5kD/47kD	4/13
Hyperproliferation	56kD/48kD	keine Angaben	6/16, 17
Keratinocyten	58kD/50kD	60kD/47kD	5/14

2.2.5 Lokalisation von Zytokeratinen in den Zelllagen der Epidermis ausgewählter Vertebraten

2.2.5.1 Zytokeratine in humaner Epidermis

Die Epidermis als mehrschichtiges Plattenepithel weist beim Menschen ein Zytokeratinmuster auf, das sich in unterschiedlichen Stadien der Differenzierung oder in Zellproliferationen normaler und maligner Zellen sehr komplex darstellt (JIANG et al., 1993; MOLL, 1993, RAMIREZ et al., 1995).

Die Basalzellen exprimieren CK 5 (58 kD) und CK 14 (50 kD) (FUCHS und GREEN, 1980; NELSON und SUN, 1983). Dagegen weisen die suprabasalen Zellen CK 1 (67 kD), CK 2 (65 kD), CK 10 (56.5 kD) und CK 11 (56 kD) auf (FUCHS und GREEN, 1980; EICHNER et al., 1984), explizit in Handflächen und Fußsohlen auch CK 2 und CK 9 (VYBERG und MOLL, 2001). Die Annahme besteht, dass CK 2 bzw. CK 11 proteolytische Abbauprodukte von CK 1 bzw. CK 10 sein könnten (FUCHS und GREEN, 1980, TYNER und FUCHS, 1986). In einer Reihe von Erkrankungen, die mit Hyperproliferationen der Epidermis verbunden sind, werden diese Zytokeratine in der suprabasalen Schicht herunterreguliert und eine neues CK-Paar tritt auf: CK 6 (56 kD) und CK 16 (48 kD) (WEISS et al., 1984; McGUIRE et al., 1984; STOLER et al., 1988; JIANG et al., 1993). Auch während der Wundheilung erscheinen vorübergehend CK 6 und CK 16 (LANE et al., 1985; MANSBRIDGE und KNAPP, 1987). Immer werden diese Zytokeratine nur in differenzierten, nichtteilenden Zellen exprimiert (KOPAN und FUCHS, 1989).

Die Haarfollikel exprimieren CK 5 und CK 6 (FUCHS und GREEN, 1980), CK 13 (MOLL et al., 1988) und in der äußeren Wurzelscheide auch CK 6 und 16 (HEID et al., 1988; VYBERG und MOLL, 2001).

2.2.5.2 Zytokeratine in kaniner Epidermis

Beispielhaft für die Verteilung von Zytokeratinen in der Epidermis eines Säugetieres sei der Hund näher ausgeführt. Zahlreiche Untersuchungen an Hundehaut liegen vor (CARDONA et al., 1989; RANABAL, 1994; VOS et al., 1989; DESNOYERS et al., 1990; SANDUSKY et al., 1991; WALTER und KLING, 1995). WALTER (1998) legte

gelelektrophoretische und immunhistochemische Untersuchungen zur Verteilung von Zytokeratinen in normaler und neoplastisch veränderter Hundehaut vor. Zur Anwendung kamen neben der SDS-PAGE (engl.: sodium dodecyl sulfate-polyacrylamid gel elektroforese) auch eine größere Anzahl monoklonaler Antikörper aus dem Humanbereich, mit deren Hilfe einzelne Zytokeratintypen ermittelt wurden. Als immunhistochemische Färbemethode diente dabei das APAAP-Verfahren. Im Ergebnis dieser Untersuchungen benannte WALTER (1998) einzelne Zytokeratine, die die kanine Epidermis exprimiert. Das sind basal CK 1, CK 5, CK 6 und CK 14, die suprabasal durch CK 4, CK 10/11, CK 14 und wahrscheinlich CK 15/16 ergänzt werden. Im Unterschied zum Menschen exprimiert die dünne Hundehaut regelmäßig CK 6, womit sie vermutlich den Belastungen Rechnung trägt, denen sie ebenso ausgesetzt ist wie die dickere menschliche Haut. Zudem konnte WALTER (1998) Unterschiede im Zytokeratinmuster verschiedener Hunderassen belegen.

2.2.5.3 Zytokeratine in aviärer Epidermis

Die aviäre Haut umfasst eine Vielfalt von spezialisierten Geweben, die morphologische Unterschiede aufweisen (SAWYER et al., 1986). Inwieweit dabei das Zytokeratinmuster der Epidermis in unterschiedlichen Hautarealen und Altersstufen voneinander abweicht und wie es sich im Vergleich zum Menschen und anderen Säugetieren darstellt, ist noch wenig untersucht.

Einzelne Arbeiten untersuchten zunächst hauptsächlich aviäre embryonale Gewebe verschiedener histologischer Genese hinsichtlich eines generellen Zytokeratinvorkommens. SCHMIDT et al. (1979) verwendete neben anderen Intermediärfilament-Markern sogenannte Präkeratin-Antikörper an verschiedenen Geweben des Hühnerembryo. Dabei zeigten ausschließlich die Vorläuferzellen der Epidermis einschließlich der Federanlagen positive Ergebnisse durch Immunfluoreszenz. Um einzelne Zytokeratine in der Epidermis zu bestimmen, bedienten sich verschiedene Untersucher anderer Techniken wie der Gelelektrophorese (KEMP und ROGERS, 1972; DHOUAILLY et al., 1978; O'GUIN

und SAWYER, 1982; FUCHS und MARCHUK, 1983; PAGE, 1989) oder der Sequenzanalyse (CHARLEBOIS et al., 1990).

O'GUIN und SAWYER wiesen 1982 per indirekter Immunfluoreszenz und SDS-PAGE α -Keratine in der Epidermis verschiedener Hautgebiete bei Tieren des 20. ET und des 12. LT nach. In der Rückenepidermis waren dies zwei Keratine mit Molekulargewichten von 62,5 kD und 61,0 kD. Die „retikulaten“ Schuppen des Pulvinus metatarsalis exprimierten drei Keratine mit den Molekulargewichten 62,5 kD, 61,0 kD und 59,1 kD und die „skutellaten“ Schuppen des anterioren und posterioren Metatarsus wiesen sechs Keratine mit den Molekulargewichten 70,0 kD, 62,5 kD, 61,0 kD, 59,1 kD, 56,0 kD und 55,5 kD auf. Nach weiteren Untersuchungen und der CK-Äquivalenztheorie wurde von O'GUIN et al. (1987) geschlossen, dass CK 1/10 in der suprabasalen Epidermis (verhornende Zellen) und CK 5/14 in der basalen Epidermis (sich teilende Zellen = Keratinozyten) lokalisiert sind. Bei Hyperproliferation kommen CK 6/16 dazu.

Auch SHAMES et al. (1989) ermittelten α -Keratine im Stratum germinativum der „skutellaten“ Schuppen eines adulten Huhnes, die allerdings nicht näher definiert wurden. Mittels polyklonaler Antikörper, die per indirekter Immunfluoreszenz sowie Immunogoldelektronenmikroskopie zur Anwendung gelangten, konnten große Mengen an α -Keratinen in den basalen Zellschichten nachgewiesen werden, die dann über die intermediäre Zellschicht deutlich abnahmen und schließlich in der oberflächlichen Zellschicht nur noch vereinzelt nachzuweisen waren. Dabei waren sie in allen Zellschichten stets lose an Desmosomen assoziiert.

Zusammengenommen ergeben die angeführten Arbeiten ein noch lückenhaftes Bild von der Verteilung der einzelnen Zytokeratine in der Epidermis von adulten Hühnervögeln.

2.2.6 Zytokeratinantikörper

Es steht eine Vielzahl von kommerziellen Zytokeratinantikörpern zur Verfügung. Neben den in Human- und Veterinärmedizin genutzten polyklonalen Antikörpern, die mit mehreren, verschiedenen Epitopen des Antigens reagieren und damit eher unspezifisch eine breite Palette von verschiedenen Zytokeratinen markieren (BOENISCH, 1997; BOURNE, 1997), ermöglichte die Optimierung der

Hybridisierungstechnik durch KÖHLER und MILSTEIN seit 1975 die Herstellung monoklonaler Antikörper, die hochspezifisch gegen ein Epitop eines Antigens gerichtet sind und somit auch einzelne Zytokeratintypen erkennen. Beim Menschen werden die verschiedensten monoklonalen Zytokeratinantikörper seit langem zum spezifischen Zytokeratinnachweis in Epithelien angewendet wie Arbeiten von WOODCOCK-MITCHELL et al. (1982), VIAC et al. (1983), COOPER et al. (1985), BARTEK et al. (1986), MUIJEN et al. (1986) oder LOBECK et al. (1989) belegen.

Dass es grundsätzlich möglich ist, zytokeratinspezifische monoklonale Antikörper, die gegen Zytokeratinantigene des Menschen gerichtet sind, auch bei anderen Vertebraten einzusetzen, ist vielfach belegt (CHIN et al., 1988; HAMADA et al., 1990; IVANYI et al., 1992; BUNTON, 1993; MULAS et al., 1994; PEREZ-MARTINEZ et al., 1998). Diese Kreuzreaktivität beruht auf einer Gleichartigkeit der Epitope der Zytokeratintypen bei verschiedenen Spezies.

Insbesondere für den Hund liegen umfangreiche Untersuchungen mittels monoklonaler Antikörper vor, bei denen Zytokeratine in normalen oder neoplastisch veränderten epithelialen Geweben spezifisch markiert wurden (SUTER et al., 1987; CARDONA et al., 1989; RABANAL et al., 1989; DESNOYERS et al., 1990; THOONEN, 1990, SANDUSKY et al., 1991). Für die Hundehaut gibt WALTER (2001) eine Übersicht über monoklonale Antikörper und ihr Markierungsverhalten in Teilen der caninen Epidermis, die in Tabelle 4 zusammengefasst sind:

Tab. 4: Markierungsverhalten monoklonaler Antikörper in caniner Epidermis (nach WALTER, 2001)

<u>Epidermis</u>	<i>CK</i>	<i>10/11</i>	<i>10, 14, 16, 19</i>	<i>1, 5, 8</i>	<i>6/18</i>	<i>14</i>
	<i>mAK</i>	<i>KL1</i>	<i>AE1</i>	<i>AE3</i>	<i>LP34</i>	<i>LL002</i>
suprabasale Zellen		+	-	+	+	-
basale Zellen		-	+	+	+	+

Auch über die Möglichkeiten der Anwendung polyklonaler und monoklonaler Zytokeratin-Antikörper an unterschiedlichen aviären Epithelien ist berichtet worden (SCHMID et al., 1979; FUCHS und MARCHUK, 1983; ERICKSON et al., 1987; PAGE, 1989; OLAH et al., 1991 und 1992; TAKIGUCHI-HAYASHI, 1996). Einen Hauptteil der Untersuchungen machen Antikörperstudien an den epidermalen Vorläufergeweben (Epiderm, Periderm) während der embryonalen Differenzierung aus (SCHMID et al., 1979; ERICKSON et al., 1987; PAGE, 1989). ARIAS et al. (1991) zeigen dagegen die Anwendbarkeit monoklonaler Zytokeratinantikörper, die beim Menschen positiv reagieren auch an differenzierter Epidermis des adulten Huhnes. In dieser Untersuchung färbten die Breitbandantikörper AE1 (CK 10,14,16,19) und AE3 (CK 1,5,8) zusammen die gesamte Epidermis und die epidermalen Anteile der Feder.

2.2.7 Immunhistochemische Färbemethoden

Zum Nachweis von Zytokeratinen stehen verschiedene immunhistochemische Färbemethoden zur Verfügung. Alle folgen einem einheitlichen Prinzip. Nach Antigen-Antikörper-Bindung wird der gebundene Antikörper durch ein Enzym-Chromogen-Substrat visualisiert. Es werden direkte von indirekten Methoden unterschieden (BOURNE, 1997). Bei den direkten Methoden reagiert ein enzymgebundener Antikörper unmittelbar mit dem nachzuweisenden Antigen und wird dann durch ein Chromogen sichtbar gemacht. Bei den indirekten Methoden bindet das Antigen zunächst einen unkonjugierten Primärantikörper, der dann eine Verbindung mit einem enzymkonjugierten Antikörper (Sekundär- oder Brückenantikörper) eingeht, welcher erst mit dem Chromogen reagiert. Die Empfindlichkeit der indirekten Methoden ist gegenüber den direkten höher, weil mehrere Sekundärantikörper an die verschiedenen Epitope eines Primärantikörpers binden können, und so letztlich durch Vervielfachung der Antigenwirkung die Färbung intensivieren (FUNG et al., 1992; BOENISCH, 1997). Es stehen verschiedene indirekte Standardverfahren zur Auswahl, die sich unterschiedlicher Enzymkomplexe bedienen: die PAP-Methode mit Peroxidase-Anti-Peroxidase-System (DENK, 1986; DUHM, 1990; BOENISCH, 1997), die APAAP-Methode mit Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase Komplex (CORDELL et al.,

1984; DENK, 1986; DUHM, 1990; BOENISCH, 1997) und die ABC-Methode mit Avidin-Biotin Komplex (HSU et al., 1981; WOOD und WARNKE, 1981; WALTER et al., 1989; FUNG et al., 1992). Ein neueres indirektes Verfahren ist die B-SA-Methode mit Biotin-Streptavidin-Amplifikationssystem. Die B-SA-Methode zeigt eine hohe Empfindlichkeit, zumal sich gleich mehrere Biotinmoleküle an den Brückenantikörper binden (BOENISCH, 1997). An Biotin wiederum ist aufgrund hoher Affinität fast irreversibel Streptavidin gebunden und verleiht damit dem Komplex Haltbarkeit. Weitere Vorteile dieses Enzymsystems sind die Verringerung von unspezifischen Bindungen im Gewebe, einerseits, weil Streptavidin, im Vergleich zu Avidin, keine Kohlenhydrate besitzt, die unspezifisch an Lectin-ähnliche Substanzen, die in normalen Geweben vorkommen, binden können (NARITOKU und TAYLOR, 1982), andererseits, weil der isoelektrische Punkt von Streptavidin im neutralen Bereich liegt (WALTER et al., 1989). Die Sichtbarmachung des Enzymkomplexes erfolgt mit Neufuchsin als Chromogen, das sich als Rotfärbung leicht lichtmikroskopisch nachweisen lässt.