

3.2.2.3.1.4 Färbergebnisse von AE 1 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Hautregion

Die Überprüfung von AE 1 auf eine spezifische Markeraktivität in den sechs Hautgebieten schloss sich an. Aufgrund der Unterschiede in den verschiedenen Altersgruppen, die im vorangegangenen Kapitel dargestellt wurden, erfolgte der Vergleich der Färbeergebnisse in den Hautregionen jeweils auch in Abhängigkeit vom Alter. Insgesamt wurden so bei den Lege- und Masthühnern 4 Hautschnitte pro Hautregion und Altersgruppe bewertet, wobei sich die Einzelergebnisse der Tabellen 21a bis d des Anhangs zusammenfassend wie folgt darstellen:

Am 18. Embryonaltag wiesen alle sechs untersuchten Hautregionen der Lege- und der Masthühner ein kräftiger angefärbtes Stratum basale und ein schwächer angefärbtes Stratum suprabasale auf; insgesamt waren 23 Hautschnitte entsprechend markiert. Allein ein Hautschnitt der Pteryla cruralis war basal und suprabasal mit der gleichen Farbintensität angefärbt.

Am 1. Lebenstag herrschte bei den Tieren der Legerichtung in allen Hautregionen die kräftige Farbintensität in der basalen und die schwächere Farbintensität in der suprabasalen Schicht vor. Nur ein Hautschnitt der Crista carnososa war in beiden Epidermisanteilen mit der gleichen Farbintensität markiert. In der Mastrichtung präsentierten sich die Färbeergebnisse in den Hautregionen am 1. Lebenstag heterogener, aber auch ohne deutlich erkennbare regionale Abhängigkeit. Mit Ausnahme der Crista carnososa, die in allen 4 Schnitten eine einheitliche Farbintensität im Stratum basale und suprabasale zeigte, waren die Schnitte der übrigen Hautregionen teilweise mit gleicher Intensität in der basalen wie in der suprabasalen Schicht gefärbt (insgesamt n=8), teilweise aber auch mit schwächerer Farbintensität im Stratum suprabasale gegenüber dem Stratum basale (insgesamt n=12) markiert.

Bei den Tieren der Lege- und Mastrichtung der höheren Altersstufen (5. LW, 11. LW, 15. LW, 22. LW) waren dann alle Hautregionen durch Hautproben repräsentiert, die einen markanten Wechsel der Farbintensität im Stratum suprabasale aufwiesen. Von jeweils 96 Hautschnitten zeigte die Legerichtung in insgesamt 88 Schnitten und die Mastrichtung in insgesamt 73 Schnitten eine entsprechende Anfärbung in der 5. bis 22. Lebenswoche. Damit ist insgesamt trotz Heterogenität der Färbeergebnisse in den frühen Altersgruppen (18. ET und 1. LT) eine regionale Abhängigkeit im Markierungsverhalten von AE 1 nicht erkennbar.

Unabhängig davon ist festzuhalten, dass bei der Auswertung der verschiedenen Hautregionen zwischen der 5. und 22. Lebenswoche markante Veränderungen innerhalb des Stratum suprabasale erkennbar waren, die sich besonders deutlich in den unbefiederten Hautregionen mit dickerer Epidermis darstellten.

In den Hautproben der befiederten Regionen war zwischen der 5. und 15. Lebenswoche der Tiere zumeist nur eine Zelllage im oberen suprabasalen Bereich mit einer entsprechend schwächeren Färbung zu erkennen. Insgesamt einheitlich und kräftig angefärbt erschien die befiederte Epidermis in den Hautschnitten der 22. Lebenswoche.

Auch in den Hautproben der dickeren, unbefiederten Hautbereichen traten ab der 5. Lebenswoche die markanten Wechsel der Farbintensität in der suprabasalen Epidermis auf. Allerdings war der Saum schwächer angefärbter Zellen breiter als in den befiederten Hautregionen, was besonders augenfällig im Bereich der „skutellaten“ Schuppen der Podotheca und im Bereich der „retikulaten“ Schuppen des Pulvinus metatarsalis (Abb. 12) war. Obendrein schien in diesen Hautregionen die Grenze zwischen unterem, kräftiger gefärbten und oberem, schwächer gefärbten suprabasalen Anteil in der 11. und 15. Lebenswoche gegenüber der 5. Lebenswoche näher in Richtung Hautoberfläche verschoben zu sein. Schließlich war auch in den Schuppengebieten mit der 22. Lebenswoche der Tiere nur noch ein schmaler, schwächer gefärbter Saum sichtbar (Abb.13). Ansonsten herrschte in den Schuppengebieten wie in den anderen Hautregionen ein einheitlich kräftiges Färbergebnis in den Hautproben vor. Im Unterschied zu der Oberhaut der „skutellaten“ und der „retikulaten“ Schuppen stellte sich die unbefiederte Epidermis der Crista carnosia allerdings schon mit der 5. Lebenswoche weitgehend einheitlich und ohne Farbintensitätswechsel dar und blieb dies auch überwiegend im höheren Lebensalter (11.LW, 15.LW, 22. LW).

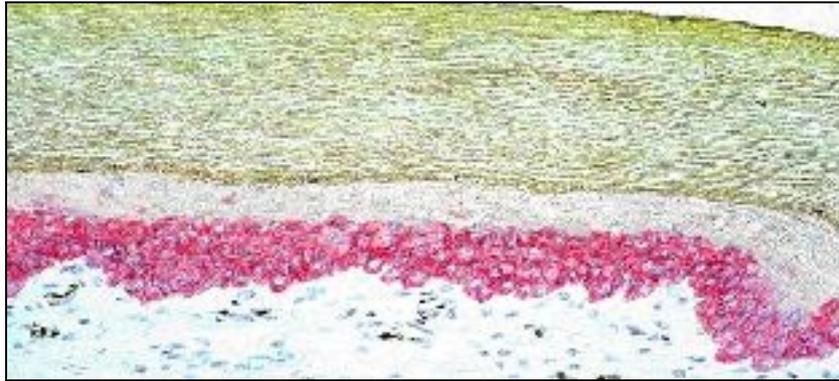


Abb. 12: Immunhistochemische Markierung der Epidermiszellen des Ballens mit AE 1: Das Stratum basale zeigt eine kräftige Färbung. Das Stratum suprabasale ist im unteren Bereich mit einer kräftigen Färbung markiert, während im oberen Bereich eine schwache Färbung vorherrscht. Das Stratum corneum ist ungefärbt. Masthuhn, 11. LW, B-SA-Methode, 400-fache Vergrößerung.

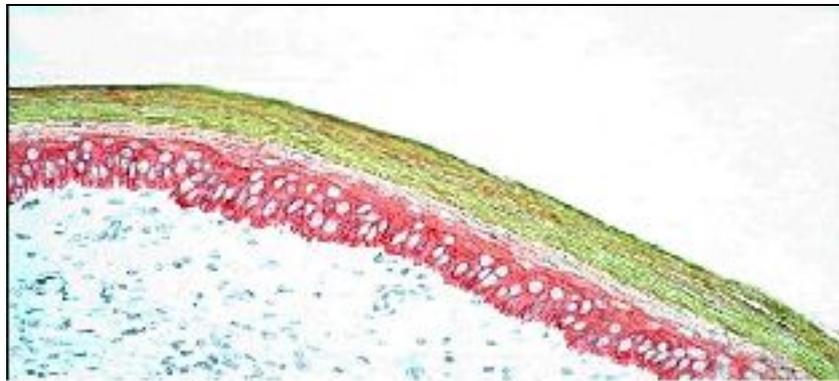


Abb. 13: Immunhistochemische Markierung der Epidermiszellen des Tarsometatarsus mit AE 1: Ein schmaler Saum des Stratum suprabasale ist schwach markiert, während der übrige germinative Anteile der Epidermis kräftig angefärbt ist. Das Stratum corneum bleibt dagegen weitgehend ungefärbt. Masthuhn, 22. LW, B-SA-Methode, 200-fache Vergrößerung

3.2.2.3.1.5 Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit von der Nutzungsrichtung

Beim Vergleich der beiden Nutzungsrichtungen fallen nur geringe Unterschiede in den jeweiligen Farbintensitäten des Stratum basale und des Stratum suprabasale auf. Die Ergebnisse der Nutzungsrichtungen sind hinsichtlich der Farbintensität und Farbregeelmäßigkeit bereits in den Kapiteln 3.2.2.3.1.1. und 3.2.2.3.1.2 dargestellt worden. Dabei zeigen beide Nutzungsrichtungen den gleichen markanten Wechsel der Farbintensität im Stratum suprabasale in den Altersgruppen ab der 5. Lebenswoche und in den verschiedensten Hautregionen. Damit ist ein spezifischer Einfluss der Nutzungsrichtungen auf das Färbeverhalten von AE 1 in der basalen oder der suprabasalen Schicht nicht nachweisbar.

3.2.2.3.1.6 Färbeergebnisse von AE 1 im Stratum corneum

Der Antikörper AE 1 markierte das Stratum corneum der Epidermis in Abhängigkeit vom Alter und der Region, aber unabhängig von den Nutzungsrichtungen.

Im Einzelnen blieb das Stratum corneum in allen Schnitten der befiederten Regionen (n=144) ungefärbt, während 102 Schnitte (70,8%) der stärker verhornenden unbefiederten Hautgebiete ganz oder teilweise eine blassrosa Farbe aufwiesen wie die Ergebnisse der Tabellen 21a bis d im Anhang zeigen.

Im Vergleich der unbefiederten Regionen wurde eine erste Markierung der Hornschicht des Kammes am 1. Lebenstag in beiden Nutzungsrichtungen registriert. Zudem wurde zu diesem Zeitpunkt das Stratum corneum des Ballens allein in der Mastrichtung schwach angefärbt. In der 5., 11., 15. und 22. Lebenswoche zeigten beide Nutzungsrichtungen die ausschließliche Anfärbung der Hornschicht in der Scharnierregion der „skutellaten“ Schuppen sowie die Anfärbung der gesamten Hornschicht des Kammes und der „retikulaten“ Schuppen des metatarsalen Ballens.

3.2.2.3.1.7 Färbeergebnisse von AE 1 im Federfollikel

Die Färbeergebnisse in den Federfollikeln waren in allen befiederten Regionen gleich, unabhängig vom Alter und von der Nutzungsrichtung (Tab. 21a bis d im

Anhang). Dabei war die innere Follikelscheide durch eine rosarote bis leuchtend rote Farbe gekennzeichnet und stets regelmäßig markiert.

In der Zusammenfassung des Markierungsverhaltens von **AE 1** in der Epidermis der Hühner ist nach Auswertung der Färbeergebnisse festzuhalten, dass der Antikörper das Stratum basale regelmäßig und mit kräftiger Farbintensität markierte, wobei diese Anfärbung unabhängig von den verschiedenen Altersgruppen, Regionen oder Nutzungsrichtungen war.

Im Unterschied dazu stellten sich die Färbeergebnisse im Stratum suprabasale vor allem in Abhängigkeit vom Alter der Tiere dar. Auf eine Zunahme der positiv mit AE 1 reagierenden Zellen verwies einmal die kräftigere, suprabasale Farbinintensität in den Hautproben der Altersstufen ab der 5. Lebenswoche, wobei vor allem das gehäufte Auftreten eines Farbintensitätswechsels innerhalb des Stratum suprabasale in diesen höheren Altersgruppen markant war. Letztlich beherrschte in der 22. Lebenswoche die kräftige Farbintensität die gesamte suprabasale Schicht.

Demgegenüber waren keine markanten Unterschiede im Farbmuster der Hautregionen zu erkennen. Dennoch erschien infolge unterschiedlicher Epidermisdicken bei der lichtmikroskopischen Betrachtung das Stratum suprabasale der befiederten Regionen und des unbefiederten Kammes insgesamt einheitlicher gefärbt als das der dickeren unbefiederten Schuppegebiete, wo die beiden Anteile unterschiedlicher Farbintensität breiter und damit deutlicher sichtbar waren.

Auch die beiden Nutzungsrichtungen zeigten trotz Heterogenität in der Farbintensität keinen spezifischen Einfluss auf das Markierungsverhalten von AE 1.

Eine insgesamt schwache Anfärbung wurde allein im Stratum corneum der unbefiederten Hautregionen registriert, während die befiederten Hautregionen in der Hornschicht keine Anfärbung zeigten.

Schließlich wurde die innere Scheide der Federfollikel mit dem Antikörper AE 1 stets regelmäßig und mit kräftigerer Intensität in allen befiederten Hautregionen markiert. Sowohl das Stratum corneum als auch der Federfollikel zeigten damit eine Anfärbung, die vom Alter oder von der Nutzungsrichtung der Tiere unabhängig war.

3.2.2.3.2 Befunde der mit AE 3 markierten Hautproben

Der Breitspektrum-Antikörper AE 3 (CK 1, 5, 8) markierte in insgesamt 283 Hautschnitten (98,3% aller mit AE 3 behandelten Schnitte), während in 5 Schnitten (1,7% aller mit AE 3 behandelten Schnitte) die Färbung insuffizient war. Der Antikörper visualisierte dabei die Epidermis im Stratum basale und im Stratum suprabasale sowie teilweise im Stratum corneum. Zudem wurden die Federfollikel in allen befiederten Hautgebieten markiert (Tab. 22a bis d im Anhang).

3.2.2.3.2.1 Farbintensität und -regelmäßigkeit im Stratum basale und im Stratum suprabasale

Zunächst wurde das Markierungsverhalten von AE 3 in Hinsicht auf die Intensität und Regelmäßigkeit der Färbungen im Stratum basale und im Stratum suprabasale der Epidermis überprüft. Entsprechend werden in den beiden nachstehenden Tabellen die vorliegenden Färbeergebnisse von 283 Hautschnitten aus den Tabellen 22a bis d des Anhangs ungeachtet der verschiedenen Altersgruppen der Tiere und der unterschiedlichen Hautregionen zusammengefasst.

Die Tabelle 14 gibt eine Übersicht über die einzelnen Farbintensitäten ungeachtet der Farbregelmäßigkeit im Stratum basale bzw. im Stratum suprabasale der Epidermis im Vergleich der beiden Nutzungsrichtungen.

Tab. 14: Farbintensitäten im Stratum basale und im Stratum suprabasale nach Anwendung von AE 3 an den Hautproben der Lege- und Masthühner (n=Anzahl der Hautschnitte)

	Legerichtung		Mastrichtung	
	Stratum basale	Stratum suprabasale	Stratum basale	Stratum suprabasale
Farbintensität	n	n	n	n
keine Anfärbung	0	5	0	2
schwach	131	126	134	137
mäßig	10	10	8	3
Σn	141		142	

Wie aus der Tabelle 14 zu entnehmen ist, markierte AE 3 sowohl im Stratum basale als auch im Stratum suprabasale bei beiden Nutzungsrichtungen mit überwiegend schwacher Farbintensität, was auch die Abbildung 14 an einem Beispiel veranschaulicht. Bei Tieren der Legerichtung zeigten dabei 5 Schnitte basal eine schwaches Färbeergebnis, wohingegen sie suprabasal ungefärbt blieben und auch bei Tieren der Mastrichtung zeigten 2 Schnitte ein entsprechendes Färberesultat. Daneben waren in der Legerichtung insgesamt 10 Schnitte und in der Mastrichtung 3 Schnitte mit einer rosaroten Farbe in beiden Epidermisanteilen markiert. Außerdem herrschte in 5 Schnitten der Mastrichtung ausschließlich im Stratum basale eine mäßige Färbung vor, während das Stratum suprabasale eine blassrosa Farbe aufwies.

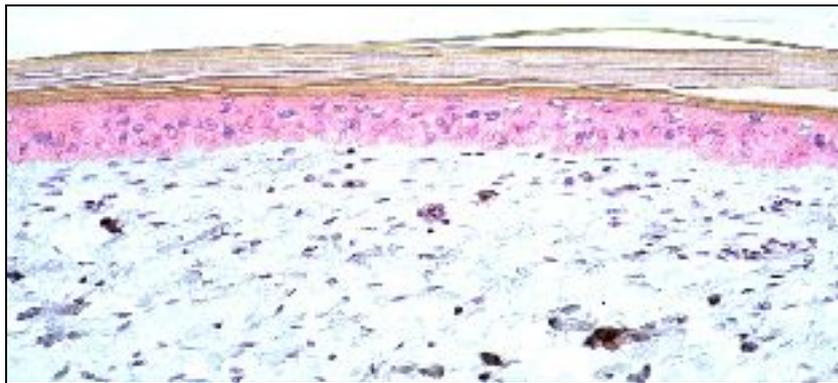


Abb. 14: Immunhistochemische Markierung der Epidermiszellen des Tarsometatarsus mit AE 3: Alle Zellschichten der Epidermis werden mit schwacher Farbintensität (blassrosa) markiert. Masthuhn, 11.LW, B-SA-Methode, 400-fache Vergrößerung

Die Tabelle 15 fasst die Hautschnitte mit regelmäßiger und mit unregelmäßiger Anfärbung im Stratum basale bzw. im Stratum suprabasale ungeachtet der Farbintensität zusammen und stellt diese im Vergleich der beiden Nutzungsrichtungen direkt gegenüber.

Tab. 15: Farbregeelmäßigkeit von AE 3 im Stratum basale und im Stratum suprabasale der Lege- und Masthühner (n=Anzahl der Hautschnitte)

	Legerichtung		Mastrichtung	
	Stratum basale	Stratum suprabasale	Stratum basale	Stratum suprabasale
Farbregeelmäßigkeit	n	n	n	n
regelmäßige Anfärbung	139	95	132	92
unregelmäßige Anfärbung	2	46	10	50
Σ n	141		142	

Der Tabelle 15 ist zu entnehmen, dass die Epidermis der Tiere beider Nutzungsrichtungen eine überwiegend regelmäßige Anfärbung im Stratum basale zeigt, während das Stratum suprabasale sowohl bei den Legehühnern als auch bei den Masthühnern in jeweils ca. einem Drittel der Schnitte ein unregelmäßiges Ergebnis aufweist.

3.2.2.3.2.2 Färbeergebnisse von AE 3 im Stratum basale und im Stratum suprabasale in Abhängigkeit vom Alter

Aufgrund fehlender Farbintensitätsunterschiede wurden die AE 3-behandelten Hautschnitte allein in Bezug auf die Regelmäßigkeit der Anfärbung in den einzelnen Altersgruppen der Tiere geprüft.

Wegen der unterschiedliche Resultate, die die einzelnen Hautproben hinsichtlich der Regelmäßigkeit der Anfärbung im Stratum basale und im Stratum suprabasale

zeigten, wurden zunächst die basalen und suprabasalen Färbeergebnisse je Hautschnitt verglichen. Die Hautschnitte mit einer regelmäßigen Markierung in beiden Epidermisanteilen nach Anwendung des Antikörpers AE 3 wurden als einheitlich gefärbt zusammengefasst, wohingegen die Hautschnitte mit einer regelmäßigen Anfärbung in der basalen Schicht aber einer unregelmäßigen Anfärbung in der suprabasalen Schicht als uneinheitlich gefärbt eingestuft wurden. Insgesamt wurden so 283 Hautschnitte bewertet und zugeordnet. Die Ergebnisse sind den Tabellen 22a bis d des Anhangs entnommen.

Die folgenden Abbildungen erfassen jeweils die einheitlich bzw. uneinheitlich gefärbten Hautproben in den einzelnen Altersgruppen ohne Berücksichtigung der Hautregionen und stellen sie vergleichend gegenüber. Zur besseren Übersicht sind in Abbildung 15 die Ergebnisse der Legehühner (n gesamt = 141) und in Abbildung 16 die Ergebnisse der Masthühner (n gesamt = 142) getrennt dargestellt.

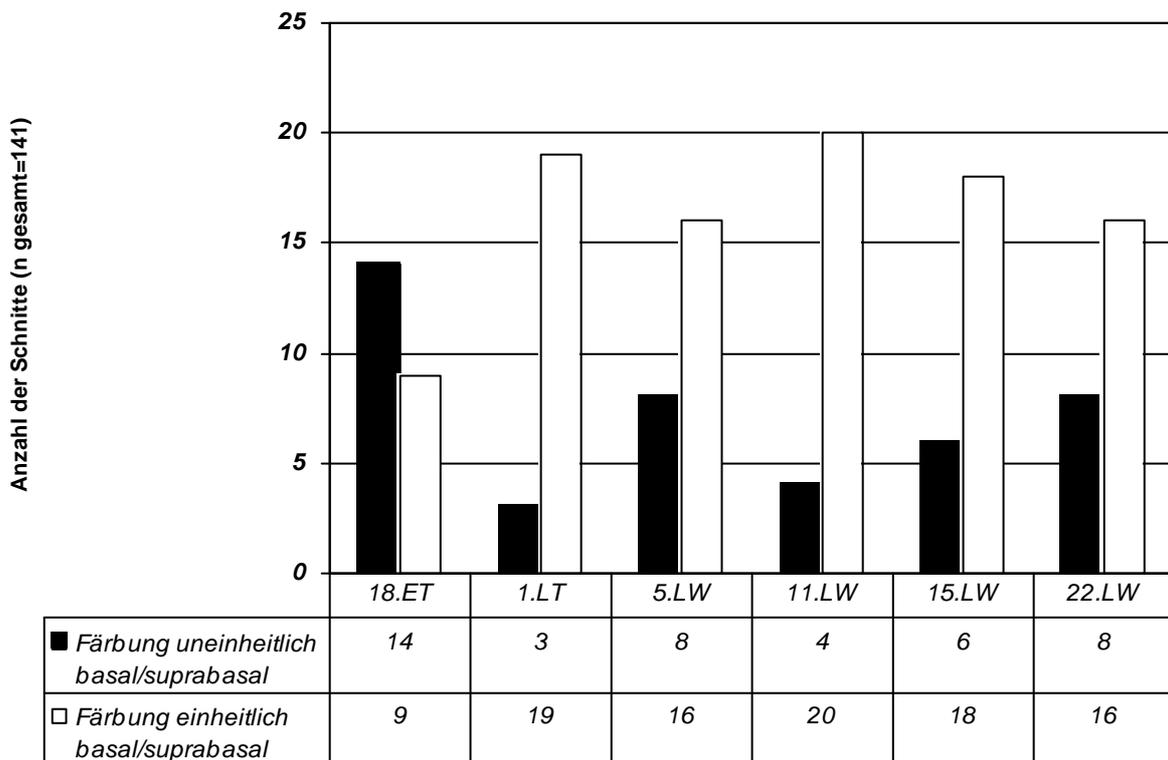


Abb. 15: Hautproben mit uneinheitlicher bzw. einheitlicher Anfärbung von Stratum basale und suprabasale nach Anwendung von AE 3 im Vergleich der sechs Alterstufen der Legehühner ungeachtet der Hautregionen

Die Abbildung 15 lässt erkennen, dass in der Legerichtung am 18. Embryonaltag mehr Hautschnitte (n=14) mit uneinheitlicher Färbung im Stratum basale und suprabasale vorhanden sind als Schnitte (n=9) mit einheitlicher Färbung. Dagegen sind bei den frisch geschlüpften Eintagsküken mehr Hautschnitte in der basalen und suprabasalen Epidermis regelmäßig und damit einheitlich angefärbt, was auch für alle höheren Alterstufen gilt.

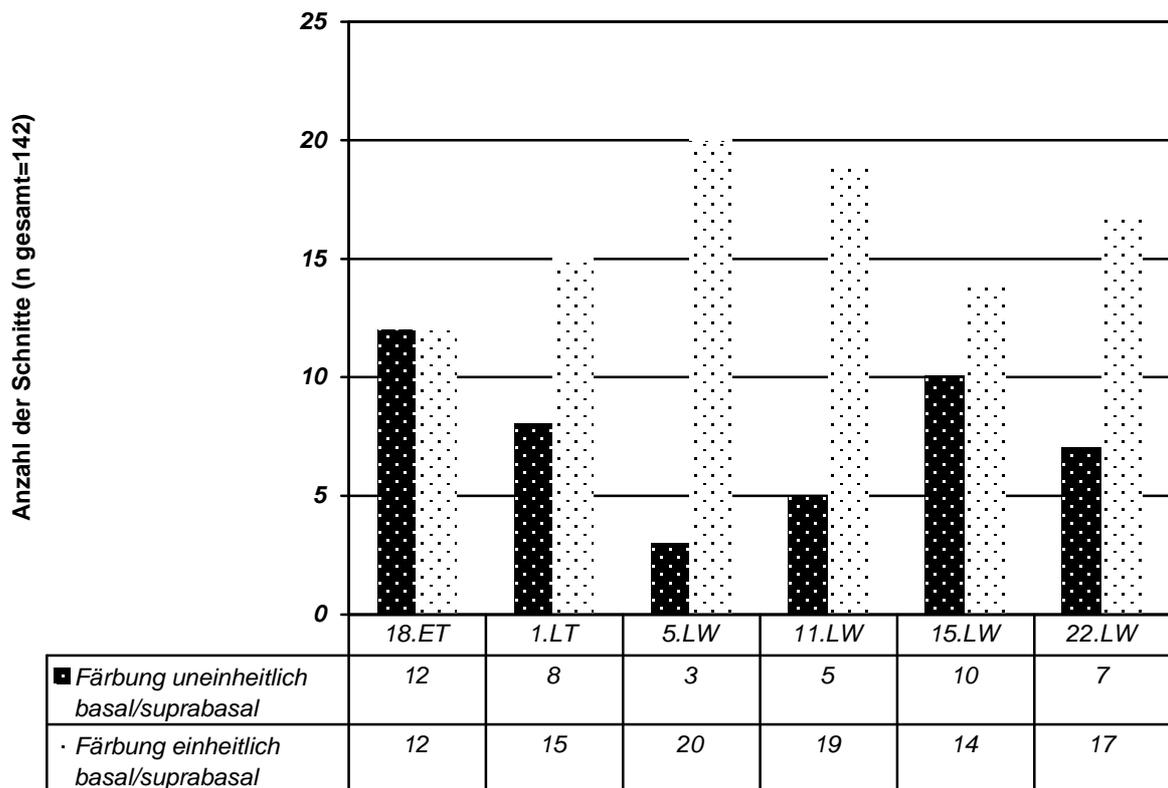


Abb. 16: Hautproben mit uneinheitlicher bzw. einheitlicher Anfärbung von Stratum basale und suprabasale nach Anwendung von AE 3 im Vergleich der sechs Altersstufen der Masthühner ungeachtet der Hautregionen

Die Abbildung 16 zeigt, dass bei den Masthennen am 18. Embryonaltag die 24 Schnitte im Stratum basale und suprabasale zur Hälfte uneinheitlich wie einheitlich angefärbt sind. In den übrigen Lebensalterstufen (1. LT, 5. LW, 11. LW, 15. LW, 22. LW) überwiegt aber wie in der Legerichtung die einheitliche Färbung.