

5. Zusammenfassung

Die Hautkarzinomatose ist eine weltweit auftretende Geschwulsterkrankung bei Jungmasthühnern, die erst bei geschlachteten Tieren nach der Entfederung sichtbar und ökonomisch relevant wird. Über ihre Pathologie, Histogenese, Ätiologie und Klassifizierung bestehen noch zahlreiche Unklarheiten. Ziel der Arbeit war es, mit Hilfe von pathologisch-anatomischen, histopathologischen, elektronenmikroskopischen und immunhistochemischen Untersuchungen zur näheren Charakterisierung dieser Erkrankung beizutragen.

Es wurden 178 Jungmasthühner (beiderlei Geschlecht, Bodenhaltung, Schlachalter 34 Tage) mit Hautkarzinomatose in die Untersuchungen einbezogen. Der Nachweis der Hautveränderungen erfolgte im Geflügelschlachtbetrieb am getöteten und entfederten Tier. Sämtliche Läsionen waren im Bereich der Federfluren lokalisiert. Sie traten bevorzugt in der mittleren und kaudalen Rückenregion, an den Oberschenkeln und im Brustbereich auf. Die pathologisch-anatomische Kontrolle der Tierkörper zeigte, daß bei 42,7% der Tiere eine, bei 57,3% der Tiere mehrere, gelegentlich über zwanzig Tumorknoten in der Haut vorlagen.

Insgesamt wurden vier verschiedene Manifestationsformen differenziert (verdickte Federfollikel, knoten-, krater- und straßenförmige Hautveränderungen). Verdickte Federfollikel und Knotenformen (21,5%) stellen die Anfangsstadien dieser Geschwulsterkrankung dar. Sie sind histologisch auf eine Hyperplasie des Federfollikel-epithels zurückzuführen. Die basalen Zellen des hyperplastischen Federfollikel-epithels infiltrieren, nachdem sie die Basalmembran durchbrochen haben, in Form von wenig differenzierten Keratinozyten die Dermis. Im Zentrum dieser veränderten Federfollikel befinden sich zystenähnliche Hohlräume, die mit Hornlamellen ausgefüllt sind. Durch Herausfallen der zentralen Hornmassen entstehen aus den Knoten Krater. Diese waren mit 77,4% am häufigsten vertreten. Einige Krater wiesen Durchmesser bis 3,7 Zentimeter auf. Konfluieren mehrere benachbarte Krater miteinander, entstehen Läsionen, die den Tierkörper straßenförmig überziehen. Diese sogenannten „Straßenformen“ waren nur bei 1,1% der untersuchten Tiere nachweisbar. Hier überwiegen entzündliche lymphozytäre Reaktionen und Fibroplasie, was für Regression spricht. Ein Übergreifen der Geschwülste auf Strukturen außerhalb der Haut wurde nicht beobachtet.

Mit Hilfe histopathologischer, immunhistochemischer und elektronenmikroskopischer Untersuchungen gelang der Nachweis, daß das hyperplastische Federfollikel-epithel das Ursprungsgewebe dieser Geschwulst darstellt. In diesem Zusammenhang erfolgten Untersuchungen zum Zytokeratinprofil der neoplastisch veränderten Hühnerhaut.

Insgesamt wurden neun verschiedene Zytokeratinmarker untersucht. Sowohl in den Geschwulstzellen als auch in den Zellen des Federfollikel-epithels und der Epidermis waren die Zytokeratine CK1, CK5, CK8, CK10, CK14, CK16 und CK19 nachweisbar. Die Zytokeratine CK6 und CK18, die durch den Zytokeratinmarker LP34 dargestellt wurden, traten ebenfalls in den Geschwulst- und Federfollikel-epithelzellen, nicht jedoch in den Epidermiszellen auf. Dies lieferte den Hinweis, daß nicht die Epidermis schlechthin, sondern das hyperplastische Federfollikel-epithel das Ursprungsgewebe der Hautkarzinomatose darstellt.

Neben der Feststellung der Mitoserate wurde die Proliferationsaktivität der Hautkarzinomatose mit Hilfe der Proliferationsmarker PCNA und MIB-1 näher untersucht. Hierbei zeigte sich, daß bevorzugt wenig differenzierte Tumorzellen Proliferationsaktivität

aufwiesen. Da der Anteil dieser Zellen in den Anfangsstadien der Hautkarzinomatose überwiegt, ist von einem schnellen Wachstum zu Beginn der Erkrankung auszugehen. Die immunhistochemische Markierung von Gefäßendothelien mit Hilfe des „von-Willebrand-Faktors“ lieferte keine Anzeichen für eine Metastasierung oder Einbrüche von Tumorzellen in Gefäße.

Die Tumoren der Hautkarzinomatose neigen zur spontanen Regression, die mit Fibroplasie und entzündlicher Infiltration im Tumorbereich verbunden ist. Eine immunhistochemische Differenzierung der Entzündungszellen ergab, daß die Infiltrate zu etwa 60% aus T-Lymphozyten, zu etwa 20% aus B-Zellen und zu etwa 20% aus Makrophagen bestanden, die auf zytotoxische Abwehrprozesse bei der Tumorregression hindeuten.

Die Klassifizierung dieser Geschwulsterkrankung bereitete häufig Schwierigkeiten. Die vorliegende Untersuchung ergab, daß das hyperplastische Federfollikel­epithel das Ursprungsgewebe dieser Neoplasie darstellt. Da es sich hierbei um eine epitheliale Geschwulst von geringer Malignität handelt, wird für eine genauere Klassifizierung die Bezeichnung „hochdifferenziertes Federfollikelkarzinom“ empfohlen.

Ätiologisch scheint die Hautkarzinomatose aus Dyskeratosen des Federfollikel­epithels hervorzugehen, so daß nähere Analysen des Federwechsels und der Dyskeratosen­ausbildung erforderlich sind.

Im Rahmen elektronenmikroskopischer Untersuchungen gelang es, in tumorös veränderten Hautproben mehrfach Partikel nachzuweisen, die Ähnlichkeiten mit aviären Oncoviren Typ C aufwiesen. In orientierenden virologisch- serologischen Zusatzuntersuchungen konnten in der erkrankten Haut mit Hilfe des ELISA- Antigennachweises das Core- Protein p27, das aviäre Leukoseviren (ALV) aller Subtypen besitzen, festgestellt werden. Eine Bestimmung der ALV- Untergruppe mittels ELISA- Antikörpernachweis verlief jedoch negativ. Somit ist die Bedeutung der nachgewiesenen ALV-ähnlichen Partikel für die Ätiologie der Hautkarzinomatose bislang nicht geklärt und bedarf weiterer spezifischer Untersuchungen. Ebenso ist zu prüfen, ob die in der Literatur postulierte ätiologische Bedeutung einer insuffizienten Immunabwehr der Tiere und schlechte Haltungsbedingungen die Entstehung der Hautkarzinomatose begünstigen.

6. Summary

Pathomorphological analyses to characterization of the skin carcinomatosis (keratoacanthoma) of broiler chickens

Skin carcinomatosis is a neoplastic disease of broiler chickens that is found world-wide. It is only diagnosed on slaughtered unfeathered chickens. Pathogenesis, histogenesis, aetiology and classification are unknown.

The aim of this work was to get a fundamental understanding of this disease using pathological, histopathological, electron microscopical and immunohistochemical analyses.

178 ground-keeping broiler chickens of either sex with skin carcinomatosis that had been slaughtered with nearly 34 days were included in the study. Skin lesions were only detected on slaughtered and featherless chickens at the poultry slaughterhouse. All lesions were present in the feather tracts (pterylae). Most of them were observed in the middle and caudal pelvic as well as femoral and pectoral feather tracts. 42,7% of the chickens showed one, 57,3% two or more skin lesions.

The macroscopic examination revealed four different stadiums of this disease. Beside thickened feather follicles, nodular, ulcerative and street-like skin lesions were detected. Thickened feather follicles and nodular forms (21,5%) represent the initial stages of this neoplasia. Microscopically they were hyperplastic feather follicles. The centrum of them showed cystical cavities with dyskeratotic horn in it. The basal cells of the hyperplastic feather follicle epithelium infiltrated the skin. They were poorly differentiated.

Nodular forms progressed to ulcers. With 77,4% ulcers were observed most frequently whose diameter amounted to 3,7 cm at maximum. In some animals neighbouring ulcers connected with each other and formed skin lesions that coated the animal body like streets. These street-like form (1,1%) represent a regeneration phase of the skin carcinomatosis. Here with mainly fibroplasia and numerous mixed inflammatory cells were found. Tumour never affected other structures (like muscles) apart of the skin.

Using histopathological, electron microscopical and immunohistochemical analyses it could be shown that the hyperplastic feather follicle epithelium is the origin of this neoplasia. In addition a cytokeratin profile of the neoplastically altered broiler skin was done. In total nine different cytokeratin markers were analysed. Regarding the tumour cells, the feather follicle epithelium and the epidermis the cytokeratin profile CK1, CK5, CK8, CK10, CK14, CK16 and CK19 were positive. The cytokeratins CK6 and CK18 which were represented using the cytokeratin-marker LP34 were found in the tumour cells and feather follicle epithelium but not within the epidermis. This was the proof information that the hyperplastic feather follicle epithelium represent the origin of the skin carcinomatosis and not the epidermis as supposed previously.

Mitotic figures were easily demonstrable in many lesions. With the help of the mitotic index and the proliferation markers PCNA and MIB-1 the proliferation activity of the skin carcinomatosis was analysed. Herewith particularly less differentiated tumour cells showed proliferation activity. Since there are a lot of less differentiated tumour cells regarding the initial stages of the skin carcinomatosis a rapid growth at the beginning of this disease can be assumed.

Using the "von-Willebrand-Faktor", an immunohistochemical analysis, local invasion in vessels was not observable. The same held true for metastasis in visceral organs.

In another analysis the inflammatory cell populations in the tumour area were characterised. Beside about 60% T-lymphocytes, about 20% B-cells and about 20% macrophages were found.

The classification of this neoplastic disease has often caused problems. This analysis showed that the hyperplastic feather follicle epithelium is the origin of this tumour. Since this neoplasia is an epithelial and not very malignant tumour it should be classified as „highly differentiated feather follicle carcinoma“.

From the aetiological point the skin carcinomatosis seems to consist of dyskeratosis of the feather follicle epithelium, requiring analyses of feather changes and formations of dyskeratosis.

Regarding the electron microscope analysis virus-like particles were present in the neoplastically changed skin. They looked similar to avian oncoviruses type C. With the help of an antigen-ELISA core-protein p27 (a typical characteristic of avian leukosis viruses (ALV) and their subtypes), were differentiated. A determination of ALV subgroups was not possible.

So far, the role of avian leukosis viruses for the emergence of this neoplasia has not completely be understood. There are several hints that a deficient immunity of the broiler and bad keeping conditions are contribute to tumour development.