

Aus dem Department für Veterinärwissenschaften der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität-München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz

**Histologische, histochemische und ultrastrukturelle  
Untersuchungen an der fetalen Haut des Rindes  
(*Bos taurus*)**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von  
Katja Ebach  
aus Münster in Westfalen

München 2011

Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil Sinowatz

Korreferenten: Priv.-Doz. Dr. André

Priv.-Doz. Dr. Maierl

Priv.-Doz. Dr. Wess

Priv.-Doz. Dr. Rinder

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

*Meinen Eltern*

*gewidmet*



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>14</b>
<b>II.</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>15</b>
<b>1.</b>	<b>Ontogenese des Integumentum commune .....</b>	<b>15</b>
1.1.	Entwicklung der Epidermis .....	15
1.2.	Entwicklung der Dermis und der Subcutis .....	17
1.3.	Entwicklung der Hautdrüsen .....	20
1.3.1.	Die apokrinen Hautdrüsen .....	20
1.3.2.	Die ekkrinen Hautdrüsen .....	21
1.3.3.	Die Talgdrüsen .....	21
1.4.	Entwicklung der Haare .....	22
<b>2.</b>	<b>Haarzyklus .....</b>	<b>26</b>
2.1.	Anagen.....	26
2.2.	Anagen–Katagen–Übergang.....	27
2.3.	Katagen.....	27
2.4.	Telogen .....	27
2.5.	Telogen–Anagen–Übergang .....	27
<b>3.</b>	<b>Epitheliale Stammzellen.....</b>	<b>28</b>
3.1.	Eigenschaften epithelialer Stammzellen.....	28
3.2.	Stammzellnischen in Epidermis und Haarfollikel .....	29
3.3.	Immunhistochemische Untersuchungen der Epidermis im Bezug auf epitheliale Stammzellen.....	30
<b>III.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>31</b>
<b>1.</b>	<b>Verwendetes Probenmaterial .....</b>	<b>31</b>
<b>2.</b>	<b>Gewinnung der Feten und Präparation der Hautproben .....</b>	<b>33</b>
<b>3.</b>	<b>Entnahme und Fixierung der Hautproben.....</b>	<b>35</b>
<b>1.</b>	<b>Fixierung und Probenaufbereitung für die Lichtmikroskopie.....</b>	<b>35</b>
1.1.	Arbeitsschritte zur Gewinnung von Paraplastschnitten .....	35
1.2.	Verwendung der Paraplastschnitte .....	37
1.3.	Histologische Färbungen .....	39
1.3.1.	Hämalaun-Eosin (H.E.) nach Meier: .....	40
1.3.2.	Trichromfärbung nach Masson und Goldner:.....	40
1.3.3.	Alcianblau.....	41
1.3.4.	Periodic-Acid-Schiff-Reaction (PAS) nach Mc Manus: .....	42
1.3.5.	Silberimprägnation nach Gomori .....	43

---

<b>2.</b>	<b>Immunhistochemische Untersuchungen.....</b>	<b>44</b>
<b>3.</b>	<b>Glykohistochemische Untersuchungen .....</b>	<b>45</b>
<b>4.</b>	<b>Transmissionselektronenmikroskopie .....</b>	<b>48</b>
<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>49</b>
<b>1.</b>	<b>Ergebnisse der histologischen Untersuchungen.....</b>	<b>49</b>
1.1.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 8,5 cm.....	49
1.2.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 10,5 cm.....	49
1.3.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 11,0 cm.....	50
1.4.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 13,7 cm.....	50
1.5.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 14,5 cm.....	53
1.6.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 15,3 cm.....	53
1.7.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 15,7 cm.....	54
1.8.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 17,0 cm.....	54
1.9.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 21,0 cm.....	55
1.10.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 23,8 cm.....	58
1.11.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm.....	59
1.12.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 27,8 cm.....	60
1.13.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 29,0 cm.....	60
1.14.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm.....	61
1.15.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 34,0 cm.....	64
1.16.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 34,5 cm.....	65
1.17.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 37,3 cm.....	67
1.18.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 41,4 cm.....	68
1.19.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm.....	70
1.20.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,8 cm.....	71
1.21.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 49,0 cm.....	75
1.22.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 57,6 cm.....	75
1.23.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 58,0 cm.....	79
1.24.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 63,0 cm.....	82
1.25.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 64,8 cm.....	85
1.26.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm.....	87
1.27.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm.....	91
1.28.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm.....	93
1.29.	Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 95,0 cm.....	94
1.30.	Haut von Kälbern zwischen dem zweiten und neunten Lebenstag.....	96
1.31.	Bovine Haut von adulten Tieren zwischen 20 Monaten und 4,5 Jahren .....	101
<b>2.</b>	<b>Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen.....</b>	<b>105</b>

---

2.1.	Expression von Laminin in der bovinen Haut .....	105
2.1.1.	Übersicht.....	105
2.1.2.	Expressionsmuster von Laminin in der Haut boviner Feten.....	105
2.1.3.	Expressionsmuster von Laminin in der Haut von Kälbern.....	106
2.1.4.	Expressionsmuster von Laminin in der bovinen Haut adulter Tiere .....	106
2.2.	Expression von Vimentin in der bovinen Haut.....	110
2.2.1.	Übersicht.....	110
2.2.2.	Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten .....	110
2.2.3.	Expression von Vimentin in der Haut von Kälbern.....	111
2.2.4.	Expression von Vimentin in der bovinen Haut adulter Tiere .....	111
2.3.	Expression von $\alpha$ -SMA in der bovinen Haut.....	114
2.3.1.	Übersicht.....	114
2.3.2.	Expression von $\alpha$ -SMA in der Haut boviner Feten .....	114
2.3.3.	Expression von $\alpha$ -SMA in der Haut von Kälbern.....	114
2.3.4.	Expression von $\alpha$ -SMA in der bovinen Haut adulter Tiere .....	115
2.4.	Expression von Kollagen Typ IV in der bovinen Haut .....	118
2.4.1.	Übersicht.....	118
2.4.2.	Expression von Kollagen Typ IV in der Haut boviner Feten .....	119
2.4.3.	Expression von Kollagen Typ IV in der Haut von Kälbern .....	119
2.4.4.	Expression von Kollagen Typ IV in der bovinen Haut adulter Tiere .....	120
2.5.	Expression von S100 in der bovinen Haut.....	124
2.5.1.	Übersicht.....	124
2.5.2.	Expression von S100 in der Haut boviner Feten .....	124
2.5.3.	Expression von S100 in der Haut von Kälbern.....	125
2.5.4.	Expression von S100 in der bovinen Haut adulter Tiere .....	125
2.6.	Expression von Ki67 in der bovinen Haut.....	128
2.6.1.	Übersicht.....	128
2.6.2.	Expression von Ki67 in der Haut boviner Feten.....	128
2.6.3.	Expression von Ki67 in der Haut von Kälbern.....	128
2.6.4.	Expression von Ki67 in der bovinen Haut adulter Tiere .....	129
2.7.	Expression von p63 in der bovinen Haut.....	130
2.7.1.	Übersicht.....	130
2.7.2.	Expression von p63 in der fetalen bovinen Haut.....	130
2.7.3.	Expression von p63 in der Haut von Kälbern.....	131
2.7.4.	Expression von p63 in der bovinen Haut adulter Tiere .....	131
2.8.	Expression von Keratin 5 in der bovinen Haut.....	136
2.8.1.	Übersicht.....	136
2.8.2.	Expression von Keratin 5 in der Haut boviner Feten.....	136
2.8.3.	Expression von Keratin 5 in der Haut von Kälbern.....	137

2.8.4.	Expression von Keratin 5 in der bovinen Haut adulter Rinder.....	137
2.9.	Expression von Keratin 14 in der bovinen Haut.....	143
2.9.1.	Übersicht.....	143
2.9.2.	Expression von Keratin 14 in der Haut boviner Feten.....	143
2.9.3.	Expression von Keratin 14 in der Haut von Kälbern.....	144
2.9.4.	Expression von Keratin 14 in der Haut adulter Rinder.....	144
2.10.	Expression von Keratin 8 in der bovinen Haut.....	146
2.10.1.	Übersicht.....	146
2.10.2.	Expression von Keratin 8 in der Haut boviner Feten.....	146
2.10.3.	Expression von Keratin 8 in der Haut von Kälbern.....	146
2.10.4.	Expression von Keratin 8 in der Haut adulter Rinder.....	146
2.11.	Expression von Keratin 15 in der bovinen Haut.....	149
2.11.1.	Übersicht.....	149
2.11.2.	Expression von Keratin 15 in der Haut boviner Feten.....	149
2.11.3.	Expression von Keratin 15 in der Haut von Kälbern.....	150
2.11.4.	Expression von Keratin 15 in der Haut adulter Rinder.....	150
2.12.	Expression von Keratin 18 in der bovinen Haut.....	154
2.12.1.	Übersicht.....	154
2.12.2.	Expression von Keratin 18 in der Haut boviner Feten.....	154
2.12.3.	Expression von Keratin 18 in der Haut von Kälbern.....	155
2.13.	Expression von Keratin 18 in der Haut adulter Rinder.....	156
2.14.	Expression von Keratin 19.....	159
2.14.1.	Übersicht.....	159
2.14.2.	Expression von Keratin 19 in der Haut boviner Feten.....	159
2.14.3.	Expression von Keratin 19 in der Haut von Kälbern.....	160
2.14.4.	Expression von Keratin 19 in der bovinen Haut adulter Tiere .....	160
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse der glykohistochemischen Untersuchungen .....</b>	<b>163</b>
3.1.	Glucose- bzw. Mannose bindende Lektine pflanzlicher Herkunft .....	163
3.1.1.	Untersuchung der Bindung von Canavalia ensiformis Agglutinin (ConA).....	163
3.1.2.	Untersuchung der Bindung von Pisum sativum Agglutinin (PSA) .....	164
3.1.3.	Untersuchung der Bindung von Lens culinaris Agglutinin (LCA).....	166
3.2.	D-Galactose bindende pflanzliche Lektine.....	167
3.2.1.	Untersuchung der Bindung von Ricinus communis Agglutinin (RCA) .....	167
3.2.2.	Untersuchung der Bindung von Viscum album Agglutinin (VAA) .....	167
3.2.3.	Untersuchung der Bindung von Peanut Agglutinin (PNA) .....	168
3.2.4.	Untersuchung der Bindung von Griffonia simplicifolia Lektin I (GSL-I) .....	169
3.3.	N-Acetyl-D-Galactosamin/D-Galactosamin bindende Lektine .....	169
3.3.1.	Untersuchung der Bindung von Dolichos biflorus Agglutinin (DBA).....	169
3.3.2.	Untersuchung der Bindung von Soybean Agglutinin (SBA).....	169

---

3.3.3.	Untersuchung der Bindung von Sophora japonica Agglutinin (SJA).....	170
3.3.4.	Untersuchung der Bindung von Sambucus nigra Agglutinin (SNA).....	170
3.4.	N-Acetyl-D-Glucosamin bzw. N-Acetyl-Neuraminsäure bindende Lektine.....	173
3.4.1.	Untersuchung der Bindung von Wheat germ Agglutinin (WGA).....	173
3.4.2.	Untersuchung der Bindung von succinyliertem Wheat germ Agglutinin (s-WGA).....	174
3.5.	L-Fukose bindende Lektine.....	174
3.5.1.	Untersuchung der Bindung von Ulex europaeus Agglutinin I (UEA-I).....	174
3.6.	Lektine mit Oligosaccharidbindungsstellen.....	175
3.6.1.	Untersuchung der Bindung von Maackia amurensis Agglutinin I (MAA-I).....	175
3.6.2.	Untersuchung der Bindung von Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin (PHA-E).....	176
3.6.3.	Untersuchung der Bindung von Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin (PHA-L).....	177
<b>4.</b>	<b>Ergebnisse der ultrastrukturellen Untersuchungen.....</b>	<b>178</b>
4.1.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 10,5 cm.....	178
4.2.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm.....	180
4.3.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm.....	192
4.4.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm.....	193
4.5.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 67,8 cm.....	205
4.6.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm.....	219
4.7.	Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm.....	222
4.8.	Ultrastruktur der Haut eines neun Tage alten Kalbes.....	223
4.9.	Ultrastruktur der Haut eines 20 Monate alten Rindes.....	225
4.10.	Ultrastruktur der Haut eines 4,5 Jahre alten Rindes.....	229
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>232</b>
<b>1.</b>	<b>Diskussion der histomorphologischen und ultrastrukturellen Untersuchungen.....</b>	<b>233</b>
<b>2.</b>	<b>Diskussion der immunhistochemischen Untersuchungen.....</b>	<b>239</b>
<b>3.</b>	<b>Diskussion der glykohistochemischen Untersuchungen.....</b>	<b>244</b>
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>247</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY.....</b>	<b>250</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>252</b>
<b>IX.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>267</b>
<b>X.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>272</b>

---

<b>XI.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>274</b>
<b>1.</b>	<b>Lösungen für die Lichtmikroskopie.....</b>	<b>274</b>
1.1.	Fixanzien .....	274
1.2.	Lösungen für histologische Färbungen.....	274
1.2.1.	Hämalaun- Eosin (HE) nach Meier .....	274
1.2.2.	Alcianblau.....	275
1.2.3.	PAS-Reaktion nach Mc Manus .....	276
1.2.4.	Trichromfärbung nach Masson und Goldner.....	276
1.2.5.	Silberimprägnation nach Gomori .....	277
<b>2.</b>	<b>Lösungen für die immunhistochemischen Untersuchungen.....</b>	<b>278</b>
<b>3.</b>	<b>Lösungen für die glykohistochemischen Untersuchungen.....</b>	<b>280</b>
3.1.	Fluoreszenzfarbstoffe .....	280
3.2.	Eindeckmedium .....	280
<b>4.</b>	<b>Lösungen für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen.....</b>	<b>280</b>
4.1.	Fixanzien .....	280
4.2.	Puffer .....	281
4.3.	Kontrastierungslösungen .....	281
4.4.	Einbettmedien.....	282
4.5.	Färbelösungen.....	282
4.6.	Nachkontrastierungsmedien .....	282
<b>XII.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>284</b>

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

$\alpha$ -SMA: alpha-Smooth muscle	ER: Endoplasmatisches Retikulum
actin	Essigsre: Essigsäure
äHWS: äußere Haarwurzelscheide	Et: Endothel
BG: Blutgefäß	f: Filamente
BM: Basalmembran	Fb: Fibroblast
BZ: Basalzelle	FITC: Fluoresceinisothiocyanat
bzw.: beziehungsweise	FK: Feuchtkammer
C: Centriol	Fuc: Fucoidan
ca.: circa	Fz: Fibrozyt
cm: Zentimeter	G: Glykogen
ConA: Canavalia ensiformis	Go: Golgi-Apparat
Agglutinin	GSL-I: Griffonia simplicifolia Lektin I
DA: Drüsenanlage	H: Haar
DAB: Diaminobenzidin	HA: Haaranlage
DAPI: Diamidinophenylindol	HC: Haarkutikula
-dihydrochlorid	HE: Hämalaun-Eosin
DBA: Dolichos biflorus	He: Henle-Schicht
Agglutinin	Hf: Haarfollikel
DP: Dermale Papille	HK: Haarkanal
Dt: Dermatome	HM: Haarmark
DWS: Dermale Wurzelscheide	Ho Rd: Hoden vom Rind
DZ: Dendritische Zellen	HR: Haarrinde
E: Erythrozyt	HWS: epitheliale Haarwurzelscheide
Ekto: Ektoderm	Hx: Huxley-Schicht
En: Epineurium	HZ: Haarzwiebel
EN: Endo-, Peri- und Epineurium	

Ento: Entoderm	mm: Millimeter
HZ: Haarzwiebel	Mo: Monate
Hze: Horizontalebene	Ms: Mesenchym
iHWS: innere Haarwurzelscheide	Mt: Myotom
Iz: Interzellularraum	Mv: Mikrovilli
K: Kapillare	Mz: Melanozyt
K5: Keratin 5	µm: Mikrometer
K8: Keratin 8	N: Nukleus
K14: Keratin 14	n-Acgal: n-Acetylgalactosamin
K15: Keratin 15	Nc: Nucleolus
K18: Keratin 18	Nh Hd: Nebenhoden vom Hund
K19: Keratin 19	Ni Rd: Niere vom Rind
KH: Kolbenhaar	nm: Nanometer
L: Lumen	Nx: Nexus
LCA: Lens culinaris Agglutinin	Ov Hd: Ovar vom Hund
m: männlich	Ov Sw: Ovar vom Schwein
M: Mitochondrium	PAS: Periodic-Acid-Schiff-Reaction
M-α-gal: Methyl-α-D-Galactopyranoside	PBS: phosphate buffered saline solution
M-α-M: Methyl-α-Mannopyranoside	p.c.: post coitum
MAA-I: Maackia amurensis Agglutinin I	Pd: Periderm
Map: Musculus arrector pili	PF: Primärer Follikel
MaZ: Matrix Zellen	PHA-E: Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin
Mel: Melanosom	PHA-L: Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin
Meso: Mesoderm	PM: paraxiales Mesoderm
MEZ: myoepitheliale Zellen	PNA: Peanut Agglutinin
	Pp: Präpapille
	PSA: Pisum sativum Agglutinin

---

min: Minuten	Sp: Stratum papillare
PVA: Polyvinyl Alkohol	SpP: Splanchnopleura
rER: raues Endoplasmatisches Retikulum	Sr: Stratum reticulare der Dermis
RCA: Ricinus communis Agglutinin	Ss: Stratum spinosum
RT: Raumtemperatur	SSL: Scheitel-Steiß-Länge
S: Sebum	s-WGA: succinyliertes Wheat germ Agglutinin
SB: Scale bar	SZ: Schwann-Zelle
Sb: Stratum basale	T: Tage
sb: suprabulbär	TD: Talgdrüse
SBA: Soybean Agglutinin	TDA: Talgdrüsenausführungsgang
SD: Schweißdrüse	Te: Tunica externa
SDA: Ausführungsgang der Schweißdrüse	Tm: Tunica media
SDE: Endstück der Schweißdrüse	Tve: Transversalebene
sek: Sekunden	UEA-I: Ulex europaeus Agglutinin I
SF: Sekundärer Follikel	V: Vesikel
Sg: Stratum granulosum	VAA: Viscum album Agglutinin
Sge: Sagittalebene	w: weiblich
Si: Stratum intermedium	W: Haarwulst
SJA: Sophora japonica Agglutinin	WGA: Wheat germ agglutinin
SNA: Sambucus nigra Agglutinin	z.T.: zum Teil
SoP: Somatopleura	

## I. EINLEITUNG

Die Haut als größtes Organ schützt den Körper vor physikalischen, chemischen, thermischen und mikrobiellen Einflüssen. Ihr spezialisierter Aufbau, der sich schon während der pränatalen Entwicklung beobachten lässt, bildet die Grundlage für diese lebenswichtigen Funktionen. Dies beinhaltet zum einen die Entwicklung eines mehrschichtig verhornten Plattenepithels, der Epidermis, zum anderen bei den meisten Säugetieren die Ausbildung eines hochdifferenzierten, speziestypischen Haarkleides, das den Schutz vor mechanischen und thermischen Einflüssen unterstützt. Talgdrüsen schützen durch ihr Sekret die Haut vor Austrocknung, Schweißdrüsen erfüllen wichtige Funktionen bei der Thermoregulation und durch die Bildung von Duftstoffen in der Kommunikation innerhalb der Spezies.

Eine besondere Eigenschaft der Haut liegt in ihrer ausgeprägten Dynamik, in den ständig ablaufenden Proliferations- und Differenzierungsprozessen, die in der Epidermis eine rasche Regeneration sowohl unter physiologischen als auch pathologischen Bedingungen gewährleisten. Deshalb ist die Haut besonders während der letzten zehn Jahre im verstärkten Maße untersucht worden, denn epitheliale Stammzellen sind das Reservoir sowohl für die ständige Erneuerung der Epidermis als auch für das kontinuierliche Haarwachstum. Vor allem an murinem und humanem Gewebe wurden in den letzten Jahren interessante Studien durchgeführt, um Stammzellen der Epidermis näher zu charakterisieren und sie von den umgebenden Zellen unterscheiden zu können. Es wurden hierbei verschiedene molekulare Marker gefunden, die für die Stammzellen in ihren epidermalen Nischen spezifisch sind. Einige dieser Marker wurden auch im Rahmen dieser Arbeit eingesetzt um eine erste Charakterisierung dieser wichtigen Zellpopulationen auch am bovinen Gewebe zu erhalten. Der wichtigste Schwerpunkt war aber die genaue histologische, histochemische und ultrastrukturelle Charakterisierung der pränatalen Entwicklung der bovinen Haut, über die bisher nur bruchstückhafte Ergebnisse vorlagen.

## II. LITERATURÜBERSICHT

### 1. Ontogenese des Integumentum commune

#### 1.1. Entwicklung der Epidermis

Die Epidermis differenziert sich aus der oberflächlich gelegenen Ektodermalanlage, welche sich aus dem Neuralrohr abgesondert hat (SCHNORR & KRESSIN, 2006; RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Das Epidermisblatt des Ektoblasten besteht zunächst aus einer Schicht flacher bis isoprismatischer Zellen (MONTAGNA & PARAKKAL, 1974; GÖRGEN, 1983; MICHEL, 1995). Beim menschlichen Embryo bildet sich etwa vier Wochen post coitum (p.c.), bei der Ratte ab dem 10.Tag p.c. (BONNEVILLE, 1968), bei der Maus ab dem 12. Tag p.c. (DUBRUL, 1972; GÖRGEN, 1983) und beim Schwein 16 bis 18 Tage p.c. (SSL 8mm) (EVANS & SACK, 1973; GÖRGEN, 1983) eine zweite Zellschicht aus isoprismatischen bis flachen Zellen, die sich oberhalb der ersten anordnet. Diese stellt das Periderm (Epitrichium) dar, während die untere Zellschicht in der weiteren Entwicklung das Stratum basale der Epidermis bildet (MICHEL, 1995; SCHNORR & KRESSIN, 2006; RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Zur Entwicklung des Periderms während der menschlichen Embryonalentwicklung liegen unterschiedliche Ansichten vor. MONTAGNA & PARAKKAL, (1974) beschreibt ein vermehrtes Vorkommen von Tonofilamenten, sowie zugrundegegangene Zellorganellen und Zellkerne in den Peridermzellen, nicht aber das Entstehen von Keratohyalin granula als typisches Zeichen einer Verhornung. Dieser Autor geht dementsprechend, ebenso wie HASHIMOTO et al. (1966) und HOYES (1968) von einer nur unvollständigen Verhornung aus, während RAZEK (1978) eine vollständige Verhornung der Peridermzellen beschreibt.

Der Zeitpunkt der Abstoßung des Periderms bei den Haussäugetieren fällt zeitlich mit der Ausbildung des Stratum corneum und dem Durchbruch der ersten Haare zusammen (BACKMUND, 1904; LYNE & HOLLIS, 1972; GÖRGEN, 1983).

Beim Pferd findet dieses Ereignis im sechsten Fetalmonat (FECHTER, 1914; GÖRGEN, 1983), beim Schaf ab dem 115. Trächtigkeitstag statt (LYNE & HOLLIS, 1972). Das Periderm von Ratte und Maus wird erst zur Zeit der Geburt abgelöst (BRODY & LARSSON, 1965; BONNEVILLE, 1968; DUBRUL, 1972; GÖRGEN, 1983).

Das Stratum intermedium bildet sich als mittlere Schicht zwischen den beiden erstgenannten Zelllagen. Seine Zellpopulation stammt aus dem Stratum basale (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Beim Menschen ist das Stratum intermedium nach 10 bis 11 Wochen (SERRI, 1962), beim Schaf zwischen dem 30. und 40. Tag (LYNE & HOLLIS, 1972), beim Pferd neun Wochen p.c. (FECHTER, 1914), beim Schwein am 50. Ontogenesetag (FOWLER & CALHOUN, 1964; GÖRGEN, 1983) und bei der Katze mit einer Scheitel-Steißlänge (SSL) von 40 mm an den späteren Nackenstreifen und am übrigen Körper bei einer SSL von 52 mm (TOLDT, 1914; GÖRGEN, 1983) zu erkennen. Die Anzahl der Zelllagen im Stratum intermedium nimmt weiter zu und es bildet sich schließlich die typische

epidermale Schichtung mit dem Stratum spinosum, Stratum granulosum und dem Stratum corneum aus. Dabei ist der Schichtenbau Ausdruck des zellulären Differenzierungsablaufs. Die unterste Zellschicht der Epidermis besteht aus undifferenzierten Stammzellen und stellt das Stratum basale dar, welches durch ständige Zellteilung für eine dauernde Generierung der übrigen Schichten sorgt. Auch im darauf folgenden Stratum spinosum finden noch Mitosen statt. Es setzt sich aus mehreren Lagen polygonaler Zellen zusammen, welche intrazelluläre Tonofilamente bilden und durch ihre desmosomalen Verbindungen untereinander maßgeblich an der mechanischen Stabilität der Epidermis mitwirken. Die Zellen des auf das Stratum spinosum folgenden Stratum granulosum enthalten Keratohyalin granula, welche auch als paraplastische Körnchen bezeichnet werden. Sie kennzeichnen den Beginn der Verhornung, die schließlich zum Zelltod führt. Das Stratum corneum setzt sich aus diesen abgestorbenen und durch Keratin vernetzten Zellen zusammen, welche ständig nach außen abgeschilfert werden (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Bei der Ratte sind ab dem 12. Tage p.c. (BONNEVILLE, 1968), bei der Maus ab dem 16. Tag p.c. (BRODY & LARSSON, 1965; DUBRUL, 1972; GÖRGEN, 1983) ein Stratum basale, ein Stratum spinosum und ein Stratum granulosum erkennbar. Mit dem 18. Tag p.c. beginnt sich bei Ratte und Maus das Stratum corneum auszubilden. Beim Schaf hat die Epidermis um den 100. Tag p.c. ihre stärkste Dicke während der pränatalen Entwicklung erreicht. Kurz nach diesem Zeitpunkt findet der Haardurchbruch statt. Auch beim Rind kennzeichnet der Durchbruch der Haare den Übergang zwischen Anstieg und einer anschließenden Abnahme der Epidermisdicke (LYNE & HEIDEMAN, 1959; LYNE & HOLLIS, 1972; GÖRGEN, 1983).

Die Verhornung beginnt beim Menschen im fünften Monat im Bereich des Haarkanals und setzt sich allmählich über die gesamte Epidermis fort (MONTAGNA & PARAKKAL., 1974). Beim Schwein beginnt die Verhornung mit 72-74 Tagen p.c. und ist am 95. Tag an der Schnauze ausgereift, während die oberen Epidermisschichten der Körperwand erst etwas später verhornen (FOWLER & CALHOUN, 1964; GÖRGEN, 1983).

## 1.2. Entwicklung der Dermis und der Subcutis

Das Corium differenziert sich aus dem Mesoblasten. Dieser besteht zunächst aus

- dem paraxialen Mesoderm,
- dem intermediären Mesoderm und
- dem lateralen Mesoderm.

Im paraxialen Mesoderm findet eine Segmentation statt, welche zum Auftritt der Ursegmente (Urwirbel/Somite) führt. Unter Umbildung der Ursegmente bilden sich das Sklerotom und das Dermatomyotom (Haut-Muskelplatte). Diese wiederum lässt als ventro-medialen Anteil das Myotom (Muskelplatte) und als dorso-lateralen Anteil das Dermatome (Haut- oder Kutisplatte) unterscheiden (Abbildung 1). Aus dem Dermatome entwickelt sich schließlich unter anderem das Corium und die Subcutis des Rückens.

**Abbildung 1: Übersicht über die Differenzierung des paraxialen Mesoderms in Sklerotom, Myotom und Dermatome**

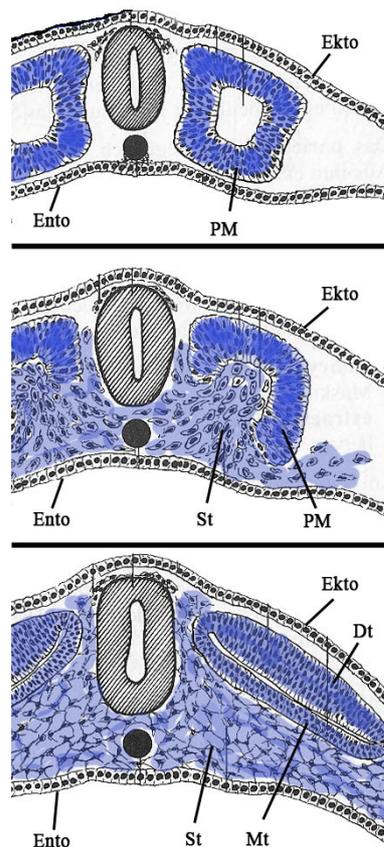


Bild oben: Das zwischen Ektoderm (Ekto) und Entoderm (Ento) lokalisierte paraxiale Mesoderm bildet zunächst den Somiten (PM). Bild Mitte: Hieraus leiten sich das Sklerotom (St) ab, ebenso wie das Dermatomyotom (PM). Bild unten: Aus dem Dermatomyotom leitet sich sowohl das Dermatom (Hautplatte) (Dt) als auch das Myotom (Muskelplatte) (Mt) ab. Aus dem Dermatome entsteht Dermis und Subcutis des Rückens. Modifiziert nach MICHEL (1995).

Das intermediäre Mesoderm (Abbildung 2, Abbildung 3) ist nicht an der Bildung von Hautanteilen beteiligt sondern wird zur Urogenitalplatte.

Im lateralen Mesoderm findet eine flächenparallele Spaltung statt, die zur Bildung der Somatopleura (parietales Blatt) und der Splanchnopleura (viscerales Blatt) führt (Abbildung 2, Abbildung 3). Die Somatopleura bildet unter anderem die Grundlage zur Bildung der bindegewebigen Anteile der lateralen Körperwand und somit auch des Coriums und der Subcutis in diesem Bereich (MICHEL, 1995).

**Abbildung 2: Übersicht über die Differenzierung des Mesoderms in das paraxiale, intermediäre und das laterale Mesoderm**

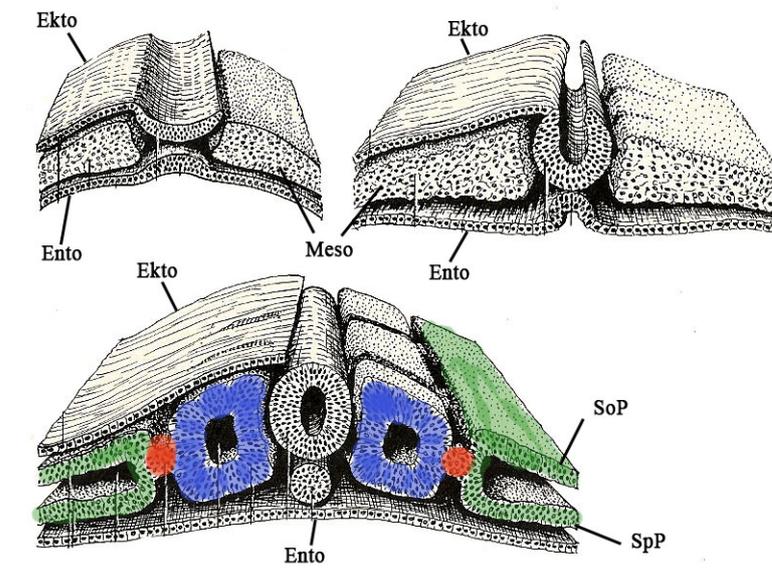
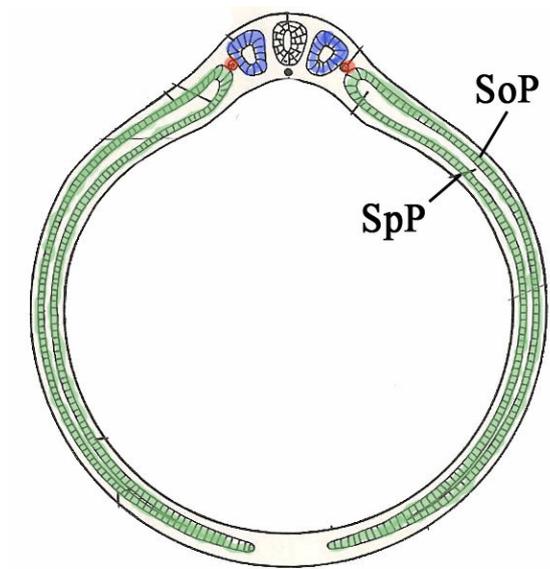


Bild oben links: Das Mesoderm (Meso) wird nach dorsal vom Ektoderm (Ekto) bedeckt, nach ventral vom Entoderm (Ento). Bild oben rechts: Das Mesoderm beginnt Einziehungen (rechte Bildseite) zu zeigen, die der Bildung der Somiten vorangehen. Bild unten: Das Bild zeigt das paraxiale Mesoderm (blau) im Stadium der Somiten, das intermediäre Mesoderm (rot) und das laterale Mesoderm (grün), das sich in zwei Blätter aufspaltet. Dies sind die Somatopleura (SoP) und die Splanchnopleura (SpP). Aus der Somatopleura entwickeln sich unter anderem die Dermis und die Subcutis der lateralen Körperwand. Modifiziert nach MICHEL (1995).

**Abbildung 3: Übersicht über die Ausbildung der mesodermalen Anteile**

Die Abbildung zeigt im Überblick die Anteile des Mesoderms. Dies sind das paraxiale Mesoderm (blau), das intermediäre Mesoderm (rot) und das laterale Mesoderm (grün) mit seinen zwei Anteilen, dem visceralen Blatt (Splanchnopleura (SpP)) und dem parietalen Blatt (Somatopleura (SoP)) aus dem unter anderem die Dermis und Subcutis der lateralen Körperwand entsteht. Modifiziert nach ZIETSCHMANN & KRÖLLING (1955)

Die Dermis des Kopfes bildet sich aus dem Kopfmesoderm (TOENDURY, 1963). Zunächst besteht die Anlage der Dermis aus einer glykoproteininhaltigen Grundsubstanz mit darin enthaltenen undifferenzierten Mesenchymzellen (HOLMGREN & JOHANSSON, 1933; GÖRGEN, 1983). Diese Zellen entwickeln sich bei der Ratte bis zum 20. Tag p.c. (FRASER, 1928), beim Schwein zwischen dem 50. und dem 55. Tag p.c. (FOWLER & CALHOUN, 1964; GÖRGEN, 1983), zu Fibroblasten. Die Zelldichte nimmt während der weiteren Entwicklung deutlich zu. Beim Menschen bilden sich im zweiten Fetalmonat kollagene Fasern aus (PINKUS & TANAY, 1968), während elastische Fasern im sechsten Monat sichtbar werden (RAZEK, 1978). In den tiefen Schichten der Dermis sind Kollagenfaserbündel weitgehend horizontal orientiert und tragen zur Ausbildung des Stratum reticulare bei (PERNKOPF & PATZELT, 1934). Die Bildung des Stratum papillare erfolgt durch Mesenchymzellen mit besonders hoher Teilungsrate, die sich in Richtung der Epidermis ausbreiten (RAZEK, 1978). Beim Schaf beginnt die Differenzierung des Stratum reticulare und des Stratum papillare im zweiten Monat, im vierten Monat sind die Schichten bereits deutlich voneinander unterscheidbar (DIOMIDOVA, 1954), während die Ausbildung beim Rinderfetus bis zur Mitte der Fetalzeit (LYNE & HEIDEMAN, 1959) und beim Pferd bis zum achten Monat andauert (ZIETSCHMANN & KRÖLLING, 1955). Die Schichtung der Dermis des Schweinefetus weist am 72. Tag p.c. ihre typischen Merkmale auf und am 95. Tag p.c. sind alle Anteile der adulten Dermis erkennbar (FOWLER & CALHOUN, 1964; GÖRGEN, 1983). Die Dicke der Dermis nimmt bei Schaf und Rind gleichmäßig zu. Beim Schaf steigt sie bis zum 100. Tag langsam, danach sehr schnell an (DIOMIDOVA, 1954). Grundsätzlich ist die Dermis zum Geburtszeitpunkt an den verschiedenen Körperregionen unterschiedlich stark ausgebildet. Die Lederhaut des Schweines ist zwischen 0,5 mm (im Bereich der Vulva) und 3,5 mm (im Bereich der Schnauze) dick (SMITH & CALHOUN, 1964;

GÖRGEN, 1983). Beim Rinderfetus beträgt die Dermisdicke am 60. Tag p.c. etwa 600 µm, in der Mitte der Trächtigkeit 800 µm und zum Zeitpunkt der Geburt 3000 µm (LYNE & HEIDEMAN, 1959; GÖRGEN, 1983).

Die Entwicklung der Subcutis findet bei den verschiedenen Spezies zu sehr unterschiedlichen Graviditätsstadien statt und steht zeitlich mit der Ausbildung von Fettzellen in den tiefen Hautschichten und der Erkennbarkeit von Haaren und Hautdrüsen in Verbindung (LYNE & HEIDEMAN, 1959). Die Subcutis ist beim Menschen im vierten Fetalmonat von der Dermis abgrenzbar (RAZEK, 1978). Die Ratte, ebenso wie die Maus, lässt erst nach der Geburt einen Panniculus adiposus erkennen (FRASER, 1928; SLEE, 1962; GÖRGEN, 1983), der Pferdefetus nach 18 Wochen (FECHTER, 1914; GÖRGEN, 1983).

### **1.3. Entwicklung der Hautdrüsen**

#### **1.3.1. Die apokrinen Hautdrüsen**

Die zelluläre Grundlage für die Entwicklung der apokrinen Drüsen (Schweiß- und Duftdrüsen) bilden Basalzellen der epithelialen Wurzelscheide. Sie entwickeln sich vor den Talgdrüsen. Ihre Anlagen sind am proximalen Anteil des Haarzapfens beim Pferdefetus etwa in der Mitte (WIMPFHEIMER, 1907) lokalisiert, von wo aus sie als solide Sprosse in das umgebende Mesenchym einwachsen. Beim Menschen bilden sich diese im fünften Fetalmonat aus (MONTAGNA, 1959). Bei Schaf und Ziege zeigen sich die ersten Knospen sobald sich das Ende des Haarzapfens abzufachen beginnt, also am 71. Ontogenesetag am zentralen Primärfollikel und am 79. Tag am lateralen Primärfollikel. Die Sekundärhaarfollikel bleiben dagegen ohne Anlage einer apokrinen Drüse (HARDY & LYNE, 1956). Der Rinderfetus entwickelt ab dem 120. Tag p.c. erste Ansätze von Sprossen, der Schweinefetus ab dem 50. Tag (LYNE & HEIDEMAN, 1959; FOWLER & CALHOUN, 1964; GÖRGEN, 1983). Im Bereich der späteren Subcutis knäueln sich ihre blinden Enden im sechsten Monat der Fetalentwicklung des Menschen auf (SERRI, 1962). Die Drüsenenden liegen bei Schaf, Hund, Katze, Pferd und Schwein letztendlich tiefer als die der Haarfollikel, beim Rind dagegen sind die Drüsenschläuche stets kürzer als diese (HARDY & LYNE, 1956; LYNE & HEIDEMAN, 1959; TAKAGI & TAGAWA, 1959; FOWLER & CALHOUN, 1964; LOVELL & GETTY, 1964; FERNANDO, 1965; GÖRGEN, 1983). Die Kanalisierung der Drüsenanlage erfolgt durch partielle Verhornung und Apoptose der zentral gelegenen Zellen (MONTAGNA, 1974). Dies findet beim menschlichen Fetus im siebten Monat statt (CLARA, 1967), beim Schaf ab dem 95. Tag p.c. (HARDY & LYNE, 1956). Die Drüsen des Pferdefetus sind mit einer SSL von 70 µm vollständig kanalisiert (ZIETSCHMANN & KRÖLLING, 1955). Im weiteren Entwicklungsverlauf entstehen ein einschichtiges Drüsenepithel und eine dieses umgebende Schicht kontraktiler Myoepithelzellen, die sich ebenfalls vom Epithelspross ableiten. Die Myoepithelzellen liegen somit auch innerhalb der Basalmembran. Der ursprüngliche ontogenetische Zusammenhang der apokrinen Drüsen mit den Haaranlagen geht später oft verloren, so dass ihre Mündungen dann frei auf der Hautoberfläche zu finden sind. Allerdings ist das Verteilungsmuster dieser einzeln stehenden, apokrinen

Drüsenöffnungen keineswegs regellos, sondern zeigt eine bestimmte Anordnung um die Haare (CLARA, 1967). An haarlosen Körperregionen treten außerdem freie Mündungen von Schweißdrüsen auf, die sich primär ohne Zusammenhang mit der Haarentwicklung gebildet haben (Ballen, Flotzmaul, Nasenspiegel, Rüsselscheibe) (HABERMEHL, 2005; RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

### **1.3.2. Die ekkrinen Hautdrüsen**

Die ekkrinen Drüsen der Haut entwickeln sich bei den Haussäugetieren im Gegensatz zu den apokrinen nicht aus den Haaranlagen, sondern unmittelbar aus der Basallage der Epidermis, von wo aus sie ähnlich wie die apokrinen Drüsen in das Mesenchym einwachsen. Auch sie enthalten in ihren Endstücken sowohl kontraktile, myoepitheliale Zellen als auch sezernierende Drüsenzellen. Die ekkrinen Drüsen der Haut treten vor allem an nicht behaarten Körperstellen auf (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

### **1.3.3. Die Talgdrüsen**

Die zelluläre Grundlage für die Talgdrüsenentwicklung wird, mit Ausnahme der Tarsaldrüsen und der Präputialdrüsen, die ohne Zusammenhang mit der Haaranlage entstehen, von der äußeren epithelialen Wurzelscheide gebildet. Unterhalb der apokrinen Drüsen wächst von dieser Grundlage ein solides säckchenförmiges Gebilde, welches sich im weiteren Verlauf zu alveolären Endstücken und schlauchförmigen Ausführungsgängen weiterentwickelt. Die ersten Anlagen entstehen beim Menschen am Kopf im Alter von 3,5 Monaten, am übrigen Körper im Alter von viereinhalb Monaten (SERRI, 1962; MONTAGNA & PARAKKAL, 1974; GÖRGEN, 1983), bei Schaf und Ziege zwischen dem 80. und 90. Ontogenesetag (HARDY & LYNE, 1956). Sie sind bei den kleinen Wiederkäuern am 97. Tag an den Primärfollikeln bereits gut entwickelt, während sie zu diesem Zeitpunkt an den Sekundärfollikeln erst angelegt werden und noch später an den verzweigten Sekundärfollikeln zu finden sind (HARDY & LYNE, 1956). Das Rind zeigt spätestens zum 140. Ontogenesetag eine Drüsenanlage an den Primärfollikeln (LYNE & HEIDEMAN, 1959), das Schwein zum 70. Tag (FOWLER & CALHOUN, 1964). Die Talgdrüsenentwicklung der Maus beginnt zwar schon früh im Stadium des Haarzapfens als kleine Anschwellung an dessen Seite, doch findet eine Differenzierung dieser Anschwellung in Talgdrüsenanlage und darunter gelegenen Wulst erst zum Zeitpunkt der Geburt statt. Völlig ausgereift ist die Talgdrüse der Maus erst nach der zweiten Haargeneration (CALEF, 1900; CHASE, 1954; GÖRGEN, 1983). Bei der Ratte tritt die erste Anschwellung der Talgdrüsenanlage erst am 21. Ontogenesetag auf, wenn die Haarscheiden schon ausgebildet sind. Die Weiterentwicklung findet erst postnatal statt (FRASER, 1928; DANEEL, 1931). Die zentral gelegenen Zellen der Alveolen degenerieren später und gehen unter holokriner Sekretion zugrunde. Hierbei wird das freigesetzte Sekret, der Talg (Sebum), in den Haarfollikel abgegeben und gelangt auf diesem Wege zur Hautoberfläche. Dieser Vorgang findet bei den verschiedenen Spezies zu ganz unterschiedlichen Zeitpunkten statt. Während die Sekretionstätigkeit bei Hund, Katze und Mensch schon vor der Geburt beginnt, findet sie bei Ratte und Maus erst postnatal statt (FRASER, 1928; FERNANDO, 1965; RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Beim Menschen bildet das Sekret zusammen mit abgeschilferten Zellen der Epidermis eine weißlich schmierige Masse, die sogenannte

Fruchtschmiere (Vernix caseosa). Diese erfüllt eine Schutzfunktion für die Haut gegenüber der Amnionflüssigkeit und verhindert Wärmeverluste. Außerdem ist sie wesentlicher Bestandteil des Mekoniums (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

#### **1.4. Entwicklung der Haare**

Grundsätzlich findet die Anlage der ersten Haare zum Zeitpunkt der Dreischichtung der Epidermis statt (RÜSSE & SINOWATZ, 2008)

HARDY & Lyne (1956) teilen die Haarentwicklung in acht verschiedene Stadien ein. LYNE & HEIDEMAN (1959) ergänzen diese durch zwei weitere Stadien, womit der Haarzyklus vervollständigt wird.

Die erste Anlage von Haarfollikel der normalen Körperbehaarung findet beim Rind zwischen dem 77. und dem 168. Ontogenesetag statt.

Es wird beim Rind zwischen vier Haartypen unterschieden:

- Sinushaare, welche noch vor den ersten Follikeln der Körperbehaarung in Erscheinung treten,
- zuerst gebildete Haarfollikel,
- später gebildete Haarfollikel, die sich wiederum in solitär und paarweise angeordnete Haarfollikel differenzieren lassen und die
- zuletzt gebildeten Haarfollikeln.

Die Sinushaare besitzen im Gegensatz zu den übrigen Haarfollikeln Blutsinus, die durch das Zusammenfließen kleinerer Blutgefäße zwischen der inneren und äußeren Schicht des bindegewebigen Haarbalges entstehen. Beim Pflanzenfresser entsteht durch bindegewebige Septen zwischen den blutgefüllten Hohlräumen der sogenannte kavernöse Typ des Sinushaares. Im Gegensatz dazu ist beim Fleischfresser wegen einer fehlenden Gliederung durch Bindegewebssepten im oberflächennahen Anschnitt der sogenannte sinusoide Typ des Sinushaares zu finden. Der Durchbruch der Sinushaare findet beim Rind im vierten Monat p.c. statt (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

Die folgende Beschreibung der Haarentwicklung stellt die Bildung der beim Rind zuerst gebildeten Körperbehaarung dar:

- Im ersten Stadium bildet sich der aus epidermalen Zellen bestehende Haarzapfen, der in das darunterliegende Mesenchym einwächst. Seine äußere Schicht wird von hochprismatischen Zellen gebildet, die zentral liegenden Zellen sind dagegen unregelmäßig geformte Füllzellen (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Zunächst ist der Durchmesser des Haarzapfens größer als seine Länge (Stadium 1a), danach kehrt sich das Verhältnis um (Stadium 1b) (LYNE & HEIDEMAN, 1959).

Während des Längenwachstums des Haarzapfens in einem bestimmten Winkel zur epidermalen Oberfläche wird auch die spätere Ausrichtung der Haare festgelegt (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

-Das zweite Stadium beinhaltet die Bildung der Präpapille. Diese findet statt, wenn sich die Basis des Haarzapfens abzufachen beginnt. Meist ist seine Länge zu diesem Zeitpunkt circa doppelt so groß wie sein Durchmesser. Kurz nach der Abflachung tritt die Anlage der Schweißdrüse am oberen Ende des Haarzapfens als solide Knospe in Erscheinung (Stadium 2a). Später werden der erste Ansatz des *M. arrector pili* in der Dermis und eine Anschwellung im mittleren Bereich der Haarzapfenwand erkennbar. Unmittelbar unter dem Mündungspunkt der Schweißdrüse bildet sich die Talgdrüsenanlage (Stadium 2b). Die zelluläre Grundlage für die Anlage der Hautdrüsen und die Ansatzstelle des *Musculus arrector pili* bieten lokale Zellproliferationen der äußeren Zellschicht des Bulbuszapfens (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Außerdem differenziert sich in diesem Stadium der epidermale Anteil des Haarkanals (LYNE & HEIDEMAN, 1959).

-Im dritten Entwicklungsstadium bildet sich die dermale Papille. Dies geht mit einer Verdichtung des Mesenchyms vor der sich allmählich konkav formenden Basis des Haarzapfens einher (RÜSSE & SINOWATZ, 2008). Die Länge der Papille ist zunächst kleiner als ihr Durchmesser. Die Haarzapfenbasis differenziert sich in diesem Stadium (Stadium 3a) zum sogenannten Bulbuszapfen. Seine über der mesenchymalen Papille liegenden Zellen bilden die Matrix für das wachsende Haar. Der *Musculus arrector pili* zieht nun vom oberen Bereich der Dermis bis zur mittlerweile recht prominent gewordenen Anschwellung des Haarzapfens. Der Haarkanal bildet sich zuerst im oberen Bereich der Haarzapfens durch Keratinisierung epithelialer Zellen und Einwanderung und Degeneration von Zellen der Talgdrüsenanlage. Zu diesem Zeitpunkt lässt die Schweißdrüsenanlage ein schmales Lumen erkennen. Das Stadium 3b ist gekennzeichnet durch ein nahezu ausgeglichenes Verhältnis von der Papilllänge zu ihrem Durchmesser. Der epidermale Anteil des Haarkanals krümmt sich, so dass er nahezu parallel zur Hautoberfläche liegt. Weiterhin erreicht die Anschwellung im Bereich des Ansatzes des *M. arrector pili* ihre maximale Größe (LYNE & HEIDEMAN, 1959).

-Das vierte Stadium zeichnet sich dadurch aus, dass die Anschwellung am Ansatz des *M. arrector pili* im Vergleich zum Stadium 3b etwas weniger prominent erscheint (LYNE & HEIDEMAN, 1959). Der Haarkegel beginnt sich aus den radiär liegenden Zellen des Bulbuszapfens zu bilden. Dabei werden die zentral liegenden Füllzellen verdrängt und der Haarkegel wächst nach oben (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

-In Stadium fünf beginnt sich im Haarkegel die Haarrinde, die Haarkutikula und die Huxley-Schicht auszubilden. Das Stadium fünf der anderen Haussäugetierarten unterscheidet sich insofern von dem des Rindes, als bei ihnen bereits ein keratinisiertes Haar erkennbar ist, welches bis zur Höhe der Talgdrüsenmündung reicht (LYNE & HEIDEMAN, 1959).

-Das sechste Stadium beinhaltet die Haarbildung. Nun lässt sich auch beim Rind auf Höhe der Talgdrüsenmündung die Spitze eines keratinisierten Haares im Haarkegel erkennen (LYNE & HEIDEMAN, 1959). Jetzt sind alle Schichten des Follikels erkennbar. Zusätzlich zu Haarrinde, Haarkutikula und Huxley-Schicht erscheinen die Scheidenkutikula und die Henle-Schicht als weitere Bestandteile der epithelialen Wurzelscheide, welche sich aus der den Haarkegel umgebenden äußeren

Zellschicht des Bulbuszapfens bildet, sowie die dermale Wurzelscheide, deren Grundlage eine Verdichtung des Mesenchyms ist (LYNE & HEIDEMAN, 1959; RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

-Das Stadium sieben ist erreicht, wenn die Spitze des jungen Haares den Haarkanal zu passieren beginnt (LYNE & HEIDEMAN, 1959). Das Haarwachstum liegt in der Proliferation der Matrixzellen über der Haarpapille begründet, welche zu einem Vorschub des Haares in Richtung Epidermisoberfläche führt (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

-Im achten Stadium flacht sich die Anschwellung an der Außenseite des Haarfollikels etwas ab.

-Das neunte Stadium kennzeichnet das Erreichen der maximalen Länge des Haarfollikels. Ein weiteres Längenwachstum findet ab diesem Zeitpunkt nicht mehr statt.

-Das zehnte Stadium lässt eine Unterteilung in drei Unterstadien unterscheiden.

Zunächst zeigt der Follikel erste Anzeichen von sich einstellender Aktivität. Die Haarzwiebel kontrahiert und auch das umliegende Gewebe zieht sich unter Fältchenbildung zusammen. Damit ist das Stadium 10a erreicht. Im Stadium 10b bildet sich das Kolbenhaar. Sein Ende erscheint büstenartig ausgefranst. Das Kolbenhaar keratinisiert vollständig (Stadium 10c).

Während des Ablaufs der drei Unterstadien stellt sich außerdem die Bildung des Haarmarks ein und auch die Haarkutikula und die innere Wurzelscheide werden nicht mehr ausgebildet. Der Follikel verliert an Länge und die dermale Papille ebenso wie die Haarzwiebel degenerieren (LYNE & HEIDEMAN, 1959).

Später gebildete Haarfollikel treten teils einzeln, teils paarweise auf.

Die einzeln angeordneten Follikel zeigen grundsätzlich den gleichen Entwicklungsablauf wie die zuerst auftretenden, jedoch ist nur bei den größeren ihrer Art eine Wulstbildung erkennbar und sie bleiben kleiner als die früh gebildeten Follikel.

Die Entwicklung der paarweise angeordneten Haarfollikel unterscheidet sich insofern von der der anderen, als sich zwei, manchmal drei Follikel in unmittelbarer Nähe zueinander bilden, welche sich einen Haarkanal teilen. Die Follikel haben unterschiedliche Größen. Der kleinere bildet sich zeitlich nach dem größeren, wenn dieser das Stadium 2a durchschritten hat, und liegt für gewöhnlich auf seiner der Epidermis zugewandten Seite. Meist besitzt nur der große Haarfollikel einen Musculus arrector pili. Ein Wulst kommt, wenn überhaupt, dann nur bei der stärker ausgeprägten Haaranlage vor. Die Schweiß- und Talgdrüsen hingegen bilden beide Haarfollikel selbständig aus.

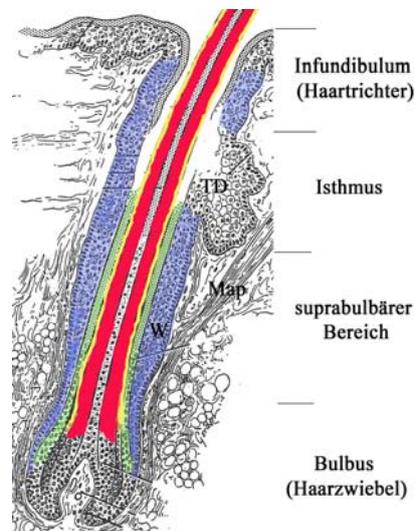
Wenn der größere Follikel die Stadien 3b und 4 erreicht hat, befindet sich der kleinere jeweils im Stadium 2a und 3b. Bevor der kleine das Stadium 4b erreicht hat, kann sich der große Haarfollikel bereits im Stadium 10b befinden. Oft bleibt der kleinere Follikel dauerhaft zurück und stellt dann einen verkümmerte Anlage dar. Wenn beide Anlagen Haare hervorbringen, so ist das des kleineren Follikels stets dünner als das des größeren.

Der dritte Follikeltyp sind die zuletzt gebildeten Haarfollikel. In diese Kategorie können solitär und paarweise stehende Follikel fallen. Sie entwickeln sich wie beim zweiten Typ beschrieben und weisen keinen Wulst auf.

Bei den Haussäugetieren findet im Gegensatz zum Menschen (Lanugohaare in der Vernix caesosa) kein intrauteriner Haarwechsel statt (RÜSSE & SINOWATZ, 2008).

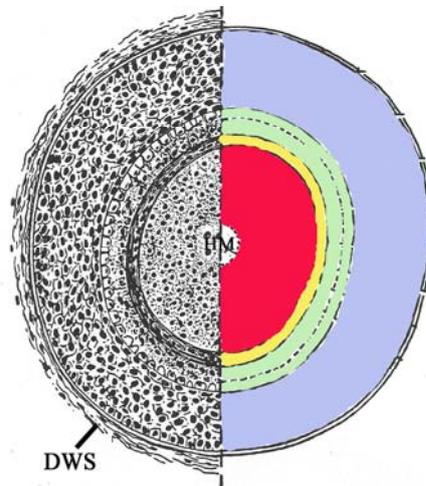
Eine Übersicht über die Bestandteile des sich in der Wachstumsphase (Anagen) befindenden Haarfollikels der adulten Haut und über Lagebezeichnungen am Haarfollikel (GENESER, 1990; SINOWATZ, 2006), wie sie auch in der Beschreibung der Ergebnisse meiner Untersuchungen verwendet werden, bieten Abbildung 4 und Abbildung 5.

#### Abbildung 4: Übersicht über einen längsgeschnittenen Haarfollikel im Anagen



Im Längsanschnitt durch den Haarfollikel können vier Bereiche mit unterschiedlichem Abstand zur Epidermis unterschieden werden: Infundibulum (Haartrichter), Isthmus, suprabulbärer Bereich und der Bulbus (Haarzwiebel). Zentral im Haarschaft befindet sich das Haarmark. Nach außen schließen sich Haarrinde (rot) und Haarkutikula (gelb) als weitere Anteile des Haares an. Die epitheliale Haarwurzelscheide wird von der inneren Haarwurzelscheide (grün) und der äußeren Haarwurzelscheide (blau) zusammengesetzt. W: Wulstregion, TD: Talgdrüse, Map: Musculus arrector pili. Modifiziert nach HAM (1974) und GENESER (1990)

**Abbildung 5: Übersicht über einen querschnittenen Haarfollikel im Anagen auf Höhe des suprabulbären Bereiches**



Im Querschnitt durch den Haarfollikel im Anagen, auf Höhe des suprabulbären Bereiches, lassen sich die drei Bestandteile des Haarschaftes unterscheiden: das Haarmark (HM), die Haarrinde (rot) sowie die Haarkutikula (gelb). Die Anteile der epithelialen Haarwurzelscheide sind zum einen die innere Haarwurzelscheide (grün) mit einem inneren (Huxley-Schicht) und einem äußeren Anteil (Henle-Schicht) sowie die äußere Haarwurzelscheide (blau). Umgeben wird der epitheliale Bereich des Haarfollikels von einer dermalen Haarwurzelscheide (DWS). Modifiziert nach GARVEN (1957) und GENESER (1990)

## 2. Haarzyklus

Im Haarzyklus sind drei bzw. vier Phasen anzutreffen:

- Anagen: Wachstumsphase
- Katagen: Regressionsphase
- Telogen: Ruhephase
- (Exogen: Ausfall des Kolbenhaares (tritt nicht in jedem Haarzyklus auf))

### 2.1. Anagen

In der Anagen-Phase produziert der Follikel einen kompletten Haarschaft. Die Länge dieser Phase bestimmt somit auch die Länge des Haares. Es findet dabei eine starke Proliferation in der Bulbusregion statt (ALONSO & FUCHS, 2006). Beim Menschen haben proliferierenden Matrixzellen eine Zellzykluslänge von 18 Stunden (LAVKER et al., 2003). Die Tochterzellen schieben sich in Richtung der epidermalen Oberfläche und bilden von außen nach innen die Henle-Schicht, die Huxley-Schicht und die Kutikula der äußeren Haarwurzelscheide, ebenso wie die Haarkutikula, die Rindenschicht und die Markscheide (ALONSO & FUCHS, 2006). Die Zellen des Haarschaftes differenzieren sich schließlich, stoßen ihre Zellorganellen aus und werden durch Filamentbündel, die aus Cystein-reichen Haarkeratinen bestehen, dicht vernetzt. Diese Vernetzung führt zu einer hohen physikalischen Stabilität und Flexibilität des Haarschaftes. Im Gegensatz dazu führt die Keratinisierung bei der inneren Haarscheide zu einem starren Verband, der als Leitstruktur für den

flexiblen Haarschaft fungiert. Die Zellen des inneren Haarschaftes degenerieren schließlich im oberen Teil des Follikels und geben somit den Haarschaft im oberflächlichen Bereich der Epidermis frei.

## **2.2. Anagen–Katagen–Übergang**

Die Proliferationsrate der Matrixzellen, die für das Längenwachstum des Haarschaftes und der inneren Haarscheide verantwortlich sind, beginnt sich zu verlangsamen. Der Zeitpunkt des ersten Katagen-Stadiums differiert zwischen den verschiedenen Körperregionen signifikant. Der Beginn des Katagen breitet sich bei der Maus vom oberen Kopfbereich in Richtung Rumpffende und von dorsal nach ventral aus.

## **2.3. Katagen**

Im Katagen findet eine Regression der epithelialen Zellen der Bulbusregion und der äußeren epithelialen Wurzelscheide statt. Durch Apoptose bildet sich der untere Bereich des Haarschaftes zum Kolben um. Der Schaft wandert Richtung Epidermisoberfläche bis der Kolben den permanenten Teil des Haarfollikels erreicht hat. Nun bleibt das Kolbenhaar an dieser Lokalisation während des folgenden Telogens verankert. Es bildet sich zwischen dem kolbenförmigen Ende des Haarschaftes und der dermalen Papille eine für das Katagen typische fadenförmige Struktur aus, welche sich im Wesentlichen aus apoptotischen Zellen zusammensetzt.

## **2.4. Telogen**

Das Telogen stellt die Ruhephase des Follikels dar. Es findet keine Zellproliferation statt. Bei der Maus dauert das erste Telogen nur ein bis zwei Tage, während sich das zweite über ca. zwei Wochen erstreckt.

## **2.5. Telogen–Anagen–Übergang**

Wenn ein oder zwei Stammzellen der basalen Region des Haarfollikels nahe der dermalen Papille zur Proliferation angeregt werden, beginnt die Produktion eines neuen Haarschaftes (BLANPAIN et al., 2004; TUMBAR et al., 2004). Der neue Follikel formt sich unmittelbar neben dem Kolbenhaar und wächst von dort aus erneut in die Tiefe. In diesem Stadium kann es zum Ausfall des Kolbenhaares kommen (Exogen). Dies geschieht jedoch nicht in jedem Haarzyklus (ALONSO & FUCHS, 2006).

### 3. Epitheliale Stammzellen

Die Epidermis, ebenso wie die Haarfollikel, sind äußerst dynamische Strukturen, die einer ständigen Veränderung unterliegen. Im Unterschied zur Epidermis, die sich fortlaufend regeneriert, unterliegen die Haarfollikel komplexeren Veränderungen, die während dem Haarzyklus ablaufen. Aber nicht nur diese beständigen Regenerationsvorgänge benötigen ihre „Quellen“ in Form epithelialer Stammzellen, sondern auch im Falle einer Verletzung der Haut ist eine schnelle Regenerationsfähigkeit unabdingbar, um die Schutzfunktion der Haut wieder herzustellen (FUCHS, 2008; JAKS et al., 2010).

#### 3.1. Eigenschaften epithelialer Stammzellen

Epitheliale Stammzellen lassen sich, so wie die Stammzellen anderer Gewebe, von weiter differenzierten Zelltypen durch verschiedene Besonderheiten unterscheiden. Es handelt sich bei den Stammzellen um Zellen mit einem langsamen Zellzyklus und hoher proliferativer Kapazität (LAVKER et al., 2003; JAKS et al., 2010).

Zum Nachweis epithelialer Stammzellen wird von der Eigenschaft des langsamen Zellzyklus in Form von Markern Gebrauch gemacht. Als Marker dient hierbei zum Beispiel dreiwertiges Thymidin oder Bromodeoxyuridin. Nach einer Wartezeit zwischen vier bis acht Wochen haben nur die sich langsam teilenden Zellen noch ihre Markierung beibehalten (LAVKER et al., 2003). Die Zellen mit hoher Zellteilungsrate hingegen haben inzwischen durch die Teilungen ihre Markierung weitestgehend verloren und werden als „transit-amplifying cells“ bezeichnet. Durch die Eigenschaft der Stammzellen bei dieser Nachweismethode ihren Marker nicht zu verlieren, werden sie auch „label-retaining cells (LRCs)“ genannt (BICKENBACH & HOLBROOK, 1987; OHYAMA, 2007; JAKS et al., 2010)

In Zellkulturen von Keratinozyten lässt sich die proliferative Kapazität der unterschiedlichen Zelltypen darstellen. Anhand der von den einzelnen Zellen gebildeten klonalen Kolonien lassen sich drei klonale Typen unterscheiden. Der Holoklon ist der Typ mit der höchsten proliferativen Kapazität, der Paraklon hingegen enthält ausschließlich Zellen, die nach wenigen Zellteilungen einer terminalen Differenzierung unterliegen und der dritte Kolonietyp, der Meroklon, welcher seinen Eigenschaften nach zwischen Holoklon und Paraklon einzuordnen ist (BARRANDON & GREEN, 1987). Die Vermutung, dass epitheliale Stammzellen die Vorläuferzellen der Holoklone sind, ist naheliegend, ebenso, dass „transit-amplifying-cells“ die Grundlage für die Bildung der Paraklone bilden. Eine Klassifizierung der Vorläuferzellen der Meroklone ist schwieriger, jedoch könnten Stammzellen, welche mit einer höheren Frequenz „transit-amplifying-cells“ als Tochterzellen hervorbringen, als dies bei Holoklonen der Fall ist, als Vorläuferzellen dienen (LAJTHA, 1979; BARRANDON & GREEN, 1987; JONES & WATT, 1993).

Auch bei der ultrastrukturellen Betrachtung unterscheiden sich die epithelialen Stammzellen durch morphologische Zeichen der Undifferenziertheit (AKIYAMA et al., 2000). So sind fast keine membranbegrenzten zytoplasmatischen Zellorganellen, jedoch reichlich freie Ribosomen und Glykogenpartikel erkennbar (AKIYAMA et al., 1995). Es sind lediglich kleine Bündel von

Keratinfilamenten im Zytoplasma sichtbar und die Anzahl der Mitochondrien ist relativ gering. Größere Bündel von Keratinfilamenten, welche für ein höheres Stadium der Differenzierung sprechen würden, sind nicht zu beobachten (COTSARELIS et al., 1990).

### **3.2. Stammzellnischen in Epidermis und Haarfollikel**

Im Verlauf der letzten 15 Jahre wurden die Einblicke in die verschiedenen Bereiche der epithelialen Stammzellen erheblich vertieft und es arbeiten weiterhin zahlreiche Arbeitsgruppen vor allem an humanem und murinem Gewebe daran, die verschiedenen Stammzellnischen zu definieren und zu charakterisieren. In neuester Zeit geht man von drei Nischen innerhalb der epidermalen Anteile der Haut aus. Zum einen beinhaltet die Epidermis im Stratum basale solche Stammzellen, die als Pool für die Regeneration der Epidermis dient. Zum anderen gilt der im fetalen Haarfollikel als Haarwulst („bulge“) und im adulten, bzw. nach dem ersten Haarzyklus als Haarbeet bezeichnete Bereich (STÖHR, 1903), etwa auf mittlerer Höhe der Haaranlage, als Stammzellreservoir (JAKS et al., 2010). Er gehört zur äußeren Haarwurzelscheide und bietet dem Musculus arrector pili Ansatz (COTSARELIS et al., 1990). Aus den Stammzellen dieser Region gehen, Untersuchungen an adulten murinen Haarfollikeln zufolge, zum einen die Zellen der äußeren Haarwurzelscheide, zum anderen die Zellen der Haarmatrix hervor. Aus den Zellen der Haarmatrix entstammt der Haarschaft mit Cuticula, Cortex und Medulla und die innere Haarwurzelscheide mit der Henle- und Huxley-Schicht. Eine dritte Stammzellnische ist im Talgdrüsenbereich oberhalb des Haarwulstes lokalisiert. Sie enthält die Stammzellen, die die Sebozyten ersetzen, die durch holokrine Sekretion verloren gehen (WATT & JENSEN, 2009). Diese verschiedenen Regionen in den epidermalen Anteilen der Haut sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, deren Ergebnisse teilweise auch neue Stammzellregionen im Bereich des Haarfollikels definieren.

### 3.3. Immunhistochemische Untersuchungen der Epidermis im Bezug auf epitheliale Stammzellen

Für die verschiedenen Stammzellnischen werden besonders für murines und humanes Gewebe verschiedene immunhistochemische Marker angegeben, die sich speziesspezifisch unterscheiden. Durch Identifikation verschiedener Markermoleküle, die für epitheliale Stammzellen typisch sind, wurden Untersuchungen zur Lokalisation dieser Zellen durchgeführt. Epitheliale Stammzellen gelten als reich an  $\alpha 2\beta 1$ - und  $\alpha 3\beta 1$ -Integrin und arm an E-Cadherin,  $\beta$ -Catenin und  $\alpha$ -Catenin (MOLES & WATT, 1997; WATT, 1998; AKIYAMA et al., 2000).

Für murine Stammzellen im Stratum basale der Epidermis wird in der Literatur  $\beta 1$ -Integrin,  $\alpha 6$ -Integrin und Keratin 15 angegeben (BRAUN et al., 2003). Beim Menschen fanden sich ebenfalls Zellen im Stratum basale, die für diese Marker positiv sind (LEGG et al., 2003).

Als spezielle Marker für den Haarwulst werden im murinen Gewebe Keratin 15 (BRAUN et al., 2003), Keratin 19 (MICHEL et al., 1996), CD 34 (KOSTER et al., 2005) und Lhx2 (RHEE et al., 2006) angegeben. In menschlicher Haut ist ebenfalls Keratin 15 im Haarwulst nachweisbar (LYLE et al., 1998; KLOEPPER et al., 2008; HOANG et al., 2009), allerdings kommt es ebenfalls in der äußeren Haarwurzelscheide, dem Stratum basale und den ekkrinen Schweißdrüsen vor. Auch Keratin 19 zeigt dieses Expressionsmuster (KLOEPPER et al., 2008). Der Nachweis von CD34 wird dagegen von den meisten Autoren als negativ oder sehr niedrig exprimiert im humanen Haarwulst beschrieben (COTSARELIS, 2006a; KLOEPPER et al., 2008).

Histochemische Marker für eine erst vor wenigen Jahren entdeckte Stammzellnische im Bereich zwischen Haarwulst und Schweißdrüsenausführungsgang sind bei der Maus zum einen MTS24-positiv, zum anderen CD34- und Keratin 15-negativ (NIJHOF et al., 2006). In diesem Zusammenhang sind Studien sehr interessant, die in diesem Bereich Nestin-positive und Keratin 15-negative multipotente Stammzellen beschreiben (AMOH et al., 2009a; AMOH et al., 2009b). Allerdings wurden in jüngster Zeit auch im Haarwulst Nestin-positive Zellen entdeckt (YU et al., 2006; KREJCI & GRIM, 2010). Ein weiterer wichtiger Marker für diese Stammzellregion ist Lgr6 (SNIPPERT et al., 2010).

### III. MATERIAL UND METHODEN

#### 1. Verwendetes Probenmaterial

Die Proben für die Untersuchungen dieser Arbeit wurden Rinderfeten entnommen, deren Scheitel-Steiß-Länge (SSL) sich auf 8,5 cm bis 95,0 cm beliefen. Anhand der Messung dieser fetalen Größe ist nach RÜSSE & SINOWATZ (2008) eine Zuordnung zu einem Graviditätsstadium möglich. Weiterhin standen Proben von 3 Kälbern und drei adulten Rindern zur Verfügung. Zumeist waren die Muttertiere der verwendeten Feten ebenso wie die Kälber und zwei der adulten Tiere der Rasse Fleckvieh zugehörig. Ansonsten handelte es sich um Holstein-Rinder (Tabelle 2). Das Geschlecht wurde jeweils anhand des äußeren Genitales bestimmt. Die Kälber stammten aus der Klinik für Wiederkäuer der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München in Oberschleißheim. Alle anderen Proben wurden im Schlachthof München gewonnen.

**Tabelle 1: Übersicht über die Umrechnungsmöglichkeit von der gemessenen Scheitel-Steiß-Länge zum Graviditätsstadium, nach RÜSSE & SINOWATZ (2008)**

Graviditätsstadium	Scheitel-Steiß-Länge in cm
1. Monat	0,8-1,25 cm
2. Monat	1,9-7,6 cm
3. Monat	8,9-15,5 cm
4. Monat	17,2-26 cm
5. Monat	26,7-35,6 cm
6. Monat	38,1-48,8 cm
7. Monat	46,5-62,2 cm
8. Monat	71,7-76,7 cm
9. Monat	87,0-105 cm

**Tabelle 2: Übersicht über die untersuchten Feten, Kälber und adulten Tiere**

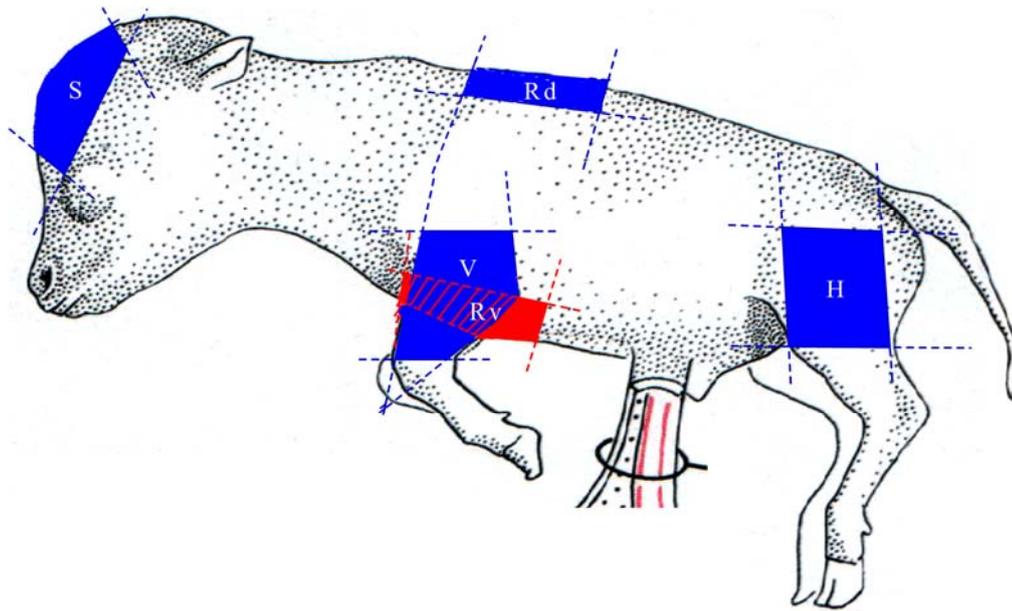
Gruppe	SSL (cm) bzw. Alter	Geschlecht	Rasse
Feten	8,5	m	FV
	10,5	w	FV
	11,0	w	FV
	12,8	w	FV
	13,7	m	FV
	14,5	w	FV
	15,3	w	FV
	15,7	w	FV
	17,0	w	FV
	21,0	w	FV
	23,8	w	FV
	25,5	m	FV
	27,8	w	FV
	29,0	w	FV
	31,5	m	FV
	34,0	w	FV
	34,5	m	SB
	37,3	m	FV
	41,4	m	FV
	44,0	w	FV
	44,8	w	SB
	49,0	m	FV
	57,6	w	FV
	58,0	m	SB
	63,0	m	FV
	64,8	m	FV
67,8	m	SB	
80,5	m	FV	
94,5	w	FV	
95,0	w	FV	
Kälber	2 Tage (76,5)	w	FV
	7 Tage (91,5)	w	FV
	9 Tage (86,0)	m	FV
Adulte Tiere	20 Monate	m	FV
	54 Monate	w	FV
	60 Monate	w	SB

**SSL (Scheitel- Steiß- Länge) bzw. Alter:** Feten: SSL, Kälber: Alter (SSL), Adulte Tiere: Alter; **Rasse:** bei Feten die Rasse des Muttertieres, FV: Fleckvieh, SB: Schwarzbunt; **Geschlecht:** w: weiblich, m: männlich

## 2. Gewinnung der Feten und Präparation der Hautproben

Zwecks Gewinnung der Feten wurden die Uteri der geschlachteten Kühe optisch und palpatorisch auf die Anwesenheit einer oder mehrerer Früchte untersucht. Die Entnahme erfolgte anschließend, indem das jeweilige Uterushorn durch einen lateralen Messerschnitt eröffnet, die Frucht von ihren Hüllen befreit und hiernach die Nabelschnur durchtrennt wurde. Dieser Vorgang fand spätestens eine halbe Stunde nach der Schlachtung des Muttertieres statt. Die Präparation der Feten erfolgte nachdem durch Palpation der Herzregion von einem Herzstillstand ausgegangen werden konnte und die Hautoberfläche mit Leitungswasser abgespült worden war. Zunächst wurde die SSL mit Hilfe eines Maßbandes bestimmt. An fünf Hautarealen (Scheitel, Rumpf dorsal, Rumpf ventral, Vordergliedmaße, Hintergliedmaße) fand nun die Gewinnung der Hautproben statt (Abbildung 6). Die Größe der Hautproben war abhängig von der Größe des Feten, da hierzu für jede der fünf Regionen bestimmte anatomische Strukturen als Orientierung zur Begrenzung der jeweiligen Hautareale bestimmt wurden (Tabelle 3). Die Proben der Gliedmaßenregionen wurden bilateral entnommen, um vor allem bei kleinen Feten ausreichen Probenmaterial für alle Fixanzen zu erhalten. Mit einem Skalpell wurde rechteckförmig die Haut eingeschnitten. Mit einer atraumatischen Pinzette wurde nun die Haut an einer Ecke des entstandenen Rechteckes vorsichtig angehoben und unter Vermeidung von Zug horizontal zur Körperoberfläche möglichst tief im Mesenchym beziehungsweise in der Subcutis mit dem Skalpell abgelöst. Die Probenentnahme bei den Kälbern entsprach der Verfahrensweise bei den Feten. Das zwei Tage alte Kalb wurde 24 Stunden nach der Euthanasie (Indikation unbekannt) tiefgefroren (-18C°) und 48 Stunden später wieder aufgetaut. Das sieben Tage alte Kalb wurde ebenfalls 24 Stunden nach dem Todeseintritt (Durchfallerkrankung mit letalem Ausgang) tiefgefroren (-18C°) und vier Wochen später aufgetaut. Die Tierkörper standen jeweils erst nach dem Auftauen für die Probenentnahme zur Verfügung. Die Proben des neun Tage alten Kalbes wurden sechs Stunden nach Eintritt des Todes (ebenfalls Durchfallerkrankung mit letalem Ausgang) entnommen. Die von den adulten Tieren stammenden Proben wurden ausschließlich an der Vordergliedmaße und spätestens 20 Minuten nach der Schlachtung entnommen.

**Abbildung 6: Darstellung der Probenentnahmestellen am Rinderfetus, modifiziert nach (RÜSSE & SINOWATZ, 2008)**



**Bezeichnung der Probenentnahmestellen:** S: Scheitel, Rd: Rumpf dorsal, Rv: Rumpf ventral, V: Vordergliedmaße, H: Hintergliedmaße; **gestrichelte Linien:** leichtere Erkennung der Grenzpunkte, die für die Hautareale gewählt wurden (siehe Tabelle 3); **rote bzw. rot-schraffierte Fläche:** Darstellung des Hautareals Rumpf ventral, da es sich mit dem Areal Vordergliedmaße auf dieser Abbildung überlappt

**Tabelle 3: Anatomische Strukturen als Grenzpunkte für die Probenentnahmestellen**

	Begrenzung kranial/rostral	Begrenzung kaudal	Begrenzung ventral/lateral/distal	Begrenzung dorsal/proximal
Scheitel	Tve durch Mitte der Orbita	Tve durch Hornanlage/ bei kleineren Feten durch Ohransatz	Sge durch Hornanlage/ bei kleineren Feten durch Ohransatz	
Rumpf dorsal	Tve durch kraniale Begrenzung der Skapula	Tve durch kaudales Ende des Sternums	Hze durch dorsale Begrenzung der Skapula	
Rumpf ventral	Tve durch dorsale Fläche der Vordergliedmaße	Tve durch kaudales Ende des Sternums	Hze durch Olekranon	
Vorderglied- maße	Tve durch dorsale Fläche der Vordergliedmaße	Tve durch plantare Fläche der Vordergliedmaße	Hze durch Karpalgelenk	Hze durch oberes Drittel des Humerus
Hintergliedmaße	Tve durch Kniegelenk	Tve durch kaudales Ende des Kreuzbeins	Hze durch Kniegelenk	Hze durch Sitzbeinhöcker

**Begrenzungsebenen:** Tve: Transversalebene, Sge: Sagittalebene, Hze: Horizontalebene

### **3. Entnahme und Fixierung der Hautproben**

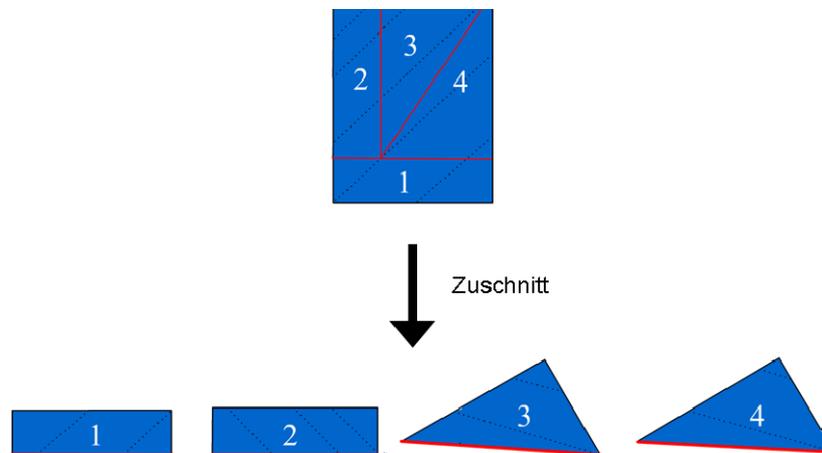
Die so gewonnenen Hautproben wurden nun jeweils zerteilt. Zunächst wurde von der Probe des dorsalen Rumpfes ein  $3 \times 3 \text{ mm}^2$  großes Stück mit Hilfe des Skalpells zugeschnitten und in RNAlater eingebracht. Die weitere Zerteilung der Proben war bei allen fünf Hautarealen gleich. Es fand nun der Zuschnitt für die Fixierlösung nach Karnovsky statt. Hierfür wurden zwei  $3 \times 3 \text{ mm}^2$  große Stücke entnommen und fixiert. Der Rest der Probe wurde dann in zwei gleich große Stücke geteilt. Eines der beiden wurde in Bouin-Lösung gegeben, das zweite in Formol fixiert. Die Größe der in Bouin-Lösung und in Formol fixierten Proben hing von der Größe des Feten ab. Die Fläche des jeweiligen Körperareals wurde bis zu dem Maß ausgenutzt, dass die maximale Größe der Formol- und Bouin-fixierten Proben die Größe von  $4 \times 3 \text{ cm}^2$  nicht überschritt. Zwischen der Entnahme des Fetus aus dem Uterus und der Verbringung der letzten Probe in das Fixans verging maximal eine halbe Stunde.

#### **1. Fixierung und Probenaufbereitung für die Lichtmikroskopie**

##### **1.1. Arbeitsschritte zur Gewinnung von Paraplastschnitten**

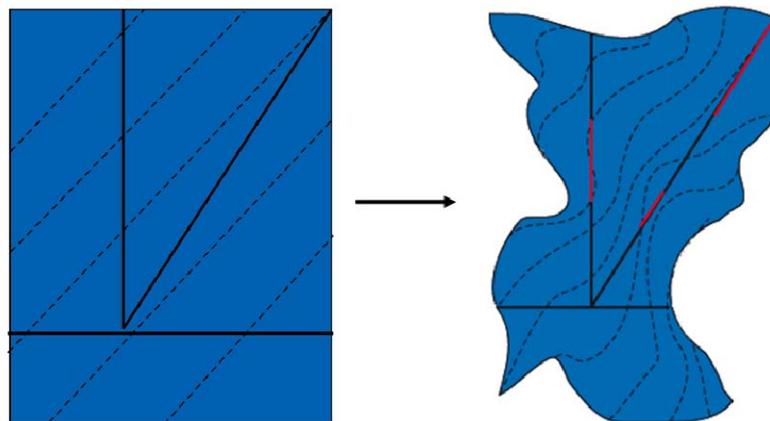
Die in Bouin-Lösung fixierten Proben wurden nach 24 Stunden mit 70% Ethanol gespült. Es fand zweimalig ein Wechsel nach je 24 Stunden in frisches 70% Ethanol statt, sodass die Proben insgesamt 72 Stunden in dieser Reagenz verblieben. Nach dieser ersten Entwässerungsstufe wurden die Proben zugeschnitten. Je nach Größe der Proben entstanden ein bis sechs Hautstücke unterschiedlicher Größe. Die Proben wurden hierbei in verschiedenen Richtungen zerschnitten, um vor allem bei den Stadien von Feten mit noch nicht makroskopisch sichtbar durchgebrochenen Haaren die Wahrscheinlichkeit eines Längsanschnittes der Haaranlagen zu erhöhen. Ein Beispiel für einen Probenzuschnitt soll die (Abbildung 7) veranschaulichen. Hier wird deutlich, dass der Längsanschnitt der Haaranlagen am ehesten durch verschiedene Schnittrichtungen beim Zuschnitt erreicht wurde. Als hilfreich erwies sich, dass die Hautproben sich während der Fixierung verformten und somit wie in (Abbildung 8) die Wahrscheinlichkeit des Längsanschnittes bei nicht sichtbarer Haarwuchsrichtung gegenüber einer nicht verformten Probe im Durchschnitt erhöht war. Die (Abbildung 7) zeigt den Zuschnitt bei einer unverformten Probe. In diesem Fall liegen die Schnittstellen nicht parallel zur Richtung des Haarwuchses und somit ist kein Längsanschnitt der Haaranlagen zu erwarten. Die Proben wurden in solchen Fällen neu zugeschnitten, was allerdings erst nach Beurteilung eines mit Hämalaun-Eosin gefärbten Paraplastschnittes möglich war.

**Abbildung 7: Beispiel für den Zuschnitt einer Probe und die Ausrichtung der Probenanteile für die Herstellung von Paraplastschnitten**



**grau- gestrichelte Linien:** Haarwuchsrichtung, meist nicht makroskopisch erkennbar (optimale Schnittführung zum Längsanschnitt der Haaranlagen); **rote Linien:** Schnittstellen und nach Zuschnitt Schnittfläche zur Gewinnung von Paraplastschnitten

**Abbildung 8: Effekt der Probenverformung auf die Wahrscheinlichkeit des Längsanschnittes der Haaranlagen**



**grau- gestrichelte Linien:** Haarwuchsrichtung, meist nicht makroskopisch erkennbar (optimale Schnittführung zum Längsanschnitt der Haaranlagen); **schwarze Linien:** Schnittstellen und nach Zuschnitt Schnittfläche zur Gewinnung von Paraplastschnitten; **rote Linien:** Passagen der Schnittstellen an denen mit einem Längsanschnitt der Haaranlagen gerechnet werden kann (rote Linien liegen annähernd parallel zu schwarz-gestrichelten Linien)

Nach dem Zuschnitt wurde die Entwässerungsreihe (2xEthanol 80%, 2xEthanol 96%, 2xIsopropanol, 3xXylol) und die nachfolgende Einbettung in Paraplast angeschlossen. Diese erfolgte über 22 Stunden in einem Einbettungsautomaten (Duplex Processor, Shandon (Frankfurt am Main)). Hiernach wurden die Proben mit Hilfe des Histostat-Tissue-Embedding Centers (EG 1140H, Leica (Rockville, USA)) ausgegossen. Kleine Präparate wurden in kleine quadratische Paraplastschalen mit Rahmen (Gießrahmen 25x25mm<sup>2</sup>, Thermo Fisher Scientific, Dreieich) ausgeblockt, größere hingegen in

rechteckige Formen gegossen. Hierzu wurde zunächst die Form mit Rahmen mit flüssigem Paraplast gefüllt und dann die Probe mit einer Pinzette mit der Schnittfläche nach unten in die Form gesetzt. Auf einer Kühlplatte wurden die ausgegossenen Blöcke über einen Zeitraum von eine Stunde abgekühlt. Darauf folgten die Entfernung der Paraplastformen und eine Aufbewahrung der Blöcke bei Raumtemperatur. 24 Stunden vor dem Schneiden wurden die Blöcke in den Kühlschrank gestellt, um eine Härtung und somit eine bessere Schnittfähigkeit des Paraplastes zu erreichen. Die Paraplastschnitte wurden mit einem Rotationsmikrotom (Typ HM 340E, Microm international, (Walldorf)) angefertigt. Die 5 µm dicken Schnitte wurden auf insgesamt 60 Objektträger aufgezogen. Dabei handelte es sich bei 20 Stück um unbeschichtete Objektträger (Superfrost, Fisher Scientific, Schwerte) und bei 40 Stück um beschichtete Objektträger (Adhäsionsobjektträger Superfrost Ultra Plus, Fisher Scientific, Schwerte). Nachdem die Schnitte auf die Objektträger aufgebracht waren, wurden diese für 24 Stunden in einen Wärmeschrank (40°C) verbracht. Dann wurden sie bei Raumtemperatur bis zur Färbung aufbewahrt. Die in Formol fixierten Proben wurden vier Stunden nach der erstmaligen Verbringung in Formol und 24 Stunden später nochmals, in frisches Formol gewechselt. Nach weiteren 24 Stunden in Formol wurden die Proben auf gleiche Art und Weise wie die in Bouin-Lösung fixierten Proben zugeschnitten, wonach sie zwei Stunden lang in DEPC-Wasser gespült wurden. Das DEPC-Wasser wurde innerhalb dieses Zeitraumes dreimal gewechselt. Dann wurden die Proben in 70% Ethanol verbracht und drei Stunden später in den Einbettautomaten (Citadel 2000, Shandon, (Frankfurt am Main)) (2x Ethanol 80%, 2x Ethanol 96%, 3x Isopropanol, 3x Xylol, 2x Paraplast) gegeben. Alle weiteren Schritte bis hin zu den fertigen Paraplastschnitten entsprachen dem Vorgehen bei den in Bouin- Lösung fixierten Proben.

## **1.2. Verwendung der Paraplastschnitte**

Von allen Proben wurden jeweils zwei Schnitte mit Hämalaun-Eosin (HE) nach Meier (ROMEIS, 2010) gefärbt. Nach einer Beurteilung der Schnitte auf Längsanschnitt der Haaranlagen wurden die Blöcke entweder wieder eingeschmolzen, die Ausrichtung der Proben geändert und neu ausgeblockt oder es wurden Schnitte für die weitergehenden Untersuchungen angefertigt. Bis auf wenige immunhistochemische Untersuchungen wurden für die histologischen, immunhistochemischen und glykohistochemischen Untersuchungen, in Bouin-Lösung fixierte Proben verwendet.

**Tabelle 4: Verwendetes Probenmaterial für die histologischen, immunhistochemischen und glykohistochemischen Untersuchungen (Feten der SSL 8,5 cm-37,3 cm)**

SSL (cm)	S	Rd	Rv	V	H
8,5					
10,5					
11,0					
13,7					
14,5					
15,3					
15,7					
17,0					
21,0					
23,8					
25,5					
27,8					
29,0					
31,5					
34,0					
34,5					
37,3					

**Untersuchte Hautareale:** S: Scheitel, Rd: Rumpf dorsal, Rv: Rumpf ventral, V: Vordergliedmaße, H: Hintergliedmaße; **Art der Untersuchung:** weiß: ausschließlich HE-Färbung; hellgrau: Trichromfärbung nach Masson und Goldner, Alcianblau, Periodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS) nach Mc Manus, Silberimprägnation nach Gomori; dunkelgrau: immunhistochemische und glykohistochemische Untersuchungen

**Tabelle 5: Verwendetes Probenmaterial für die histologischen, immunhistochemischen und glykohistochemischen Untersuchungen (Feten der SSL 41,4 cm-95,0 cm, Kälber, sowie adulte Tiere)**

SSL (cm) bzw. Alter	S	Rd	Rv	V	H
41,4					
44,0					
44,8					
49,0					
57,6					
58,0					
63,0					
64,8					
67,8					
80,5					
94,5					
95,0					
2 Tage (76,5)					
7 Tage (91,5)					
9 Tage (86,0)					
20 Monate					
54 Monate					
60 Monate					

**Untersuchte Hautareale:** S: Scheitel, Rd: Rumpf dorsal, Rv: Rumpf ventral, V: Vordergliedmaße, H: Hintergliedmaße; **Art der Untersuchung:** weiß: ausschließlich HE-Färbung; hellgrau: Trichromfärbung nach Masson und Goldner, Alcianblau, Periodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS) nach Mc Manus, Silberimprägnation nach Gomori; dunkelgrau: immunhistochemische und glykohistochemische Untersuchungen

### 1.3. Histologische Färbungen

Allen im Folgenden beschriebenen histologischen Färbungen ist gemein, dass die Paraplastschnitte im ersten Schritt über eine absteigende Alkoholreihe entparaffiniert (2x10 min Xylol, 2x5 sek Isopropanol, 1x5 sek 96% Ethanol, 1x5 sek 70% Ethanol) und im letzten Schritt über eine aufsteigende Alkoholreihe (umgekehrte absteigende Alkoholreihe) entwässert wurden. Hiernach wurden die gefärbten Schnitte mit Eukitt (Quick Hardening Mounting Medium Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim) eingedeckt.

### 1.3.1. Hämalaun-Eosin (H.E.) nach Meier:

In dieser Übersichtsfärbung heben sich die Zellkerne blau vom übrigen rosarot gefärbten Gewebe ab (ROMEIS, 2010). Von allen in Bouin-Lösung fixierten Proben wurde jeweils ein Schnitt gefärbt.

Färbeprotokoll:

1. Aqua dest.	5 sek
2. Kernfärbung mit Hämalaun	20 min
3. Aqua dest.	5 sek
4. fließendes Leitungswasser (bläuen)	20 min
5. Eosin	10 min
6. Aqua dest.	10 sek

### 1.3.2. Trichromfärbung nach Masson und Goldner:

Die Zellkerne erscheinen durch das Eisenhämatoxylin nach Weigert braun bis schwarz. Das Zytoplasma färbt sich ziegelrot, die Erythrozyten orange und das Bindegewebe sowie Mukosubstanzen nehmen eine grüne Färbung an (ROMEIS, 2010). Färbeprotokoll:

1. Aqua dest.	5 sek
2. Eisenhämatoxylin nach Weigert	1 min
3. Aqua dest.	3x5 sek
4. fließendes Leitungswasser	10 min
5. Azophloxin	5 min
6. 1% Essigsäure	10 sek
7. Phosphormolybdänsäure-Orange	zwischen 1,5 und 20 min*
8. 1% Essigsäure	10 sek
9. Lichtgrün	zwischen 4 und 5,5 min**
10. 1% Essigsäure	10 sek

\*Entfärbung des orangenen Bindegewebes unterschiedlich schnell: mehrfache lichtmikroskopische Kontrolle,

\*\*Grünfärbung des Bindegewebes unterschiedlich schnell: mehrfache lichtmikroskopische Kontrolle

### 1.3.3. Alcianblau

Der Farbstoff Alcianblau (pH 2,5) färbt saure Mukosubstanzen leuchtend blau. Die Zellkerne werden mit Kernechtrot gegengefärbt und erhalten hierdurch eine hellrote Farbe. Um unter den angefärbten Mukosubstanzen zwischen Sulfat- und Karboxylgruppen unterscheiden zu können wird in einem zweiten Färbedurchgang parallel anstatt des Alcianblau pH 2,5 der Farbstoff Alcianblau pH 1,0 angewendet. Er färbt lediglich die sulfatierten Mukosubstanzen leuchtend blau an (ROMEIS, 2010).

#### Anfärbung saurer Mukosubstanzen (pH-Wert 2,5)

Färbeprotokoll:

1. Aqua dest.	5 sek
2. 3% Essigsäure	3 min
3. 1% Alcianblau (in 3% Essigsäure, pH 2,5)	30 min
4. 3% Essigsäure	5 sek
5. Aqua dest.	5 sek
6. Kernechtrot	4 min
7. Aqua dest.	5 sek

#### Anfärbung sulfatierter Mukosubstanzen (pH 1,0)

Färbeprotokoll:

1. Aqua dest.	5 sek
2. 0,1N Salzsäure	3 min
3. 1% Alcianblau (in 0,1N Salzsäure, pH 1,0)	30 min
4. 0,1N Salzsäure	5 sek
5. Aqua dest.	5 sek
6. Kernechtrot	4 min
7. Aqua dest.	5 sek

**1.3.4. Periodic-Acid-Schiff-Reaction (PAS) nach Mc Manus:**

Durch diese Reaktion stellen sich alle komplexen Kohlenhydrate rosa bis violett dar. Die Zellkerne werden mit Hämalaun blau gegengefärbt (ROMEIS, 2010). Die Färbung wurde einmal ohne und einmal mit Amylasevorbehandlung durchgeführt. Die Amylasevorbehandlung diente als Kontrolle für die Spezifität der Anfärbung der Kohlenhydrate.

Färbeprotokoll:

1. Aqua dest.	5 sek
2. 0,5% Amylase	10 min bei 37°C (Brutschrank)
3. Aqua dest.	5 sek
4. 0,5% wässrige Perjodsäure	5 min
5. Aqua dest.	5 sek
6. Schiff'sches Reagenz	15 min
7. SO <sub>2</sub> -Wasser	3x2 min
8. Leitungswasser	5 min
9. Hämalaun	4 min
10. Leitungswasser fließend	15 min

Grau unterlegte Färbeschritte: Amylasevorbehandlung

### 1.3.5. Silberimprägnation nach Gomori

Durch diese Technik werden Bindegewebsfasern und Neurofibrillen bräunlich angefärbt (ROMEIS, 2010).

Färbeprotokoll:

1. Leitungswasser	5 sek
2. 0,5% Kaliumpermanganatlösung	1,5 min
3. Leitungswasser	2x2,5 min
4. 2% Kaliumdisulfit	1 min
5. Leitungswasser	2x2,5 min
6. 2% Eisenammoniumsulfatlösung	1 min
7. Leitungswasser	4 min
8. Aqua dest.	2x2 min
9. Ammoniakalische Silbernitratlösung	1 min
10. Aqua dest.	7 sek
11. Formol-Leitungswasser 1:9	5 min
12. Leitungswasser	2x2,5 min
13. 0,1% Goldchloridlösung	10 min
14. Aqua dest.	5 sek
15. 2% Kaliumdisulfit	1 min
16. 1% Natriumthiosulfat	1 min
17. Leitungswasser	15 sek
18. Aqua dest.	5 sek

## 2. Immunhistochemische Untersuchungen

Durch immunhistochemische Untersuchungen ist es möglich bestimmte Antigene im Schnitt nachzuweisen. In dieser Arbeit wurden alle immunhistochemischen Untersuchungen nach der ABC (Avidin-Biotin-Complex)-Methode durchgeführt. Bei jeder der Untersuchungen lief eine Negativkontrolle mit. Statt der Primärantikörperverdünnung wurde dieser Schnitt lediglich mit der Verdünnungslösung (Antibody Diluent with Background-Reducing Components, Dako, Hamburg) versehen. Die weitere Behandlung der Negativkontrolle entsprach der der übrigen Schnitte. Als Negativkontrolle wurde jeweils ein Schnitt einer Probe, die auch als auf das Antigen zu untersuchender Schnitt vertreten war, ausgewählt. Als Positivkontrolle wurde jeweils ein Schnitt eines Gewebes verwendet von dem ein positives Ergebnis der jeweiligen Untersuchung bekannt ist (Tabelle 6). Somit konnten die Spezifität der Untersuchung auf das Antigen und eventuelle Fehler in der Methode beurteilt werden.

**Tabelle 6: Übersicht: Immunhistochemisch untersuchte Antigene, Herkunft der Primär- und Sekundärantikörper, Verdünnungen, Inkubationszeiten, Vorbehandlungen, Positivkontrollen**

Antigen	Herkunft Primärantikörper	Hersteller	Verdünnung/ Inkubationszeit	Sekundärantikörper	Vorbehandlung	Positivkontrolle
Laminin	Rb	Sero	1:500/ 20h bei 6°C	P- anti- Rb	Pr	Haut Pferd
Vimentin	Ms	Dako	1:500/ 20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	Pr	Haut Pferd
α- SMA	Ms	Dako	1:40/ 1h bei RT	Rb- anti- Ms	/	Darm Rind
S100	Rb	Dako	1:400/ 1/2h bei RT	P- anti- Rb		MW2
Ki67	Ms	Dako	1:50/ 1h bei RT	Biot. Univ. AK	MW2	Tonsille Rind
p63	Ms	Sa	1:150/ 20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	/	Prostata-Karzinom, Mensch
Keratin 5	GP	Pro	1:50/ 20h bei 6°C	G- anti- GP		MW2
Keratin 8	Ms	Ch	1:500/ 20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	Pr	Euter Rind
Keratin 14	Ms	Ac	1:200/20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	MW2	Eileiter Rind
Keratin 15	Ms	Dia	1:100/ 20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	MW2	Ovar Rind
Keratin 18	Ms	Pro	1:20/ 20h bei 6°C	Rb- anti- Ms	/	Eileiter Rind
Keratin 19	GP	Pro	1:200/ 20h bei 6°C	G- anti- GP		/

**Primärantikörper lieferndes Tier:** G: Goat, GP: Guinea Pig, Ms: Mouse, Rb: Rabbit; pk: polyklonal, mk: monoklonal; **Hersteller:** Ac: Abcam, Cambridge, MA, USA, Ch: Chemicon, Temecula, USA, Dako: Dako, Hamburg, Dia: Dianova, Hamburg, Pro: Progen Biotechnik, Heidelberg, Sa: Sanova/Biocare, Wien, AU, Heidelberg, Sero: Serotec, Oxford, UK; **Sekundärantikörper (Verdünnung 1:300, Inkubationszeit: 30 min bei RT):** Biot. Univ. AK: Biotinylierter Universal- Antikörper (Vectastain® Elite), Vector, Wiesbaden, P- anti-Rb: Anti- Kaninchen IgG (F(ab')<sub>2</sub>) vom Schwein, Dako, Glostrup, Dänemark, Rb- anti- Ms: Anti- Maus IgG biot. vom Kaninchen, Dako, Glostrup, Dänemark, G- anti- GP: Anti- Meerschweinchen IgG von der Ziege, Vector, Burlingame, USA; **Vorbehandlung:** Pr: 0,1% Protease 10 min RT, Dako, Hamburg, MW2: Citratpuffer pH 6,1, 2x10 min Mikrowelle

Die Untersuchungen wurden wie folgt durchgeführt:

1. Absteigende Alkoholreihe	siehe Histologische Färbungen
2. Aqua dest.	2x5 min
3. PBS (pH 7,4)	3x5 min
4. Vorbehandlung	siehe Tabelle 6
5. PBS (pH 7,4)	3x5 min
6. Hydrogenperoxidlösung	10 min
7. fließendes Leitungswasser	10 min
8. PBS (pH 7,4)	3x5 min
9. Protein Block Serum-Free (Dako, Carpinteria, USA) *	10 min
10. Primär- Antikörper verdünnt in Antibody Diluent (Dako, Carpinteria, USA)	siehe Tabelle 6
11. PBS (pH 7,4)	3x5 min
12. Sekundär- Antikörper	siehe Tabelle 6
13. PBS (pH 7,4)	3x5 min
14. AB-Complex**	30 min
15. PBS (pH 7,4)	3x5 min
16. DAB- Hydrogenperoxidlösung	8 min
17. fließendes Leitungswasser	1 min
18. Hämalaun (Kernfärbung)	30 sek
19. fließendes Leitungswasser	10 min
20. Aufsteigende Alkoholreihe	siehe Histologische Färbungen
21. Eindecken mit Eukitt	

\*Ki67: Blocking Serum (Vectastain® Elite, Vector) 20 min, \*\*Ki67: ABC Reagent (Vectastain® Elite, Vector) 30 min; Die grau unterlegten Protokollschritte variierten bei den Untersuchungen (Tabelle 6)

### 3. Glykohistochemische Untersuchungen

Für die glykohistochemischen Untersuchungen wurden 17 Lektine verwendet, welche in Tabelle 7, kategorisiert nach ihrer Zuckerspezifität aufgelistet sind (GOLDSTEIN & PORETZ (1986) modifiziert nach GABIUS (2009), LOHR et al. (2010) GABIUS (2011a) und Gabius et al. (2011b). Wie bei den immunhistochemischen Untersuchungen wurden Positiv- und Negativkontrollen durchgeführt. Zusätzlich wurde mit Hilfe von Hemmzuckern (Tabelle 7), die den Lektinverdünnungen zwei Stunden vor der Inkubation auf den Schnitten zugesetzt wurden, eine kompetitive Hemmung der Lektine verursacht und somit deren Spezifität für diese Zucker verifiziert.

**Tabelle 7: Übersicht über die verwendeten Lektine, ihre botanische Herkunft, sowie Positivkontrollen und Hemmzucker**

Kategorie 1: D-Glucose bzw. D-Mannose bindende Lektine		Positivkontrolle	Hemmzucker
Con A	<i>Canavalia ensiformis</i> Agglutinin (Schwertbohne)	Nh Hd	M- $\alpha$ -M
PSA	<i>Pisum sativum</i> Agglutinin (Gartenbohne)	Nh Hd	M- $\alpha$ -M
LCA	<i>Lens culinaris</i> Agglutinin (Linse)	Nh Hd	M- $\alpha$ -M
Kategorie 2: D-Galactose bindende Lektine			
RCA-I	<i>Ricinus communis</i> Agglutinin I (Rizinusbohne)	Ho Rd	M- $\alpha$ -gal
VAA	<i>Viscum album</i> Agglutinin (Weißbeerige Mistel)	Ov Rd	M- $\alpha$ -gal
PNA	<i>Peanut</i> Agglutinin (Erdnuss)	Nh Hd	M- $\alpha$ -gal
GSL-I	<i>Griffonia simplicifolia</i> Lektin I (Afrikanische Schwarzbohne)	Nh Hd	M- $\alpha$ -gal
Kategorie 3: N-Acetyl-D-Galactosamin <sup>1</sup> /D-Galactose <sup>2</sup> bindende Lektine			
DBA <sup>1</sup>	<i>Dolichos biflorus</i> Agglutinin (Afrikanische Pferdebohne)	Ov Sw	GalNAc
SBA <sup>1</sup>	<i>Soybean</i> Agglutinin (Sojabohne)	Ho Rd	GalNAc
SJA <sup>1</sup>	<i>Sophora japonica</i> Agglutinin (Japanischer Schnurbaum)	Ni Rd	GalNAc
SNA <sup>1,2</sup>	<i>Sambucus nigra</i> Agglutinin (Schwarzer Holunder)	Ov Hd	GalNAc
Kategorie 4: N-Acetyl-D-Glucosamin <sup>3</sup> /N-Acetyl-Neuraminsäure <sup>4</sup> bindende Lektine			
WGA <sup>3,4</sup>	<i>Wheat germ</i> Agglutinin (Weizen-Keim)	Nh Hd	Chitin-H
s-WGA <sup>3</sup>	<i>succinyliertes Wheat germ</i> Agglutinin (Weizen-Keim)	Nh Hd	Chitin-H
Kategorie 5: L-Fukose bindende Lektine			
UEA-I	<i>Ulex europaeus</i> Agglutinin I (Europäischer Stechginster)	Nh Hd	Fuc
Kategorie 7: Lektine mit Oligosaccharidbindungsstellen			
MAA-I	<i>Maackia amurensis</i> leukoagglutinin I (Asiatisches Gelbholz)	Ov Hd	
PHA-E	<i>Phaseolus vulgaris</i> Erythroagglutinin (Rote Kidney-Bohne)	Nh Hd	
PHA-L	<i>Phaseolus vulgaris</i> Leukoagglutinin (Rote Kidney-Bohne)	Nh Hd	

**Bezugsquellen Lektine:** MAA-I, SNA, VAA: Lehrstuhl für physiologische Chemie, Veterinärwissenschaftliches Department, LMU München; übrige Lektine: Vector Burlingame, USA, **Positivkontrollen:** Ho Rd: Hoden Rind, Nh Hd: Nebenhoden Hund, Ni Rd: Niere Rind, Ov Hd: Ovar Hund, Ov Rd: Ovar Rind, Ov Sw: Ovar Schwein, **Hemmzucker** (Inkubationszeit mit Lektinverdünnung: 2h): Chitin-H: Chitin-Hydrolysate (Vector, Burlingame, USA) 1:4 verdünnt, Fuc: desulfatiertes Fucoidan 50mM (Sigma Aldrich Chemie, Steinheim), GalNAc: N-Acetyl-Galactosamin 200mM (Sigma Aldrich Chemie, Deisenhofen), M- $\alpha$ -gal: Methyl- $\alpha$ -D-Galactopyranoside 200mM (Sigma Aldrich Chemie, Deisenhofen), M- $\alpha$ -M: Methyl- $\alpha$ -Mannopyranoside 200mM (E-Y Labs, San Mateo, USA).

Die glykohistochemischen Untersuchungen wurden- die Lektine MAA-I, SNA und VAA ausgenommen- nach folgendem Protokoll durchgeführt:

1. Absteigende Alkoholreihe:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Xylol</li> <li>• Isopropanol</li> <li>• 96 % Ethanol</li> <li>• 70 % Ethanol</li> <li>• Aqua dest.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>2x30 min</li> <li>2x5 sek</li> <li>5 sek</li> <li>5 sek</li> <li>2x5 min</li> </ul>
2. PBS (pH 7,4)		3x5 min
3. Lektinverdünnung (10 µg FITC- markiertes Lektin/ 1 ml PBS pH 7,4), 100 µl/Schnitt,		60 min/RT in FK*
4. PBS (pH 7,4)		3x5 min
5. Kernfärbung mit DAPI- Verdünnung (1µg/1 ml PBS)		10 min/RT in FK
6. PBS (pH 7,4)		3x5 min
7. Aqua dest.		5 min
8. Eindecken mit PVA-Mounting-Medium		

Im Vergleich hierzu wurden die Untersuchungen mit den Lektinen MAA-I, SNA und VAA nach folgendem Protokoll durchgeführt, da diese Lektine nicht bereits an FITC gekoppelt vorlagen:

1. Absteigende Alkoholreihe	siehe oben
2. PBS (pH 7,4)	siehe oben
3. Dako Protein Block Serum Free	10 min
4. Lektinverdünnung (MAA-I und SNA: 10 µg, VAA: 2µg biotinyliertes Lektin/1 ml PBS pH 7,4), 100µl/Schnitt	60 min/RT in FK
5. PBS (pH 7,4)	3x5 min
6. FITC markiertes Streptavidin	30 min*
7. PBS (pH 7,4)	3x5 min
8. Kernfärbung mit DAPI- Verdünnung (1µg/1 ml PBS)	10 min/RT in FK
9. PBS (pH 7,4)	3x5 min
10. fließendes Leitungswasser	1 min
11. Aqua dest.	5 min
12. Eindecken mit PVA- Mounting- Medium	

\*ab diesem Schritt wurden die Schnitte unter Abdunkelung weiter behandelt um eine Abschwächung der Fluoreszenz des FITC und ab Schritt 5 auch des DAPI's zu vermeiden, RT: Raumtemperatur, FK: Feuchtkammer, PBS: Phosphatpuffer

## 4. Transmissionselektronenmikroskopie

Alle für die Transmissionselektronenmikroskopie verwendeten Proben wurden nach der Entnahme in das Fixierungsmedium nach Karnovsky verbracht. Dieses setzt sich aus den beiden Hauptkomponenten Formaldehyd und Glutaraldehyd zusammen, welche erst unmittelbar vor dem Gebrauch des Mediums miteinander vermischt wurden. Die Proben wurden nun 24 Stunden bei 4°C (Kühlschrank) in diesem Medium belassen und anschließend dreimal jeweils 60 Minuten mit 0,1M Natriumcacodylatpuffer (pH 7,2) gespült. Es folgte die Vorkontrastierung in Osmiumtetroxid (1%) und Kaliumferrocyanid (1,5%) über zwei Stunden bei 4°C und hiernach wiederum eine dreimalige Spülung Natriumcacodylatpuffer 0,1M (pH 7,2) für jeweils 20 Minuten. Die Proben wurden nun in einer aufsteigenden Alkoholreihe (30%, 50%, 70%, 90% Ethanol, jeweils 30 Minuten, 3 x 30 Minuten Ethanol absolut) dehydriert und anschließend in Epon eingebettet (Propylenoxid 2x15 Minuten, Propylen: Epon (2:1) 60 Minuten, Propylen: Epon (1:1) 24 Stunden, reines Epon 60 Minuten). Abschließend wurden die Proben in Epon in Einbettformen (Plano, Wetzlar) ausgegossen und im Wärmeschrank (60°C) über 48 Stunden polymerisiert. Nun wurden Semidünnschnitte (Dicke: 1µm) mit Hilfe eines Ultramikrotoms (Ultracut E, Reichert- Jung, Wien) angefertigt und mit Methylenblau nach Richardson gefärbt. In den Semidünnschnitten wurden nun geeignete Bereiche ausgewählt. Von diesen wurden Ultradünnschnitte (Dicke: 60 nm) mit Hilfe eines speziellen Diamantmessers (Diatom) angefertigt. Die Ultradünnschnitte wurden mit Kupfernetzchen (150 mesh, Plano, Wetzlar) aufgefangen und nachkontrastiert (wässriges Uranilacetat zehn Minuten, Bleicitrat drei Minuten). Hiernach fand die Auswertung und fotografische Dokumentation an einem EM 902 (Zeiss, Jena) Elektronenmikroskop statt.

## IV. ERGEBNISSE

### 1. Ergebnisse der histologischen Untersuchungen

Im Rahmen der histologischen und histochemischen Untersuchungen kamen folgende Färbungen zum Einsatz: Hämalaun-Eosin-Färbung (HE), Trichrom-Färbung nach Masson und Goldner, Periodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS), Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 und pH 1,0 und Versilberung nach Gomori.

#### 1.1. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 8,5 cm

Der kleinste untersuchte Fetus mit einer SSL von 8,5 cm weist eine zwei- bis fünfschichtige Epidermis auf. Das Stratum basale besteht aus iso- bis leicht hochprismatischen Zellen, mit einem runden, zentral gelegenen Zellkern. Demgegenüber zeigt das Stratum intermedium polymorphe, meist flache Zellen mit einem ovalen Zellkern. Es besteht im Bereich des Scheitels, des dorsalen und ventralen Rumpfes ebenso wie an der Hintergliedmaße aus ein bis zwei Zelllagen. Die Vordergliedmaße zeigt in dieser Zellpopulation zwei bis drei Zelllagen. Im Periderm haben die Zellen eine flache Form mit ebenfalls stark abgeflachten Zellkernen. Mit der PAS-Färbung lässt sich bereits bei diesem Fetalstadium die Basalmembran gut darstellen (Abbildung 9: B). Das Mesenchym ist faserarm und es zeigt mit der Trichrom-Färbung eine schwache und mit der Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 eine Anfärbung mittlerer bis starker Intensität (Abbildung 9: A), während bei Alcianblau mit pH 1,0 keine Reaktion erkennbar ist. Haaranlagen in Form epidermaler Knospen (Vorkeime) sind bei dieser SSL noch nicht sichtbar.

#### 1.2. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 10,5 cm

Die Epidermis der fetalen Haut bei einer SSL von 10,5 cm ist durch ein iso- bis hochprismatisches Stratum basale gekennzeichnet, welches sich bei der PAS-Reaktion nur schwach anfärbt. Das Stratum spinosum enthält ein bis drei Zelllagen und zeigt polygonale Zellen mit runden bis ovalen, zentral in der Zelle liegenden Zellkernen, die ebenfalls eine leichte Anfärbung bei Verwendung der PAS-Reaktion zeigen. Im Bereich der die Epidermis unterlagernden Basalmembran ist eine schwache Anfärbung nach der PAS-Reaktion zu beobachten. Auch bei diesem Fetalstadium ist das Mesenchym noch sehr faserarm und lässt sich mit Hilfe der Trichrom-Färbung und der Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 nur schwach anfärben. In den Hautproben, die aus dem Bereich des Scheitels gewonnen wurden, sind erste Haaranlagen in Form von Zellvermehrungen (Vorkeime) im Stratum basale zu erkennen, die sich leicht ins Mesenchym vorwölben. In den Bereichen dieser epidermalen Knospen weist auch das Mesenchym eine Verdichtung von Zellen auf, so dass hier die Zelldichte zu und der Anteil der extrazellulären Matrix abnimmt. Diese strukturellen Veränderungen kennzeichnen den Beginn der Entwicklung der dermalen Präpapille (Abbildung 9: C). In den übrigen untersuchten Hautarealen (dorsaler und ventraler Rumpf, Vorder- und Hintergliedmaße) ist noch keine Entwicklung von Haaranlagen zu erkennen.

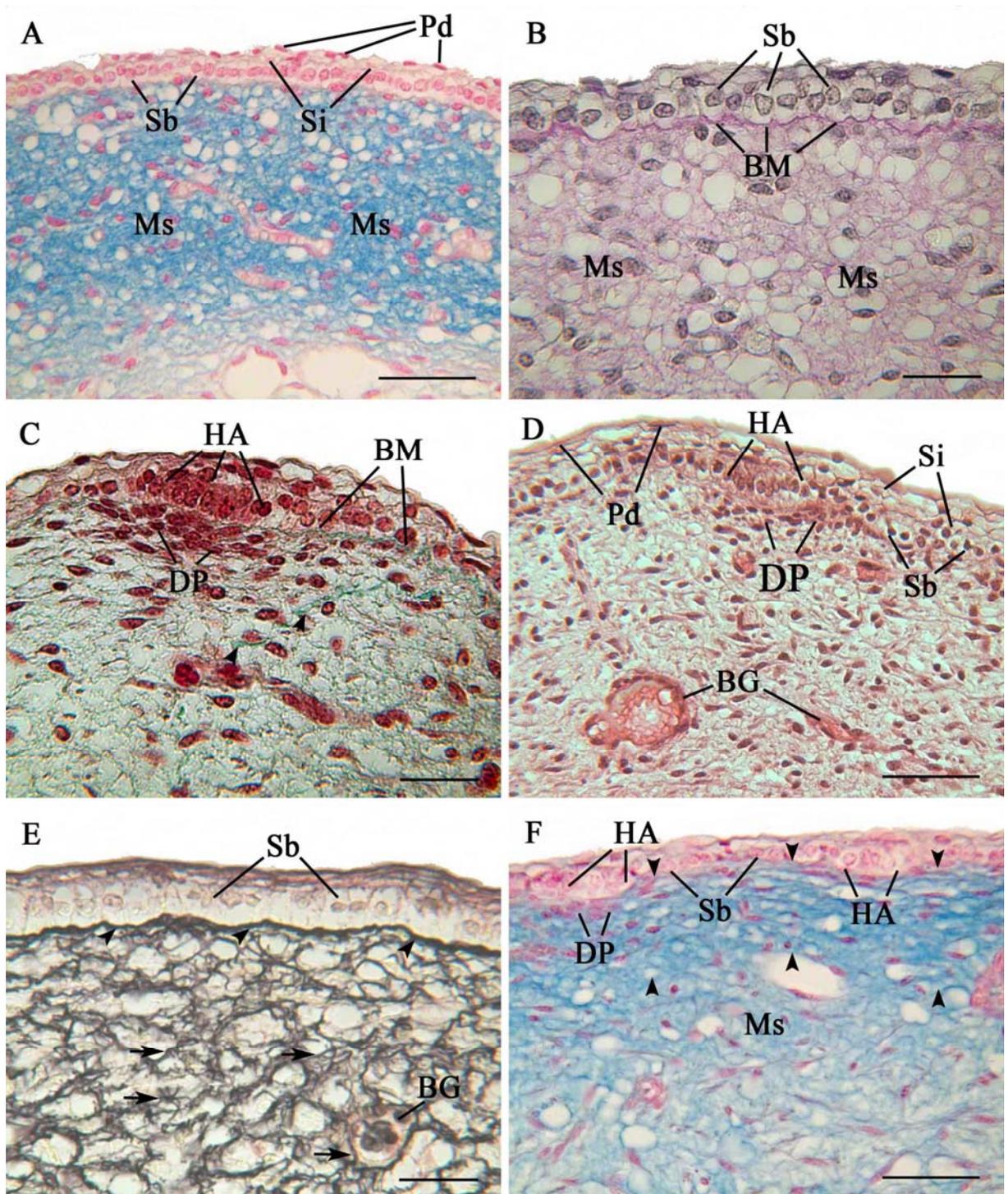
### **1.3. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 11,0 cm**

Die Epidermis ist in diesem Fetalstadium sehr ähnlich wie bei der SSL 10,5 cm ausgebildet. Einziger Unterschied ist die Anfärbung nach der PAS-Reaktion, die sich nun auch im Periderm zeigt, während sie im Stratum basale nicht mehr feststellbar ist. Änderungen ergeben sich im Bereich des Mesenchyms in Form einer leichten Erhöhung der Faserdichte, vor allem subepidermal. Hier ist auch eine leichte positive Reaktion im Rahmen der PAS-Reaktion und eine positive Reaktion mittlerer Stärke bei der Alcianblau-Färbung mit pH 2,5 zu beobachten. Eine beginnende Entwicklung von Haaranlagen kann bei dieser fetalen Größe lediglich im Bereich der Vordergliedmaße festgestellt werden. Hier zeigen sich, ebenso wie bei dem Fetus der SSL 10,5 cm (Hautareal: Scheitel) mesenchymale Verdichtungen unterhalb der frühen Haaranlagen, die durch eine höhere zelluläre Dichte und eine Verringerung des Gehaltes an extrazellulärer Matrix gekennzeichnet sind (Abbildung 9: D). Mit Hilfe der Versilberung nach Gomori können in weiten Teilen des Mesenchyms erstmals feine Nervenfasern nachgewiesen werden (Abbildung 9: E).

### **1.4. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 13,7 cm**

Die Hautproben des Fetus mit der SSL 13,7 cm lassen am Scheitel und am dorsalen und ventralen Rumpf ein ein- bis zweischichtiges Stratum intermedium in der Epidermis erkennen. Demgegenüber besteht dieses an der Vorder- und Hintergliedmaße aus zwei bis drei Zelllagen. Das Stratum basale sowie das Periderm erfahren gegenüber den vorherigen Entwicklungsstadien keine histomorphologisch oder histochemisch sichtbaren Änderungen. Auch bei dieser fetalen Größe sind partielle Verdichtungen von Zellen im Stratum basale zu beobachten, die die frühen Haaranlagen darstellen und, den dorsalen Rumpf ausgenommen, in allen untersuchten Hautarealen gefunden werden können. Diese epidermalen Knospen bestehen aus iso- bis hochprismatischen Zellen. Innere bzw. äußere Anteile der Haaranlagen sind in diesem Stadium noch nicht unterscheidbar. Die Basalmembran zeigt sich durch die PAS-Reaktion weiterhin leicht angefärbt. Das Mesenchym ist durch eine leichte Faserbildung mit leichter positiver PAS-Reaktion und positiver Trichrom-Färbung charakterisiert. Hinzu kommt eine Anfärbung mittlerer bis starker Intensität mit Alcianblau bei pH 2,5 im subepidermalen Bereich, während in tieferen mesenchymalen Schichten lediglich eine Färbung schwacher bis mittlerer Intensität zu beobachten ist (Abbildung 9: F).

Abbildung 9: Haut von bovinen Fetten mit einer SSL von 8,5 cm bis 13,7 cm



Zwischen der SSL 8,5 cm und 13,7 cm bilden sich erste Haaranlagen in Form von epidermalen Knospen (Vorkeime) und die Dermis kondensiert in diesem Bereich zur dermalen Präpapille.

**A: SSL 8,5 cm, Rumpf dorsal**, Alcianblau pH 2,5, Epidermis, isoprismatisches Stratum basale (Sb), einzschichtiges Stratum intermedium (Si), flaches Periderm (Pd), positive Reaktion starker Intensität im subepidermalen Mesenchym (Ms), SB: 50 µm;

**B: SSL 8,5 cm, Rumpf dorsal**, PAS-Reaktion, Epidermis, positive Reaktion mittlerer Intensität in der Basalmembran (BM) und schwacher Intensität im Mesenchym (Ms), Sb: Stratum basale, SB: 25 µm;

**C: SSL 10,5 cm, Scheitel**, Trichrom, Epidermis mit Haaranlage (HA) und dermaler Präpapille (DP), schwache positive Reaktion in der Basalmembran (BM), Pfeilspitzen: positive Reaktion mesenchymaler Fasern, SB: 25 µm;

**D: SSL 11,0 cm, Hintergliedmaße**, HE, Haaranlage (HA) mit dermaler Präpapille (DP), isoprismatisches Stratum basale (Sb), zweischichtiges Stratum intermedium (Si), flaches Periderm (Pd), Blutgefäße (BG) im Mesenchym, SB: 50 µm;

**E: SSL 11,0 cm, Scheitel**, Versilberung nach Gomori, Pfeilspitzen: Nervenfasern unterhalb des Stratum basale (Sb), Pfeile: Nervenfasern im Mesenchym und in der Adventitia eines Blutgefäßes (BG), SB: 25 µm;

**F: SSL 13,7 cm, Scheitel**, Alcianblau pH 2,5, Pfeilspitzen: starke positive Reaktion im subepidermalen Mesenchym (Ms), in tieferen Schichten positive Reaktion mittlerer Intensität, HA: Haaranlage, Sb: Stratum basale, DP: dermale Präpapille, SB: 50 µm.

### **1.5. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 14,5 cm**

Bei einer SSL von 14,5 cm besteht die Epidermis aus einem iso- bis hochprismatischen Stratum basale, einem zweischichtigen Stratum intermedium und einem flachen Periderm. Die PAS-Reaktion färbt in diesem Gewebeanteil stark das Periderm und schwach die unterlagernde Basalmembran an. Epidermale Knospen können im Bereich des Scheitels, des ventralen Rumpfes und der Vordergliedmaße in deutlicher Ausprägung als dicht gedrängt angeordnete Zellen im Stratum basale nachgewiesen werden. Unterhalb dieser Vorkeime ist das subepidermale Bindegewebe ebenfalls zellulär verdichtet. Im Gegensatz zum umliegenden Bindegewebe weisen diese Präpapillen keine Anfärbung mit Alcianblau auf. Das subepidermale Bindegewebe, dass sich mit Alcianblau (pH 2,5) stark anfärbt, zeigt im Gegensatz zum tiefer gelegenen eine etwas höhere Zelldichte. Die Trichrom-Färbung färbt nun im gesamten Bindegewebe gleichmäßig feine Bündel kollagener Fasern an.

### **1.6. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 15,3 cm**

Die fetale Entwicklungsstufe mit der SSL von 15,3 cm zeigt ein drei- bis vierschichtiges Stratum intermedium. Das Stratum basale sowie das Periderm erscheinen lichtmikroskopisch strukturell gegenüber dem Fetus mit der SSL 14,5 cm nicht verändert. Mit der PAS-Reaktion färbt sich das Stratum spinosum sowie das Periderm in mittlerer Intensität an. Die Basalmembran zeigt eine schwache Reaktion. Haaranlagen können bei dieser SSL in allen Hautarealen festgestellt werden, wobei im Scheitelareal bereits geringgradig ein Vordringen in die Dermis stattgefunden hat, also vom Beginn des Stadiums des Haarzapfens gesprochen werden kann. Eine Unterscheidung in außen und innen liegende Zellen am Haarzapfen ist hier jedoch noch nicht möglich. In den übrigen Hautarealen befinden sich die Haaranlagen noch im Vorkeimstadium. Die Bindegewebsfasern des Mesenchyms färben sich leicht mit der Trichrom-Färbung an (Abbildung 10: B). Auch die Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 zeigt vor allem im subepithelialen Bindegewebe eine mittlerer bis starke Reaktion. Auffallend ist, dass die dermale Präpapille von dieser Reaktion ausgespart bleibt (Abbildung 10: A). In der Haut der Vordergliedmaße ist sie mit vier bis fünf Zellschichten besonders deutlich ausgeprägt und lässt in diesem Hautareal bereits strukturelle Unterschiede zwischen zentral und peripher gelegenen Zellen erkennen. Die zentral gelegenen Zellen sind polymorph, während die peripher gelegenen Zellen spindelförmig mit einem ebenso geformten Zellkern sind (Abbildung 10: C). In den übrigen Hautarealen ist eine solche Differenzierung noch nicht möglich. Die dermale Präpapille weist hier lediglich ein bis drei Zelllagen auf (Abbildung 10: A, B).

### **1.7. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 15,7 cm**

In der Epidermis der fetalen Haut, bei einer SSL von 15,7 cm, ist das Stratum intermedium ein- bis dreischichtig. Weiterhin bleibt die positive PAS-Reaktion im Stratum intermedium sowie im Periderm erhalten und auch die Basalmembran lässt sich mit Hilfe dieser Färbung deutlich darstellen. Die Haaranlagen sind in allen Hautarealen noch nicht so weit entwickelt, dass eine Differenzierung in innere und äußere Zellen möglich wäre (Abbildung 10: D). Sie befinden sich noch im Vorkeimstadium. Ihre Basalmembran lässt sich ebenfalls mit Hilfe der PAS-Reaktion anfärben. Die Dermis enthält feine kollagene Faserbündel. Deutliche strukturelle Unterschiede zwischen subepidermalem und tiefem Bindegewebe sind allerdings nicht feststellbar. Mit Hilfe der Trichrom-Färbung lässt sich das Bindegewebe in seiner Gesamtheit schwach anfärben. Die Alcianblau-Färbung zeigt bei pH 2,5 weiterhin eine Anfärbung dieses Gewebeanteiles mit mittlerer bis starker Intensität. Im Bereich der dermalen Präpapille bleibt die Anfärbung, wie auch schon bei dem Fetus mit der SSL von 15,3 cm, aus.

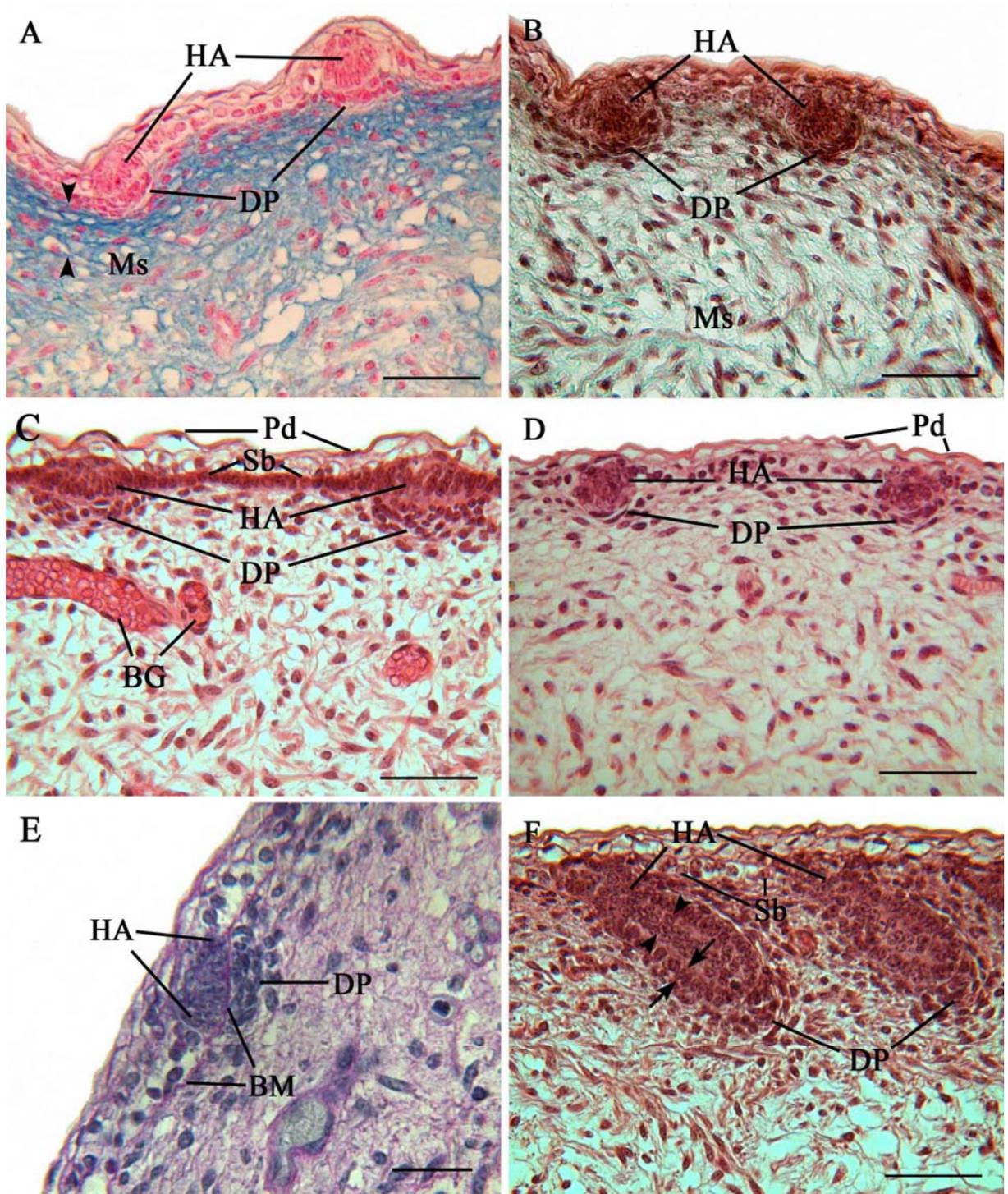
### **1.8. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 17,0 cm**

Die Epidermis ist im Bereich des ventralen Rumpfes durch ein Stratum intermedium, das drei bis fünf Zellschichten umfasst, gekennzeichnet. Alle anderen untersuchten Hautareale weisen in ihrem epidermalen Anteil nur ein bis zwei Zellschichten auf. Die Haaranlagen sind bei dieser SSL noch nicht in die Dermis gewachsen, sondern sind bestehen lediglich aus umschriebenen Zellansammlungen im Stratum basale. Das Stratum intermedium, das Periderm und das subepidermale Bindegewebe lassen sich in diesem Entwicklungsstadium nur schwach mit der PAS-Reaktion anfärben, während die Basalmembran eine Färbung mittlerer Intensität aufweist (Abbildung 10: E). Das Bindegewebe zeigt subepithelial relativ kleine Fibroblasten, demgegenüber im tiefen Bindegewebe Fibrozyten mit längeren Zellausläufern. Die Anfärbung mit Trichrom bzw. Alcianblau ist im Bindegewebe entsprechend der SSL 15,7 cm.

### **1.9. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 21,0 cm**

Der Fetus der SSL 21,0 cm zeigt eine Epidermis mit einem drei- bis fünfschichtigen Stratum intermedium, dessen Zellkerne rund-oval bis leicht abgeflacht sind. Der ventrale Rumpf ist das Areal mit den meisten Zellschichten in diesem epidermalen Anteil. Mit der PAS-Reaktion wird das Stratum intermedium sowie das Periderm angefärbt. Die Haarzapfen lassen in der Probe des Scheitels eine Wuchsrichtung in die Dermis erkennen, die in einem Winkel von ca. 45 Grad zur epidermalen Oberfläche steht. Bei den Proben, die aus dem ventralen Rumpf und aus der Vordergliedmaße stammen, ist dies bei den am weitesten entwickelten Haaranlagen sichtbar, während der dorsale Rumpf und die Hintergliedmaße noch keine Differenzierung der Wuchsrichtung zulassen. Auch lassen sich in allen Hautarealen, mit Ausnahme der Hintergliedmaße, zentrale von peripheren Zellen im Haarzapfen unterscheiden. Die zentralen Zellen zeigen eine runde bis ovale Zellform, während die peripher liegende Zellreihe aus iso- bis hochprismatischen Zellen besteht. Eine weitere epitheliale Bildung, die nun beginnt sich im Scheitelareal zu entwickeln, ist die Schweißdrüsenanlage. Sie ist als kleine Vorwölbung an der der epidermalen Oberfläche abgewandten Seite des Haarzapfens ausgebildet und besteht aus rund-ovalen Zellen. Das subepitheliale Bindegewebe färbt sich, verglichen mit den tiefer gelegenen Bindegewebsanteilen, etwas stärker mit Trichrom und Alcianblau mit pH 2,5 an. Die dermale Präpapille bleibt weiterhin von diesen Anfärbungen ausgenommen. Eine Struktur dermalen Ursprungs, die sich nun ebenfalls differenziert, ist die dermale Haarwurzelscheide, die sich in Form von ein bis zwei Zelllagen den peripheren Zellreihen der Haaranlage anlegt. Die dermale Haarwurzelscheide besteht aus spindelförmigen Zellen und geht in die periphere Zellschicht der dermalen Präpapille über (Abbildung 10: F).

Abbildung 10: Haut von bovinen Fetten mit einer SSL von 15,3 cm und 21,0 cm



Zwischen der SSL 15,3 cm und 21,0 cm beginnen die Haaranlagen in die Dermis vorzudringen und bilden Haarzapfen. Innere und äußere Zellpopulation können im Haarzapfen unterschieden werden.

**A: SSL 15,3 cm, Scheitel**, Alcianblau pH 2,5, Haaranlagen (HA) im Stadium des Haarzapfens und dermale Präpapillen (DP), Pfeilspitzen: starke positive Reaktion im subepidermalen Mesenchym (Ms), die dermalen Präpapillen (DP) zeigen keine Reaktion, das tiefere Mesenchym (Ms) weist eine positive Reaktion schwacher bis mittlerer Intensität auf, SB: 50 µm;

**B: SSL 15,3 cm, Scheitel**, Trichrom-Färbung, gleichmäßige schwache positive Reaktion im Mesenchym (Ms), HA: Haaranlagen, DP: Dermale Präpapillen, SB: 50 µm;

**C: SSL 15,3 cm, Vordergliedmaße**, HE, die Haaranlagen (HA) zeigen gegenüber A und B eine geringere Vorwölbung in das Mesenchym, Haaranlagen (HA) und Stratum basale (Sb) zeigen eosinophiles Zytoplasma, deutlich erkennbar sind die flachen Zellkerne der Zellen des Periderms (Pd), ausgeprägte dermale Präpapille (DP), Blutgefäße (BG) (Kapillaren im subepithelialen Mesenchym), SB: 50 µm;

**D: SSL 15,7 cm, Scheitel**, HE, Haaranlage (HA) ähnlich weit entwickelt wie bei A, Zytoplasma der Zellen der Haaranlage (HA) leicht eosinophil, Zytoplasma der Zellen des Stratum basale nur sehr schwach eosinophil, Periderm (Pd) deutlich erkennbar, dermale Präpapille (DP) nur schwach entwickelt, SB: 50 µm;

**E: SSL 17,0 cm, Scheitel**, PAS-Reaktion, Epidermis mit positiver Reaktion mittlerer Intensität, Basalmembran (BM) mit stark positiver Reaktion, Haaranlage (HA) und dermale Präpapille (DP) ähnlich weit entwickelt wie bei C, SB: 25 µm;

**F: SSL 21,0 cm, Scheitel**, HE, Haaranlagen (HA) deutlich weiterentwickelt, die Wuchsrichtung ist erkennbar, Pfeile: äußerer Anteil deutlich von innerem (Pfeilspitzen) unterscheidbar, außen iso- bis leicht hochprismatische Zellen, innen runde bis ovale Zellen, jeweils mit rundem Zellkern und eosinophilem Zytoplasma, Stratum basale (Sb) mit schwach eosinophilem Zytoplasma, die dermale Präpapille (DP) umgibt kappenartig das Ende des Haarzapfens, SB: 50 µm.

### **1.10. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 23,8 cm**

Die Epidermis besteht bei Feten mit einer SSL von 23,8 cm aus einem isoprismatischen Stratum basale, einem drei- bis vierschichtigen Stratum intermedium mit runden bis abgeflachten Zellkernen, sowie einem flachen Periderm. Das Stratum basale sowie das Stratum intermedium weisen bei der PAS-Reaktion eine Anfärbung mittlerer Intensität auf, während sich das Periderm sehr stark anfärbt. Auch die Basalmembran der Epidermis lässt sich deutlich darstellen. Nun kann in den Haarzapfen aller Hautareale deutlich zwischen zentralen und peripheren Zellen unterschieden werden. Wie bereits bei der SSL von 21,0 cm beschrieben, haben die zentralen Zellen eine runde Form während die peripheren Zellen eine leicht hochprismatische Form annehmen. Die Länge der Haaranlagen beträgt ca. 70 bis 100 µm und übertrifft nun in allen Hautarealen deren Breite. Die Hautproben des Scheitels und der Vordergliedmaße lassen Anlagen von Schweißdrüsen erkennen, die sich ebenso wie die des Scheitelareals bei der SSL 21,0 cm in Form von Ansammlungen rund-ovaler Zellen im oberen Bereich der Haaranlagen darstellen (Abbildung 11: A, B). Partiiell kann im Scheitel- und im Vordergliedmaßenbereich schon von Bulbuszapfen gesprochen werden, da hier durch eine leichte Einziehung im unteren Anteil der Haaranlage, die Ausbildung der Haarzwiebel erkennbar wird. Die Form der Haaranlagen in den übrigen Hautregionen entspricht der eines Haarzapfens. Die Basalmembran, die die Haar- und Schweißdrüsenanlage umgibt bzw. unterlagert, ist PAS-positiv. Das Bindegewebe ist subepithelial zellreicher als in tieferen Bindegewebsbereichen. Es färbt sich bei der Trichrom-Färbung (Abbildung 11: B), und der Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 leicht bis deutlich positiv an, wobei wiederum die dermale Präpapille keine Anfärbung zeigt. Die Versilberung nach Gomori zeigt dichte Nervenfasergeflechte in allen dermalen Anteilen, die die epidermalen Bildungen umgeben, also subepidermal, in der dermalen Haarwurzelscheide, in der dermalen Präpapille, sowie im Bindegewebe welches die Schweißdrüsenanlage umgibt (Abbildung 11: A).

### **1.11. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm**

Der Fetus der SSL 25,5 cm lässt ein drei- bis fünfschichtiges Stratum spinosum mit runden bis abgeflachten Zellkernen erkennen. Die PAS-Reaktion färbt die apikale Zellschicht des Stratum spinosum schwach und das Periderm stark an. Bei dieser SSL weisen die Haaranlagen im Bereich des Scheitels die größte Länge mit bis zu 160 µm auf (Abbildung 11: C). Darauf folgt die Vordergliedmaße, der ventrale Rumpf, die Hintergliedmaße (Abbildung 11: D) und schließlich der dorsale Rumpf, als die Hautregion mit dem zu diesem Zeitpunkt geringsten Entwicklungsstand. Bulbuszapfen sind im Scheitel in der Vordergliedmaße und am ventralen Rumpf zu beobachten (Abbildung 11: C), ansonsten handelt es sich bei den Haaranlagen um Haarzapfen (Abbildung 11: D). Die Haaranlagen weisen in allen untersuchten Körperarealen ein konvex geformtes Ende auf. Ihr Entwicklungsstand korreliert mit dem der Schweißdrüsenanlagen, so dass in der Scheitelregion Schweißdrüsenanlagen entwickelt sind, die bis auf die halbe Länge der Haaranlage in die Tiefe des Mesenchyms ziehen (Abbildung 11: C), während im dorsalen Rumpf noch keine Anzeichen von Schweißdrüsenanlagen erkennbar sind. Die Hautprobe der Hintergliedmaße weist lediglich kleine, zapfenförmige Zellansammlungen am subepidermalen Bereich der Haaranlagen auf (Abbildung 11: D), deren Entwicklung am ventralen Rumpf und der Vordergliedmaße, entsprechend der der Haaranlage, bereits weiter fortgeschritten sind. Eine Anfärbung im Rahmen der PAS-Reaktion ist in der Basalmembran, welche die Haar- und Schweißdrüsenanlage umgibt, nicht zu erkennen. Die dermale Präpapille ist bei diesem fetalen Entwicklungsstadium vor allem im Scheitelbereich besonders stark ausgeprägt. Hier liegen zwischen dem Ende des Haarzapfens und dem umgebenden Bindegewebe bis zu acht Zellschichten, die im äußeren Bereich aus spindelförmigen- ebenso, wie die dermale Haarwurzelscheide und im inneren Bereich aus rund-ovalen Zellen bestehen (Abbildung 11: C). Die übrigen Hautareale weisen mit maximal vier bis fünf Zellschichten eine wesentlich geringere Dicke der dermalen Präpapille auf (Abbildung 11: D). Die übrigen Anteile der sich entwickelnden Dermis sind durch eine zelldichte subepidermale Region mit deutlicher Anfärbung mit Alcianblau pH 2,5 und tiefere zellärmere Regionen ohne diese Anfärbung gekennzeichnet.

### **1.12. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 27,8 cm**

Die Epidermis dieser fetalen Entwicklungsstufe entspricht dem Aufbau der Epidermis des Fetus mit der SSL 25,5 cm. Die Haaranlagen sind nun in allen untersuchten Hautarealen ähnlich ausgebildet wie im Scheitelbereich bei der SSL 25,5 cm, haben also die Form eines Bulbuszapfens. Lediglich im Bereich des Scheitels sind die Haaranlagen bereits etwas weiter in die Tiefe der Dermis vorgewachsen. Das Ende der Haaranlage ist in diesem Entwicklungsstadium jedoch immer noch konvex geformt. Im Bereich des späteren Haarkanals lassen sich nun Zellen erkennen, die sich durch ihr leicht eosinophiles Zytoplasma und ihre geringere Größe von den Zellen des Stratum spinosum abgrenzen lassen. Ihre Morphologie ist vergleichbar mit den Zellen des Stratum basale und diese Zellpopulation erstreckt sich vom subepithelialen Ende der Haaranlage, bis in die mittleren Bereiche des Stratum spinosum. Eine Veränderung durch fortgeschrittene Entwicklung zeigen die Schweißdrüsenanlagen, die im Scheitelbereich auf die Höhe vorgewachsen sind, in der die beschriebene suprabulbäre Einziehung der Haaranlage erkennbar ist. Hinzu kommt eine beginnende Lumenbildung im tiefen Anteil des Drüsenschlauches. Diese fehlt bei den anderen Hautarealen noch, in denen die Schweißdrüse noch oberhalb der suprabulbären Einziehung der Haaranlage endet. Die dermalen Anteile betreffend ist keine deutliche Veränderung gegenüber dem Fetus der SSL 25,5 cm erkennbar. Auch hier ist die dermale Präpapille prägnant, sehr zell dicht und die Anfärbung mit Alcianblau bei pH 2,5 zeigt gegenüber vorhergehender Stadien keine Unterschiede (Abbildung 11: E).

### **1.13. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 29,0 cm**

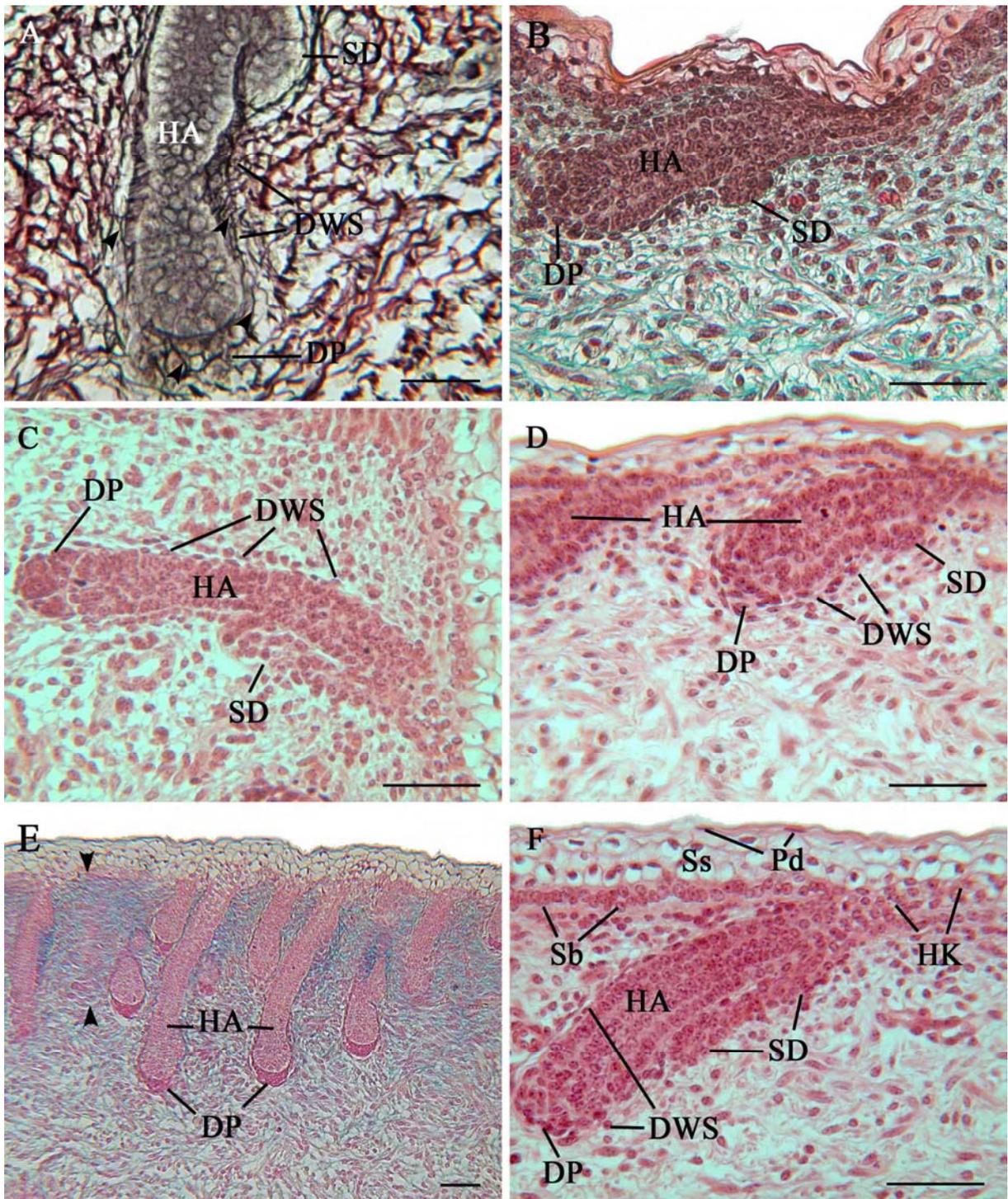
Die Epidermis beim Fetus mit einer SSL von 29,0 cm wird durch ein Stratum spinosum charakterisiert, das aus drei bis sechs Schichten besteht, wobei der ventrale Rumpf das Hautareal mit dem am stärksten ausgeprägten Stratum spinosum ist (vier bis sechs Schichten). Die basal gelegenen Zelllagen bestehen aus Zellen mit einem zumeist runden, zentral in der Zelle lokalisierten Zellkern, während die apikalen Zellschichten einen abgeflachten meist apikal in der Zelle liegenden Zellkern aufweisen. Wiederum färben sich durch die PAS-Reaktion das Stratum spinosum schwach und das Periderm stark an. Auch die Basalmembran der Epidermis ist mit dieser Methode deutlich erkennbar. Die Haaranlagen weisen, wie schon bei der vorhergehenden untersuchten SSL (27,8 cm) eine leichte suprabulbäre Einziehung auf. In der Haarzwiebel selbst sind bis auf den inneren, aus runden bis ovalen Zellen bestehenden Anteil und den aus hochprismatischen Zellen zusammengesetzten äußeren Bereich, wie auch am Rest der Haaranlage, noch keine weiteren Differenzierungen erkennbar. Die Zwiebel weist ein konvexes Ende auf. Der Haarkanal ist noch nicht ausgebildet. Bei diesem fetalen Entwicklungsstadium kann die Schweißdrüsenanlage nur bis zur halben Länge der zugehörigen Haaranlage verfolgt werden und ist somit noch nicht so weit vorgewachsen wie dies bei der SSL 27,8 cm der Fall ist. Die die Haaranlage umgebende Basalmembran ist nur im oberen Bereich, bis knapp unterhalb der Schweißdrüseneinmündung, mit der PAS-Reaktion darstellbar. Die dermale Präpapille ist in allen Hautarealen dieser SSL schwächer ausgeprägt als bei den beiden vorhergehenden SSL (SSL 25,5 cm und 27,8 cm) und besteht aus zwei bis vier Zelllagen. Die Dermis ist subepithelial, bis etwa auf die Höhe der Hälfte der Haaranlagen sehr zell dicht und lässt sich schwach mit Alcianblau pH

2,5 anfärben. Unterhalb dieses Bereiches ist der Anteil an extrazellulärer Matrix wesentlich höher und es ist keine Anfärbung mit Alcianblau erkennbar. Die Präpapille bleibt somit weiterhin frei von einer Reaktion bei dieser Färbung, aber auch der Anteil der dermalen Haarwurzelscheide, der im Färbungsbereich der subepidermalen Dermis liegt, zeigt keine Blaufärbung.

#### **1.14. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm**

Der Fetus der SSL 31,5 cm zeigt bezüglich der Entwicklung der Epidermis die gleichen Ergebnisse wie der Fetus mit einer SSL von 29,0 cm. Auch die PAS-Reaktion ist entsprechend ausgeprägt. Die subepidermale Basalmembran ist auch in diesem Entwicklungsstadium deutlich PAS-positiv. Die Haaranlagen und die Anlagen der Schweißdrüsen haben sich gegenüber einer SSL von 29 cm kaum weiter entwickelt. Nur am oberen Bereich der Haaranlagen weisen relativ kleine, runde bis ovale Zellen mit leicht eosinophilem Zytoplasma, die bis auf die halbe Höhe des Stratum spinosum vordringen, auf eine beginnende Differenzierung eines Haarkanals hin (Abbildung 11: F). Die Trichrom-Färbung und die Alcianblau-Färbung bei pH 2,5 führen zu einer Anfärbung schwacher bis mittlerer Intensität des subepidermalen Bindegewebes. Tiefer gelegenes Bindegewebe lässt sich zwar mit der Trichrom-Färbung anfärben, nicht aber mit der Alcianblau-Färbung.

Abbildung 11: Haut von bovinen Fetten mit einer SSL zwischen 23,8 cm und 31,5 cm



Zwischen der SSL 23,8 cm und 31,5 cm bilden sich die Anlagen der Schweißdrüsen und der Haarkanal lässt sich in den unteren Anteilen der Epidermis erkennen. Partiiell haben die Haaranlagen die Form eines Bulbuszapfens (die Haarzwiebel ist vom Follikelschaft leicht abgesetzt).

**A: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Gomori, Pfeilspitzen: Nervenfasern in der, die Haaranlage (HA) im Stadium des Bulbuszapfens umgebenden dermalen Haarwurzelscheide (DWS) sowie der dermalen Präpapille (DP), Schweißdrüsenanlage: SD, SB: 25 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Rumpf ventral**, Trichrom, positive Reaktion mittlerer Intensität im Mesenchym, Haaranlage (HA) mit zapfenartiger Schweißdrüsenanlage (SD), dermale Präpapille (DP) kappenartig, SB: 50 µm;

**C: SSL 25,5 cm, Scheitel**, HE, Haaranlage (HA) lang und schmal, Schweißdrüse (SD) schlauchförmig, dermale Haarwurzelscheide (DWS) ein- bis zweischichtig aus spindelförmigen Zellen mit ovalem Zellkern, dermale Präpapille (DP) stark ausgeprägt, SB: 50 µm;

**D: SSL 25,5 cm, Hintergliedmaße**, HE, im Vergleich zur Scheitelregion C minder entwickelte Haaranlage (HA), Schweißdrüse (SD) nur in Form einer kleinen Vorwölbung an der Haaranlage (HA) erkennbar, dermale Präpapille (DP) schwach entwickelt, dermale Haarwurzelscheide (DWS) unterhalb der Schweißdrüse (SD) entwickelt, SB 50 µm;

**E: SSL 27,8 cm, Scheitel**, Alcianblau pH 2,5, dermale Präpapille (DP) kappenartig, Pfeilspitzen: subepidermal positive Reaktion mittlerer Intensität, tiefer schwach positive Reaktion, HA: Haaranlage, SB: 50 µm;

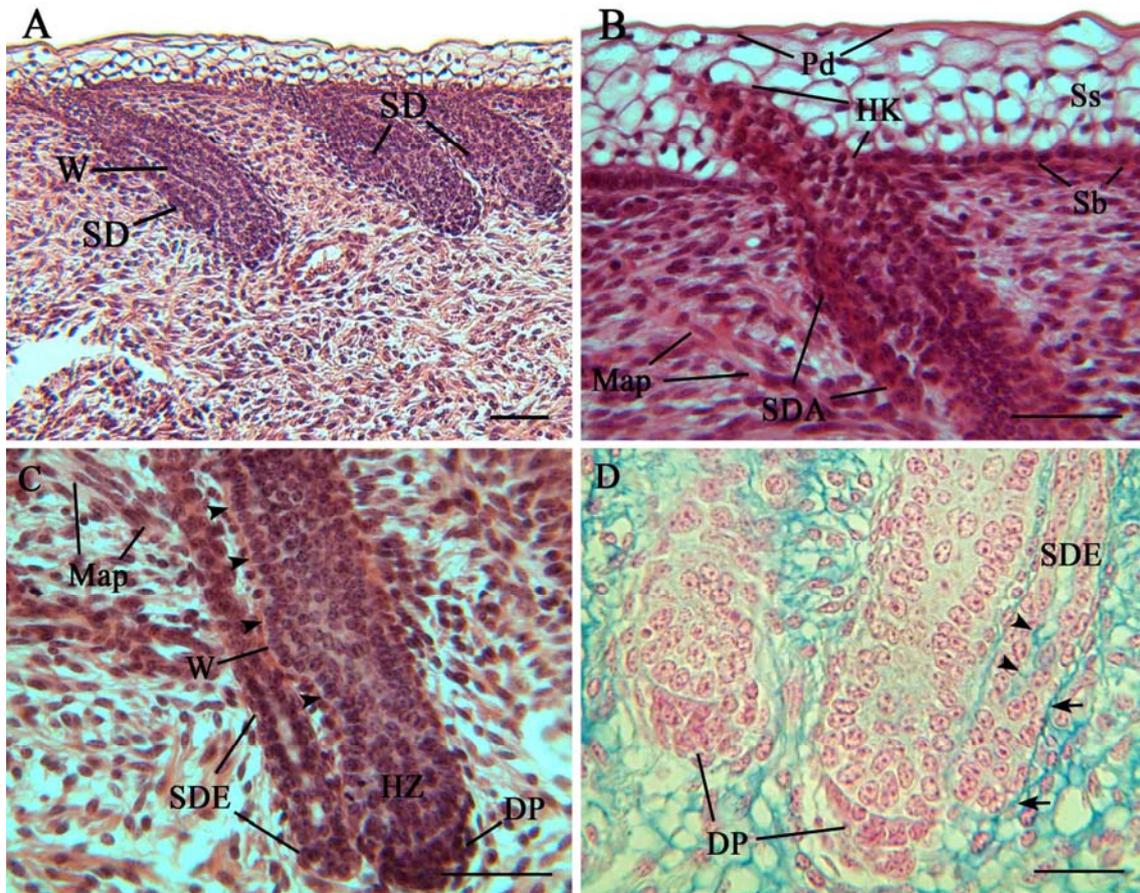
**F: SSL 31,5 cm, Hintergliedmaße**, HE, Stratum basale (Sb) mit eosinophilem Zytoplasma, dreischichtiges Stratum spinosum (Ss) ohne Anfärbung des Zytoplasmas, Periderm erkennbar, dermale Präpapille (DP) kappenartig, Schweißdrüse (SD) schlauchartig bis auf die halbe Länge der Haaranlage (HA) ohne Lumenbildung, runde Zellen vom oberen Ende der Haaranlage (HA) bis zu den unteren zwei Zellschichten des Stratum spinosum (Ss) als Beginn der Differenzierung des Haarkanals (HK), DWS: dermale Haarwurzelscheide, SB: 50 µm.

### **1.15. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 34,0 cm**

Die Epidermis zeigt in den Hautproben des Fetus mit der SSL 34,0 cm keine wesentlichen Änderungen im Vergleich zu den vorhergehenden untersuchten Entwicklungsstadien (SSL 29,0 cm und 31,5 cm). Eine deutliche Weiterentwicklung erfolgt jedoch bei den Haaranlagen. Hier ist besonders in der Scheitelregion der Haarwulst (auch Haarbeet) im mittleren Drittel der Haaranlage erkennbar, der sich in Form einer Vorwölbung, bestehend aus äußeren hochprismatischen Zellen und inneren runden bis ovalen Zellen, darstellt. Auch an der Vordergliedmaße sowie am dorsalen Rumpf lässt sich diese Struktur, wenn auch im Vergleich zum Scheitel nicht so weit entwickelt, erkennen. Die Haut des ventralen Rumpfes ebenso wie die Hintergliedmaße, zeigen in der Regel eine sehr geringe Ausbildung des Haarwulstes. In der Scheitelregion ergibt sich eine morphologische Änderung in der äußeren Zellpopulation der Haaranlage in Form einer hochprismatischen Zellreihe auf der Seite des Haarwulstes und einer isoprismatischen Zellreihe auf der wulstabgewandten Seite. In den anderen Hautarealen, mit noch geringerer Entwicklung des Haarwulstes, zeigt die äußere Zellpopulation durchgehend eine hochprismatische Form. Auch die Schweißdrüsenanlagen haben sich weiter differenziert: In der Scheitelregion als auch in der Region der Vordergliedmaße, ist am unteren Ende der Schweißdrüsenanlage eine leichte Lumenbildung zu erkennen. Das die Drüsenanlage umgebende Bindegewebe weist in allen Hautarealen eine Anfärbung mit Alcianblau bei pH 2,5 auf. Die Bildung des Haarkanals deutet sich bei dieser SSL im Bereich des Scheitels, des dorsalen Rumpfes sowie in der Haut der Vordergliedmaße an. Hier sind runde bis ovale Zellen mit leicht eosinophilem Zytoplasma erkennbar, die vom oberen Bereich der Haaranlage bis in die mittleren Schichten des Stratum spinosum vordringen. Entwicklungsvorgänge im dermalen Hautanteil sind die Ausbildung des Musculus arrector pili, der am Scheitel wie auch an der Vordergliedmaße identifiziert werden kann. Die dermale Präpapille zeigt sich in diesem Fetalstadium unverändert im Vergleich zur SSL 29,0 cm. Mit der Alcianblau-Färbung ist, wie bereits oben beschrieben, eine Anfärbung im Bindegewebe welches die Schweißdrüsen umgibt, zu beobachten, außerdem lässt sich eine Blaufärbung im subepithelialen Bindegewebe der Dermis erkennen und auch obere Bereiche der dermalen Haarwurzelscheide färben sich bei dieser SSL, wie das sie umgebende Bindegewebe, bis auf die Höhe des Haarwulstes an. In der übrigen Dermis deutet sich am Scheitel im subepidermalen Anteil eine oberflächenparallele Ausrichtung von kollagenen Fasern an, während diese in tieferen, dermalen Bereichen eine retikuläre Anordnung zeigen. In den übrigen untersuchten Hautarealen ist eine solche strukturelle Differenzierung noch nicht zu beobachten.

### **1.16. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 34,5 cm**

Die Epidermis dieses Entwicklungsstadiums ist durch ein iso- bis hochprismatisches Stratum basale mit leicht eosinophilem Zytoplasma, ein drei- bis sechsschichtiges Stratum spinosum sowie ein flaches Periderm gekennzeichnet. Das Stratum spinosum beinhaltet basale Zellreihen mit runden zentral bis apikal liegenden Zellkernen und apikale Zellreihen mit abgeflachten, apikal positionierten Zellkernen. Das Zytoplasma dieser Zellpopulation ist bei der Hämalaun-Eosin-Färbung (HE) nur schwach tingiert (Abbildung 12: A). Das Stratum spinosum ist schwach, das Periderm stark PAS-positiv. Am Scheitel sowie am dorsalen und ventralen Rumpf ist die äußere Haarwurzelscheide auf der Seite, auf der sich der Haarwulst befindet, hochprismatisch und auf der gegenüberliegenden Seite isoprismatisch. An der Haut der Vorder- und Hintergliedmaße sind beide Zellschichten hochprismatisch ausgebildet. Der Haarwulst selbst ist in allen Hautarealen nachweisbar (Abbildung 12: A, C). Die Haarzwiebel besitzt zu diesem Zeitpunkt in der Entwicklung immer noch ein konvexes Ende und lässt keine Differenzierungszonen für spätere Anteile der Haarwurzelscheide erkennen. Im Bereich des Scheitels und des ventralen Rumpfes ist die Schweißdrüsenanlage bis auf die Höhe der dermalen Präpapille herunter gewachsen und weist im unteren Bereich eine Lumenbildung auf. Das die Schweißdrüsenanlage umgebende Bindegewebe zeigt eine Blaufärbung mit Alcianblau bei pH 2,5. Auch die apikale Seite des Drüsenepithels lässt im Bereich des Lumens eine mittlere bis starke Reaktion im Rahmen dieser Färbung erkennen (Abbildung 12: D). In allen Hautarealen, mit Ausnahme des Scheitels, enden die Schweißdrüsenanlagen knapp oberhalb der sich entwickelnden Haarzwiebel. Bei dieser SSL ist in allen Hautarealen eine Differenzierung des Haarkanals zu erkennen (Abbildung 12: B). Im Bereich der Dermis ist als prägnante Weiterentwicklung die Ausbildung des Musculus arrector pili zu beobachten. Der Haarmuskel besteht in diesem Stadium noch aus nur wenigen glatten Muskelzellen (Abbildung 12: C).

**Abbildung 12: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 34,5 cm**

Bei der SSL 34,5 cm ist der Haarwulst am Bulbuszapfen erstmals erkennbar, die Schweißdrüsenendstücke haben ein kleines Lumen und der Musculus arrector pili beginnt sich zu bilden.

**A: SSL 34,5 cm, Hintergliedmaße, HE,** die Schweißdrüsenanlage (SD) ist partiell schlauchförmig bis auf den suprabulbären Bereich des Bulbuszapfens ohne Lumenbildung vorgewachsen, leichte Vorwölbung an der der Epidermis abgewandten Seite des Bulbuszapfens ca. auf halber Länge erkennbar (Haarwulst: W), SB: 50 µm;

**B: SSL 34,5 cm, Scheitel, HE,** deutliche Differenzierung des Haarkanals (HK) bis auf die halbe Höhe des Stratum spinosum (Ss) in Form kleiner rund-ovaler Zellen mit eosinophilem Zytoplasma, basale Zellschichten des Stratum spinosum (Ss) mit runden bis ovalen Zellkernen und apikale Zellschichten mit größeren Zellen, die einen abgeflachten Zellkern enthalten, Periderm (Pd) aus abgeflachten Zellen, Stratum basale (Sb) isoprismatisch und mit eosinophilem Zytoplasma, Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) enthält Zellen mit stark eosinophilem Zytoplasma, einzelne Fasern glatter Muskulatur als frühes Entwicklungsstadium des Musculus arrector pili (Map), SB: 50 µm;

**C: SSL 34,5 cm, Scheitel, HE,** Bulbuszapfen mit deutlicher Ausbildung eines Haarwulstes (W), Pfeilspitzen: wulstseitig ist die äußere Zellpopulation des Bulbuszapfens leicht hochprismatisch, Haarzwiebel (HZ) lässt sich gut abgrenzen, dermale Präpapille (DP) kappenartig, Schweißdrüse erreicht die Länge des Bulbuszapfens und es ist eine Lumenbildung, also eine Bildung des Endstückes (SDE) im unteren Bereich erkennbar, Musculus arrector pili (Map) deutlich erkennbar, SB: 50 µm;

**D: SSL 34,5 cm, Scheitel, Alcianblau pH 2,5,** positive Reaktion mittlerer Intensität in Fasern und amorpher Grundsubstanz des Mesenchyms, die dermalen Präpapillen (DP) bleiben von dieser Reaktion frei, Pfeilspitzen: positive Reaktion von Sekret in Schweißdrüsenendstück (SDE), Pfeile: positive Reaktion in Basalmembran des Schweißdrüsenendstückes (SDE), SB: 25 µm.

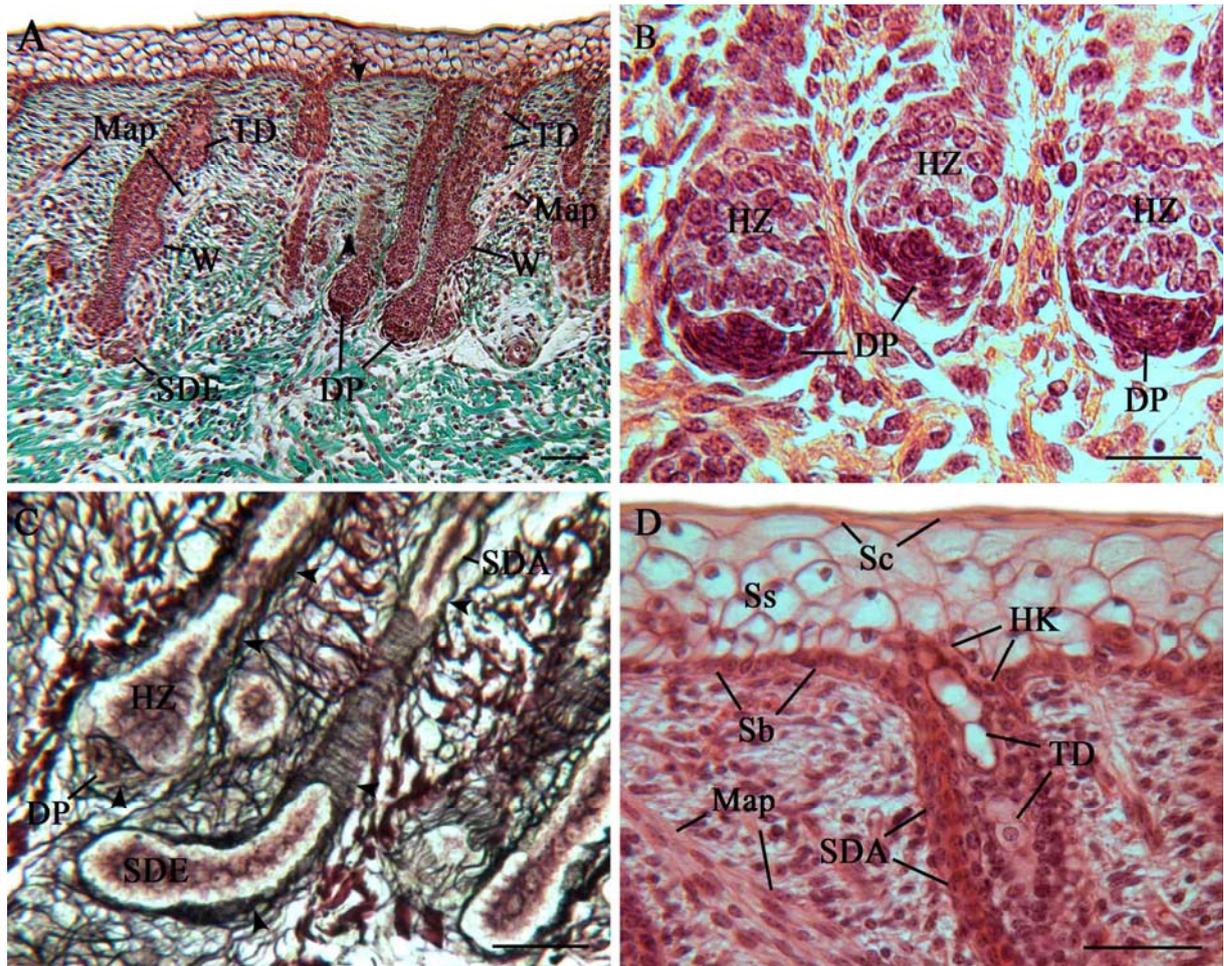
### **1.17. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 37,3 cm**

Als einzige prägnante Veränderung in der Epidermis im Vergleich zur vorhergehenden, untersuchten SSL (34,5 cm) ist eine leichte Keratinisierung, also eine beginnende Ausbildung des Stratum corneum in einigen Hautbereichen zu beobachten. Die Haaranlagenentwicklung schreitet in diesem Fetalstadium vor allem im Haarzwiebelbereich deutlich voran. Die Haarzwiebel ist im Scheitelbereich nun partiell konkav geformt und wird von der dermale Präpapille teilweise umschlossen (Abbildung 13: B). In den anderen Hautregionen ist lediglich eine Abflachung der sich entwickelnden Haarzwiebel zu beobachten. Die konvexe Form weicht somit einer geraden Fläche des dermalen Endes der Haaranlage. Der Haarwulst ist in den Bereichen des Scheitels des dorsalen und des ventralen Rumpfes stärker ausgeprägt als in der Haut der Vorder- und Hintergliedmaße (Abbildung 13: A). Auch die Differenzierung des Haarkanal schreitet voran. Die bereits beschriebenen, runden Zellen mit leicht eosinophilem Zytoplasma erreichen nun die apikalen Zellschichten des Stratum spinosum. In den apikalen Bereichen dieses epidermalen Anteiles kommt es zu einer leichten Keratinisierung. Diese Entwicklung ist in allen Hautarealen zu erkennen. In der Haaranlage ist bei der PAS-Reaktion eine Anfärbung im Haarkanal, dem subepithelialen Anteil der inneren Zellpopulation oberhalb der Schweißdrüsenmündung und in der Basalmembran, die die Haaranlage umgibt, zu beobachten. Die Schweißdrüsenanlagen sind in allen untersuchten Hautarealen bis auf die Höhe der Haarzwiebeln entwickelt und weisen auch in allen Arealen eine beginnende Lumenbildung auf. Die apikale Seite des Schweißdrüsenepithels und die das Epithel unterlagernde Basalmembran färben sich mit Alcianblau pH 2,5 an. Ab diesem Fetalstadium wird die Talgdrüsenanlage in Form kleiner Zellaggregate mit hellem Zytoplasma und runden zentral gelegenen Zellkernen erkennbar. Dies lässt sich in allen Hautarealen feststellen. Es sind jedoch noch nicht alle Haaranlagen mit einer Talgdrüsenanlage assoziiert und es können noch keine Anzeichen einer Degeneration der Talgdrüsenzellen beobachtet werden, die auf eine holokrine Sekretion hindeuten würden (Abbildung 13: A). Der Musculus arrector pili ist nun in allen Hautbereichen nachweisbar (Abbildung 13: A). Der subepitheliale Anteil der Dermis weist bis etwa auf die Höhe der Haarzwiebel eine höhere Zelldichte auf als dies in den tieferen, dermalen Anteilen der Fall ist. Einen Hinweis auf eine Änderung der Zusammensetzung saurer Mukosubstanzen ist darin zu sehen, dass nun zusätzlich zu der bisherigen Anfärbung mittlerer Intensität mit Alcianblau bei pH 2,5 nun auch eine schwache Anfärbung mit diesem Farbstoff bei pH 1,0 zu beobachten ist.

**1.18. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 41,4 cm**

Die Epidermis des fetalen Entwicklungsstadiums mit einer SSL von 41,4 cm enthält weiterhin ein isoprismatisches Stratum basale. Das drei- bis sechsschichtige Stratum spinosum enthält basale Zellschichten mit Zellen, die eine isoprismatische bis runde Form und zentrale bis apikal liegende, runde Zellkerne aufweisen. Die apikalen Zellschichten dieses epidermalen Anteiles bestehen aus größeren rund-ovalen Zellen mit einem meist apikal lokalisierten, abgeflachten Zellkern. Die oberste Zellschicht zeigt Anzeichen einer Keratinisierung. Sie lässt ein eosinophiles Zytoplasma erkennen und Zellkerne können nur selten nachgewiesen werden und erscheinen dann stark abgeflacht (Abbildung 13: D). Nur im Bereich der Hintergliedmaße ist das Periderm noch erkennbar, zudem fehlen Anzeichen von Keratinisierung in den obersten epidermalen Zellschichten. In der Haaranlage erfolgt die Ausbildung einer suprabulbär hochprismatischen äußeren Haarwurzelscheide mit nach apikal bzw. nach innen verschobenen ovalen Zellkernen. Die inneren Anteile der Haaranlage bestehen aus runden bis ovalen Zellen welche sich im subepithelialen Bereich deutlich mit der PAS-Reaktion anfärben lassen. An den Haarzwiebeln im Scheitelbereich ist teilweise eine leichte konkave Einstülpung erkennbar. Am dorsalen Rumpf kann lediglich ein Übergang von einer konvexen Form in eine abgeflachte Form des unteren Endes der Haaranlage festgestellt werden. Am ventralen Rumpf sowie an Vorder- und Hintergliedmaße ist die Haarzwiebel noch vollständig konvex geformt. Bei dieser SSL ist der Haarwulst deutlich ausgebildet, wobei der Scheitel die stärkste und der ventrale Rumpf die schwächste Ausprägung dieser epidermalen Struktur aufweist. Die den Haarkanal bildenden Zellen sind bis auf das oberste Drittel der Epidermis vorgewachsen und reagieren positiv bei Anwendung der PAS-Reaktion. Im Bereich der Schweißdrüsenanlagen ist eine deutliche Lumenbildung im Endstück zu erkennen, welches sich nun etwa auf der Höhe der Haarzwiebel befindet. Alcianblau mit pH 2,5 färbt sowohl die Basalmembran als auch das Drüsenepithel, dessen apikale Zellgrenzen eingeschlossen, an. Mit Alcianblau bei pH 1,0 färben sich hingegen nur die Basalmembran der Schweißdrüsenanlage und die apikalen Zellgrenzen im Endstück an. Das Zytoplasma des Drüsenepithels zeigt keine Blaufärbung. Die Anlagen der Talgdrüsen sind in allen untersuchten Hautarealen erkennbar. Sie bestehen allerdings nur aus wenigen Zellen. Im oberen Bereich der Drüsenanlage, die sich bis in den Haarkanal hinein verfolgen lässt, sind Anzeichen einer holokrinen Sekretion zu beobachten (Abbildung 13: D). Im unteren Bereich der Drüsenanlage sind die Zellen durch runde, zentralständige Zellkerne charakterisiert. Der Musculus arrector pili scheint schon etwas weiter entwickelt zu sein als bei einer SSL von 37,3 cm (Abbildung 13: D). Ansonsten ist die dermale Haarwurzelscheide nur noch im Bereich unterhalb der Talgdrüsenanlage deutlich ausgeprägt. Hier legen sich zwei bis drei Zellschichten flach den epidermalen Teilen der Haaranlage an, während im subepithelialen Anteil der Haaranlage keine deutliche Differenzierung zwischen der dermalen Haarwurzelscheide und dem umliegenden Bindegewebe aufgrund seiner Anordnung getroffen werden kann. Im Übrigen finden sich keine deutlichen Änderungen im Vergleich zur vorhergehenden SSL 37,3 cm.

Abbildung 13: Haut von bovinen Fetten mit einer SSL von 37,3 cm und 41,4 cm



Zwischen der SSL 37,3 cm und 41,4 cm nimmt die Haarzwiebel eine abgeflachte bis leicht konkave Form an, der Musculus arrector pili inseriert deutlich am Haarwulst und es sind erstmals Talgdrüsenanlagen erkennbar.

**A: SSL 37,3 cm, Scheitel**, Trichrom, Pfeilspitzen: subepidermales Bindegewebe schwache Anfärbung (zellreich und faserarm), tiefere dermale Anteile mittlere bis starke Anfärbung (faserreich), Musculus arrector pili (Map) inseriert am deutlich ausgeprägten Haarwulst (W), die Schweißdrüsenanlage übertrifft in ihrer Länge partiell die Haaranlage, Schweißdrüsenendstück (SDE) mit Lumenbildung, dermale Papille (DP) meist kappenartig, partiell Talgdrüsenanlagen (TD) bestehend aus einzelnen großen Zellen mit hellem Zytoplasma und rundem Zellkern, SB: 50 µm;

**B: SSL 37,3 cm, Scheitel**, HE, Haarzwiebeln (HZ) sind z.T. abgeflacht und z.T. konkav geformt und umgreifen damit partiell die dermale Papille (DP), SB: 25 µm;

**C: SSL 37,3 cm, Scheitel**, Versilberung nach Gomori, Pfeilspitzen: Nervenfasern um Schweißdrüsenendstück (SDE) und Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), sowie in der dermalen Haarwurzelscheide, die die Haaranlage (HA) umgibt und in der dermalen Papille (DP), SB: 25 µm;

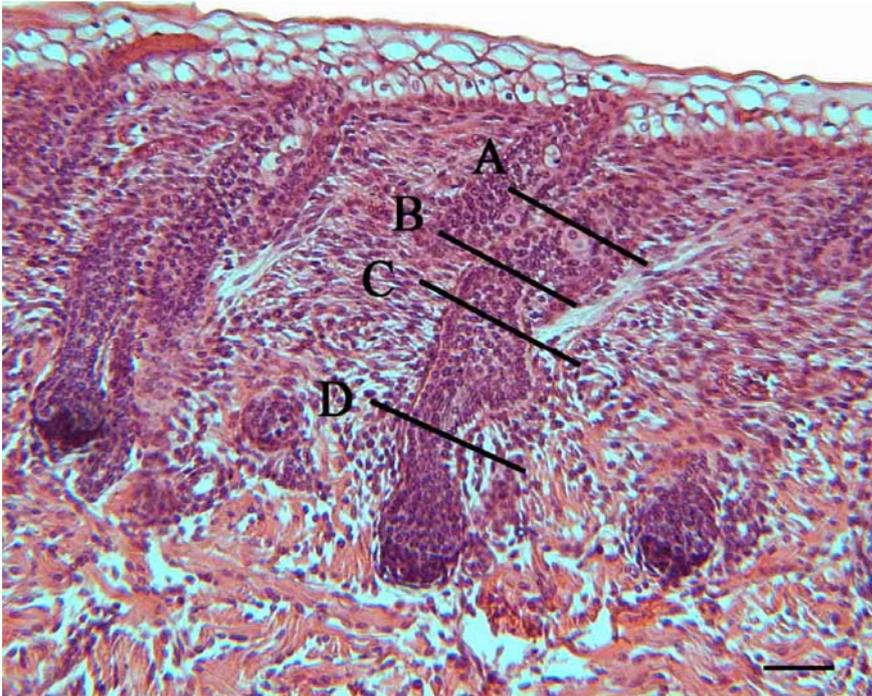
**D: SSL 41,4 cm, Scheitel**, HE, deutlicher Musculus arrector pili (Map), Stratum basale (Sb) mit eosinophilem Zytoplasma, Stratum spinosum (Ss) mit basal kleinen runden Zellen und apikal größeren Zellen, beginnende Keratinisierung in der apikalen Zellschicht der Epidermis (Sc), Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) mit stark eosinophilem Zytoplasma, Haarkanal (HK) (nicht ganz längs angeschnitten) enthält im unteren Bereich degenerierte Zellen der Talgdrüse (TD), SB: 50 µm.

### 1.19. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm

Gegenüber dem Entwicklungsstadium von 41,4 cm SSL hat sich die Haut in allen Regionen kaum verändert. In den Haaranlagen ist die äußere Haarwurzelscheide, ebenso wie bei der vorhergehenden SSL, suprabulbär hochprismatisch mit nach apikal verschobenen Zellkernen. Die inneren wie auch die äußeren Anteile der Haaranlage lassen sich subepidermal bis auf Höhe der Mündung der Talgdrüse mit Hilfe der PAS-Reaktion anfärben. Was die Haarzwiebel betrifft, so ist am Scheitel und am dorsalen Rumpf eine konkave Form zu erkennen, die eine leichte Umfassung der dermalen Papille bedingt. In den übrigen Hautarealen ist nur eine Abflachung der Haarzwiebel zu beobachten. Der Haarwulst ist in allen untersuchten Hautarealen deutlich ausgebildet und zeigt überall, die Hautprobe der Hintergliedmaße ausgenommen, eine leichte Einziehung, so dass er zweiteilig erscheint. In der Entwicklung des Haarkanals ist die fetale Haut in diesem Entwicklungsstadium am Scheitel und am dorsalen Rumpf am weitesten fortgeschritten. Er lässt sich hier bis knapp unter die epidermale Oberfläche verfolgen. Am ventralen Rumpf und der Vordergliedmaße endet der Haarkanal im oberen Drittel der Epidermis, während er an der Hintergliedmaße nur die Hälfte der epidermalen Zellschichten durchdringt. Es ist in diesem Bereich eine starke PAS-Reaktion nachweisbar. An der Entwicklung der Schweißdrüsen lassen sich keine Änderungen im Vergleich zur vorhergehenden SSL erkennen. Bei den Talgdrüsen lassen sich erste Anzeichen einer holokrinen Sekretion erkennen. In den übrigen Hautbereichen fehlen Hinweise hierauf. In den dermalen Anteilen dieses fetalen Entwicklungsstadiums sind keine deutliche Änderung gegenüber einer SSL von 37,3 und 41,4 cm zu beobachten.

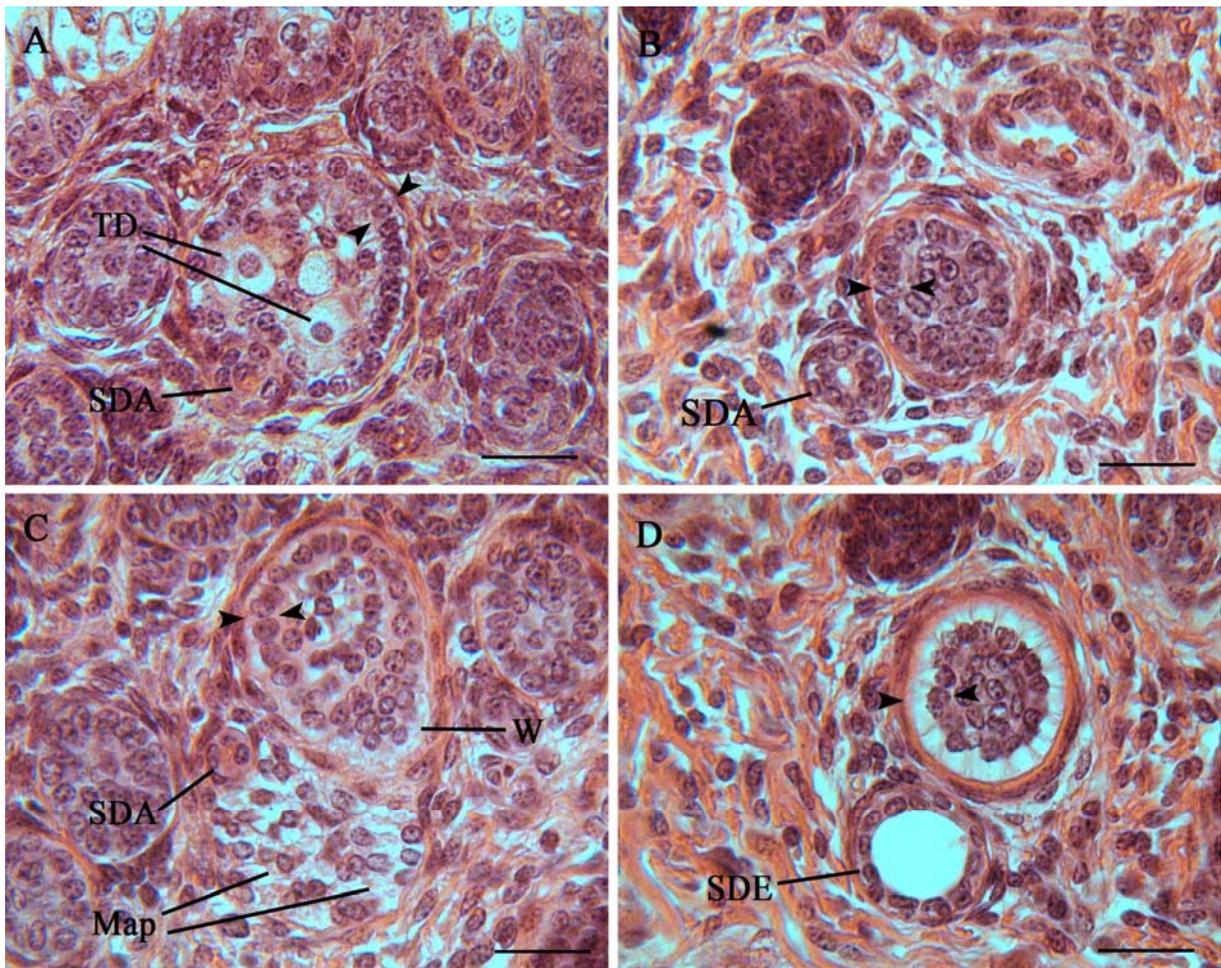
### **1.20. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,8 cm**

Im epidermalen Bereich ist bei dem Fetus der SSL 44,8 cm in allen untersuchten Hautarealen eine Keratinisierung der obersten Zellschichten zu beobachten. Hier erscheinen die Zellen als homogen eosinophile Schicht. Die Zellkerne sind nicht mehr erkennbar (Abbildung 16: A). Diese Zellschicht zeigt eine positive PAS-Reaktion. Das Periderm ist nun nicht mehr zu sehen. Ansonsten sind an der Epidermis keine größeren Unterschiede zu der vorhergehenden SSL 44,0 zu beobachten. Weiterentwicklungen in den Haaranlagen sind auf die äußere Haarwurzelscheide und insbesondere den Haarwulst beschränkt, der in diesem Entwicklungsstadium noch deutlicher ausgeprägter ist, als bei der vorhergehenden SSL 44,0 cm (Abbildung 14, Abbildung 15: C, Abbildung 16: B, D). Es lassen sich deutliche Unterschiede in der äußeren Haarwurzelscheide, bezogen auf die Lokalisation an der Haaranlage beobachten. Auf Höhe der Talgdrüse sind ihre Zellen hochprismatisch mit leicht ovalem Zellkern und schwach eosinophilem Zytoplasma (Abbildung 15: A). Im Bereich knapp oberhalb des Haarwulstes ist diese Zellpopulation eher isoprismatisch geformt (Abbildung 15: B), ebenso, wie im oberen Bereich des Haarwulstes (Abbildung 15: C). Im unteren Anteil des Haarwulstes zeigt die äußere Haarwurzelscheide vor allem wulstseitig eine deutliche hochprismatische Zellschicht mit nach apikal verschobenem Zellkern und hellem Zytoplasma. Diese morphologische Auffälligkeit setzt sich im suprabulbären Anteil der äußeren Haarwurzelscheide fort (Abbildung 14, Abbildung 16 B, D), wo die dem Haarwulst abgewandte Seite eine ähnliche Struktur annimmt (Abbildung 15: D). Der Haarkanal erreicht nun in allen Hautarealen die epidermale Oberfläche (Abbildung 16: A) und reagiert PAS- positiv. Am Scheitel übertreffen die Schweißdrüsen die Haaranlagen nun etwas an Länge, während an den anderen Hautarealen die Endstücke der Schweißdrüsen etwa auf gleicher Höhe mit der Haarzwiebel liegen. Mit Alcianblau bei pH 2,5 färben sich in diesem Gewebeanteil das Epithel der Schweißdrüsenendstücke mit der zugehörigen Basalmembran ebenso wie das in das Lumen abgegebene Sekret mit mittlerer Intensität an. Bei einem pH von 1,0 ist diese Anfärbung nur sehr schwach ausgeprägt. Eine Weiterentwicklung ist auch in den Talgdrüsenanlagen zu verzeichnen. Hier wird erstmals eine Aufteilung in zwei Drüsenanteile am ventralen Rumpf sowie an der Vordergliedmaße sichtbar. In den übrigen Hautregionen besteht die Drüse augenscheinlich aus nur einem Anteil. Gelegentlich kann in allen Hautarealen eine Degeneration der im Mündungsbereich liegenden Talgdrüsenzellen beobachtet werden. Die dermalen Anteile betreffend ist bei dieser SSL eine besonders stark ausgeprägte dermale Papille zu beobachten (Abbildung 16: B). Weitere Veränderungen sind das erstmalige Auftreten von Melanozyten am dorsalen Rumpf im Bereich der Haarzwiebel und an Vorder- und Hintergliedmaße in der äußeren Haarwurzelscheide und den Talgdrüsenanlagen (Abbildung 16: C, D). Freie Zellen können ebenfalls erstmalig am ventralen Rumpf im subepidermalen Bindegewebe differenziert werden. Sie zeigen eine Anfärbung mit Alcianblau pH 1,0.

**Abbildung 14: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm**

Übersicht über eine Haaranlage kurz vor dem Beginn der Bildung eines Haarkegels.

Scheitel, HE, Übersicht über die Querschnittebenen der Abbildung 15 A-D, SB: 50 µm.

**Abbildung 15: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm**

Übersicht über Haaranlagen und ihre zugehörigen Schweiß- und Talgdrüsenanlagen kurz vor dem Beginn der Haarkegelbildung in verschiedenen Querschnittsebenen.

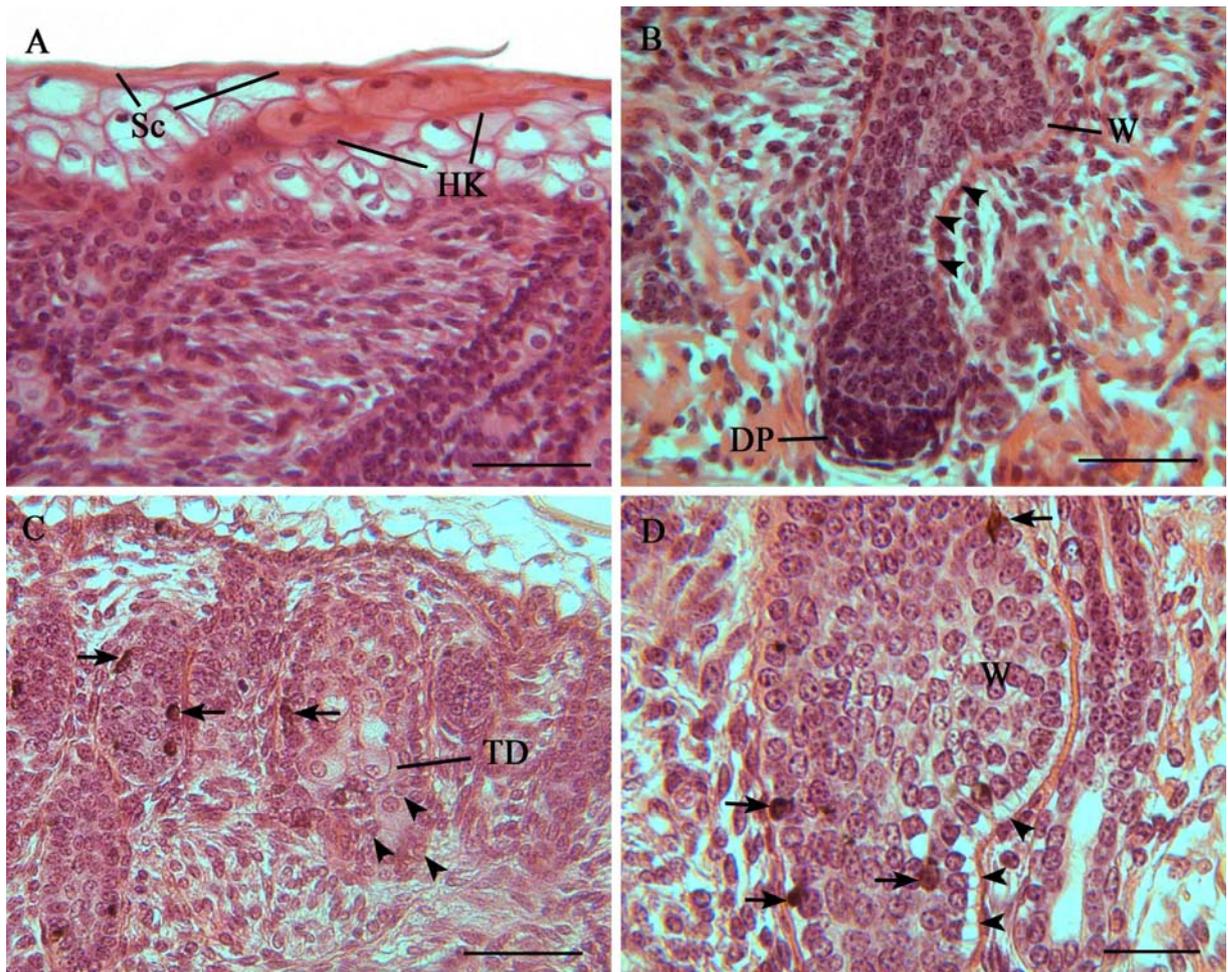
Entsprechende Querschnittebenen siehe Abbildung 14;

**A: SSL 44,8 cm, Rumpf ventral, HE**, Querschnitt durch eine Haaranlage auf Höhe der Talgdrüse (TD), Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) mit engem Lumen, Talgdrüse (TD) mit großen runden Zellen mit großem runden Zellkern und hellem Zytoplasma, Pfeilspitzen: äußere Haarwurzelscheide aus leicht hochprismatischen Zellen mit ovalem Zellkern und leicht eosinophilem Zytoplasma, innere Zellpopulation besteht aus runden bis ovalen Zellen mit leicht eosinophilem Zytoplasma, SB: 25 µm;

**B: SSL 44,8 cm, Rumpf ventral, HE** Querschnitt durch eine Haaranlage knapp oberhalb des Haarwulstes, Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) mit geringem Lumen, Pfeilspitzen: äußere Haarwurzelscheide iso- bis leicht hochprismatisch mit runden bis ovalen Zellkernen und leicht eosinophilem Zytoplasma, SB: 25 µm;

**C: SSL 44,8 cm, Rumpf ventral, HE** Querschnitt durch eine Haaranlage im oberen Bereich des Haarwulstes (W), Haarwulst enthält runde bis ovale Zellen, Pfeilspitzen: äußere Haarwurzelscheide mit iso- bis leicht hochprismatischen Zellen, innere Zellpopulation mit leicht eosinophilem bis hellem Zytoplasma, Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) sehr kleines Lumen, Musculus arrector pili (Map) enthält glatte Muskelzellen mit hellem Zytoplasma und ovalen Zellkernen, SB: 25 µm;

**D: SSL 44,8 cm, Rumpf ventral, HE** Querschnitt durch eine Haaranlage im suprabulbären Bereich, Pfeilspitzen: äußere Haarwurzelscheide deutlich hochprismatisch mit hellem Zytoplasma und nach apikal verschobenen Zellkernen, innere Zellpopulation mit runden bis ovalen Zellen, eosinophilem Zytoplasma und rundem bis ovalen Zellkern, Schweißdrüsenendstück (SDE) mit großem Lumen, SB: 25 µm.

**Abbildung 16: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm**

Bei der SSL 44,8 cm lässt sich der Haarkanal bis zur Oberfläche der Epidermis verfolgen. Der Haarwulst ist stark ausgeprägt, jedoch nicht deutlich segmentiert und es können partiell Melanozyten in der äußeren Haarwurzelscheide beobachtet werden.

**A: SSL 44,8 cm, Scheitel**, HE, Keratinisierung im sich differenzierendem Haarkanal (HK), Keratinisierung der obersten epidermalen Zellschichten (Sc), SB: 50  $\mu\text{m}$ ;

**B: SSL 44,8 cm, Scheitel**, HE deutliche Ausbildung des Haarwulstes (W), Pfeilspitzen: äußere Haarwurzelscheide (äHWS) zwischen dem Haarwulst (W) und der Haarzwiebel wulstseitig hochprismatisch mit nach apikal verschobenen Zellkernen und hellem Zytoplasma, die dermale Präpapille (DP) ist stark ausgeprägt, SB: 50  $\mu\text{m}$

**C: SSL 44,8 cm, Vordergliedmaße**, Pfeilspitzen: in den Talgdrüsen (TD) sind Basalzellen zu beobachten, die im Vergleich zu den übrigen Zellen des Drüsenepithels wesentlich kleiner sind, Pfeile: Melanozyten in der äußeren Haarwurzelscheide, SB: 50  $\mu\text{m}$

**D: SSL 44,8 cm, Hintergliedmaße**, Pfeilspitzen: hochprismatische Zellen mit nach apikal verschobenem Zellkern und hellem Zytoplasma im unteren Anteil des Haarwulstes sowie im suprabulbären Bereich der äußeren Haarwurzelscheide, Pfeile: Melanozyten in der äußeren Haarwurzelscheide, SB: 25  $\mu\text{m}$ .

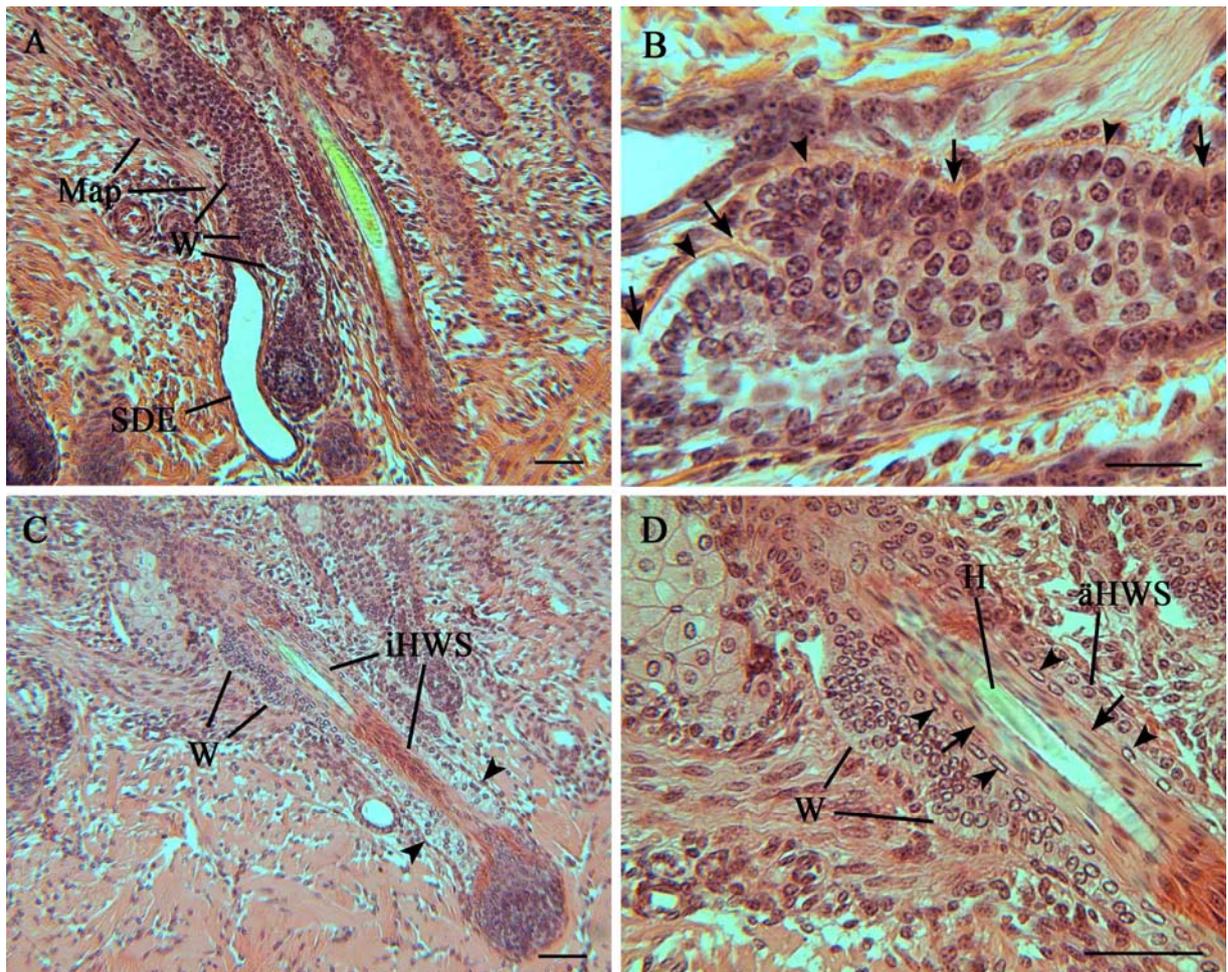
### **1.21. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 49,0 cm**

Es sind bei dieser SSL keine Veränderungen in der Epidermis im Vergleich zu dem Fetus der SSL 44,8 cm zu beobachten. Auch hier ist das Stratum basale isoprismatisch, das Stratum spinosum besteht aus drei bis sechs Schichten, mit wie bei der SSL 41,4 cm beschriebener Struktur und die oberen Zellschichten weisen ebenfalls Zeichen einer Keratinisierung auf. Das Periderm ist nicht mehr vorhanden. Die PAS-Reaktion führt weiterhin zu einer Anfärbung der Basalmembran, des Stratum spinosum und des sich nun entwickelnden Stratum corneum. Die Haaranlagen betreffend ist zu beobachten, dass die äußere Haarwurzelscheide nun iso- bis leicht hochprismatisch erscheint, wobei suprabulbär auf der Seite des Haarwulstes verstärkt eine hochprismatische Zellform mit leicht nach apikal verschobenen Zellkernen vorkommt. Die Haarzwiebeln weisen bei dieser SSL lediglich eine leichte Abflachung auf und der Haarwulst ist in allen Hautarealen deutlich, aber nur einteilig ausgebildet, wobei er an der Hintergliedmaße am kleinsten ist. Der Haarkanal hat die Epitheloberfläche noch nicht erreicht. Im Bereich der Talgdrüsenanlagen kann lediglich am dorsalen Rumpf bereits von einer zweigeteilten Drüse gesprochen werden. Die PAS-Reaktion ist in den Basalzellen der Talgdrüsen positiv, die hierdurch erstmals deutlich von anderen Zellpopulationen unterscheidbar werden. Die dermalen Anteile betreffend sind keine Unterschiede zu der vorhergehenden fetalen Größe mit der SSL 44,8 cm zu beobachten. Auch hier finden sich wenige freie Zellen, die sich mit Alcianblau bei pH 1,0 anfärben lassen.

### **1.22. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 57,6 cm**

Der Fetus mit einer SSL von 57,6 cm lässt erstmals in den Standardfärbungen ein Stratum granulosum erkennen. In allen Hautarealen, die Hintergliedmaße ausgenommen, wird diese epidermale Zellschicht sichtbar, die durch runde bis ovale Zellen mit runden bis abgeflachten Zellkernen und basophilen Granula gekennzeichnet sind. Am Scheitel und am dorsalen Rumpf ist durchgehend ein dünnes Stratum corneum feststellbar (Abbildung 18: D). Alle anderen Hautareale lassen dieses nur partiell erkennen. In der Epidermis färbt die PAS-Reaktion die apikalen Anteile des Stratum spinosum sowie das Stratum granulosum durchgehend in mittlerer bis starker Intensität an, während das Stratum corneum nur partiell eine starke Reaktion aufweist. Auch die Basalmembran lässt sich durch die PAS-Reaktion leicht anfärben. Bedeutsame Weiterentwicklungen finden sich in den Haaranlagen. Am Scheitel und dem dorsalen Rumpf ist nun partiell ein Haarkegel, der durch Keratinisierungsvorgänge in der inneren Haarwurzelscheide gebildet wird, zu beobachten. Vereinzelt findet man auch vollständig entwickelte Haare. An der Vordergliedmaße ist die Entwicklung nur bis zum Stadium des Haarkegels vorangeschritten und am ventralen Rumpf und der Hintergliedmaße sind noch keine Anzeichen einer Haarbildung feststellbar. Mit der ersten Haarbildung gehen auffällige Veränderungen an der inneren und äußeren Haarwurzelscheide sowie am Haarwulst einher. Bevor ein Haarkegel erkennbar ist erscheint der Haarwulst ausgesprochen prominent und lässt sich in drei verschiedene Anteile untergliedern (Abbildung 17: A, B), die durch unterschiedlich starke Einziehungen voneinander abgesetzt sind. In den beiden oberen Anteilen sind in der äußeren Zellschicht iso- bis leicht hochprismatische Zellen mit eosinophilem Zytoplasma und runde bis ovale Zellkernen zu

beobachten. Im inneren Bereich haben die Zellen eine runde bis ovale Form, mit ebenso geformten Zellkernen und weisen ebenfalls ein eosinophiles Zytoplasma auf. Im Gegensatz hierzu ist der unterste Anteil des Haarwulstes durch eine hochprismatische Zellschicht mit hellem Zytoplasma und nach innen verschobenen Zellkernen charakterisiert und geht in Richtung Haarzwiebel in die suprabulbäre äußere Haarwurzelscheide über, die durch die gleiche Morphologie gekennzeichnet ist. In den Haaranlagen mit einem Haarkegel oder späteren Entwicklungsstufen des Haares ist der Haarwulst weniger ausgeprägt und besteht aus ein bis zwei Anteilen (Abbildung 17: C, D). Der unterste, dritte Anteil ist in dieser Form nicht mehr darstellbar. Häufig lässt sich jedoch suprabulbär eine zwei- bis dreischichtige, also verdickte äußere Haarwurzelscheide erkennen (Abbildung 17: C, Abbildung 18: C). Mit beginnender Entwicklung der Haare lassen sich nun auch die äußere Henle- und die innere Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide voneinander differenzieren (Abbildung 17: D; Abbildung 18: A, B). Am entwickelten Haar zeigt das Haarmark mit ovalen, quer zur Längsachse des Haares ausgerichteten, leicht eosinophilen Zellen mit ovalen Zellkernen, die Haarrinde mit spindelförmigen, längs zu Längsachse angeordneten, stark eosinophilen Zellen mit spindelförmigem Zellkern und die Haarkutikula mit dachziegelartig schräg aneinander liegenden Zellen, deren Zytoplasma suprabulbär nur leicht eosinophil erscheint und ovale Zellkerne enthält (Abbildung 18: B). Auch der Haarkanal, der stark positiv auf die PAS-Reaktion reagiert ist nun vollständig ausgebildet und bietet mit seinen keratinisierten Begrenzungen den Durchtritt für das Haar durch die gesamte Epidermis. Mit der PAS-Reaktion färben sich das Infundibulum und der Isthmus bis zum obersten Anteil des Haarwulstes an. Die Basalmembran unterliegt besonders im suprabulbären Teil der Haaranlage einer stark positiven Reaktion und auch das Haarmark reagiert deutlich positiv. Was die Hautdrüsen anbetrifft so besitzen die Schweißdrüsen ein wesentlich größeres Lumen im Endstück als bei den vorhergehenden SSL (Abbildung 17: A; Abbildung 18: C). Hier färbt die PAS-Reaktion die Basalmembran, das Epithel und das sezernierte Sekret an und auch mit Alcianblau reagieren diese Gewebeanteile bei pH 2,5 stark (Abbildung 18: C) und bei pH 1,0 schwach. Die Talgdrüsenanlage lässt nun in allen Hautarealen partiell zwei Drüsenalveolen erkennen deren Basalzellen sich schwach PAS-positiv anfärben. Eine auffällige Veränderung im Bereich der Dermis ist die deutlich positive Reaktion der dermalen Papille mit Alcianblau bei pH 2,5 (Abbildung 18: C).

**Abbildung 17: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 57,6 cm**

Bei der SSL 57,6 cm ist der Haarwulst kurz vor Beginn der Haarbildung stark ausgeprägt und last verschiedene Segmente erkennen. Mit dem Beginn der Haarbildung nimmt seine Größe ab.

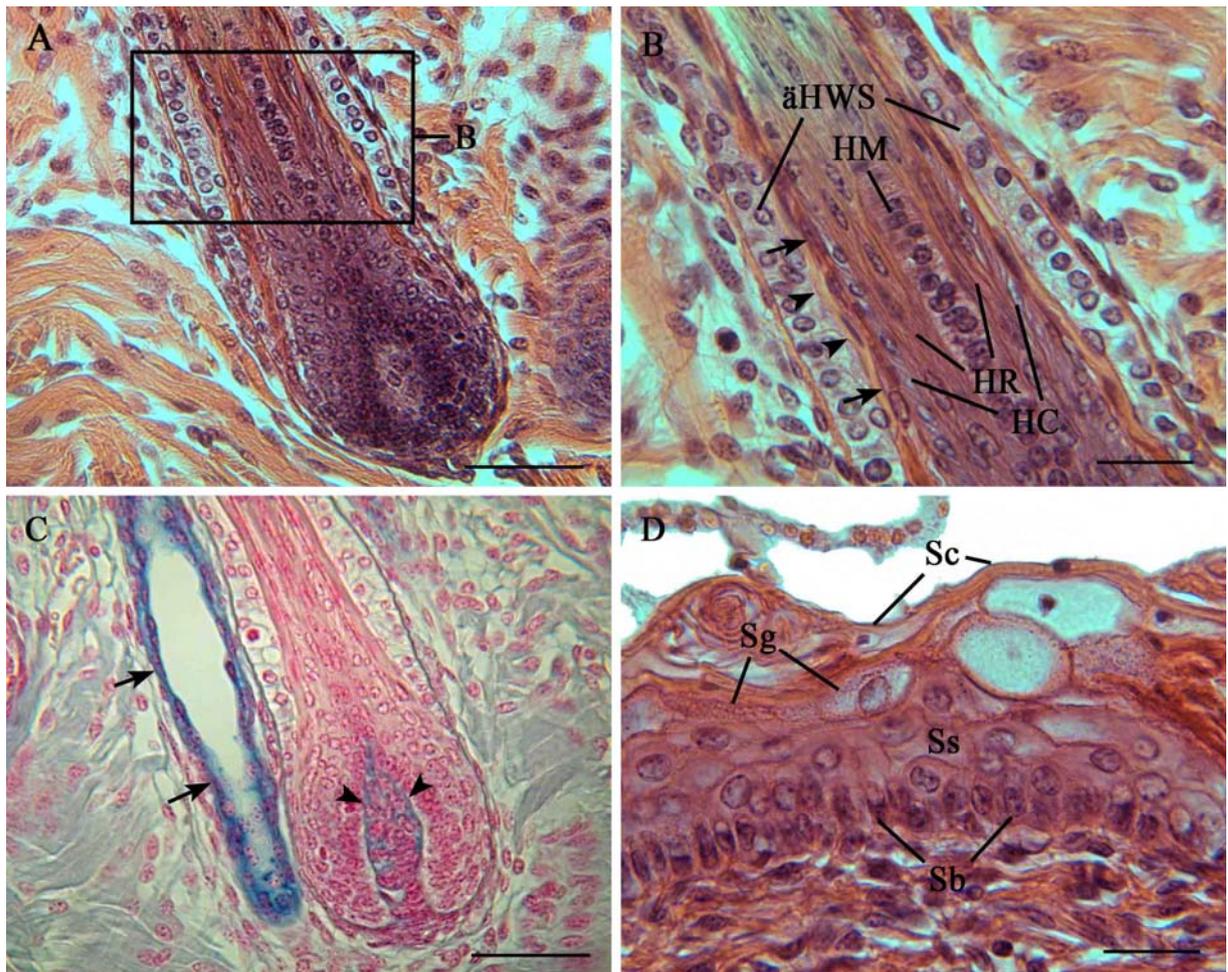
A-D: SSL 57,6 cm, HE

**A: SSL 57,6 cm, Scheitel, HE,** Haaranlage mit sehr stark ausgeprägtem Haarwulst (W) und an diesem inserierender Musculus arrector pili (Map), keine Anzeichen einer deutlichen Keratinisierung in der inneren Haarwurzelscheide, das Schweißdrüsenendstück (SDE) weist ein deutliches Lumen auf und übertrifft in seiner Länge die Haaranlage, SB: 50 µm;

**B: SSL 57,6 cm, Scheitel, HE,** Vergrößerung des Haarwulstes aus Bild A, Pfeilspitzen: der Haarwulst ist in diesem Entwicklungsstadium dreiteilig, der untere Anteil setzt sich histomorphologisch von den zwei oberen Anteilen durch hochprismatische Zellen mit hellem Zytoplasma und nach apikal verschobenem Zellkern in der äußersten Zellschicht ab, SB: 25 µm;

**C: SSL 57,6 cm, Rumpf dorsal, HE,** Haaranlage mit einem zweiteiligen Haarwulst (W), beginnende Keratinisierung der inneren Haarwurzelscheide, Pfeilspitzen: die äußere Haarwurzelscheide (aHWS) erscheint suprabulbär verdickt und besteht hier aus iso- bis hochprismatischen Zellen mit hellem Zytoplasma, SB: 50 µm;

**D: SSL 57,6 cm, Rumpf dorsal, HE,** Vergrößerung aus Bild D, zweiteiliger Haarwulst (W) mit runden bis ovale Zellen, die ein leicht eosinophiles Zytoplasma besitzen, differenzierbar sind nun das Haar (H), die äußere Haarwurzelscheide (aHWS) mit isoprismatischen Zellen, die stark keratinisierte Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide (Pfeile), sowie die Henle-Schicht der inneren Haarwurzelscheide (Pfeilspitzen), SB: 50 µm.

**Abbildung 18: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 57,6 cm**

Partiell sind bei der SSL 57,6 cm bereits alle Anteile einer Haaranlage im Anagen erkennbar. Alcianblau mit pH 2,5 färbt deutlich das Schweißdrüsenendstück und die dermale Papille an. In der Epidermis lassen sich das Stratum granulosum und das Stratum corneum differenzieren.

**A: SSL 57,6 cm, Scheitel, HE,** Übersicht über den bulbären und suprabulbären Anteil einer Haaranlage, Lokalisation Bild B, SB: 50 µm;

**B: SSL 57,6 cm, Scheitel, HE,** suprabulbärer Bereich einer Haaranlage, äußere Haarwurzelscheide (äHWS) besteht aus iso- bis leicht hochprismatischen Zellen mit rundem zentralen Zellkern und hellem bis leicht eosinophilem Zytoplasma, Pfeilspitzen: Henle-Schicht der inneren Haarwurzelscheide aus flachen Zellen mit spindelförmigem Zellkern und eosinophilem Zytoplasma (Keratinisierung), Pfeile: Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide aus flachen Zellen mit ovalem Zellkern und eosinophilem Zytoplasma, die Haarkutikula (HC) weist in diesem Bereich noch keine vollständige Keratinisierung auf, Zellen mit ovalem Zellkern und leicht eosinophilem Zytoplasma liegen in spitzem Winkel zur Haarrinde, die Haarrinde (HR) besteht aus längs zur Haarwuchsrichtung ausgerichteten spindelförmigen Zellen mit spindelförmigem Zellkern und zeigt eine deutliche Keratinisierung, das Haarmark (HM) besteht aus ovalen Zellen, die quer zur Haarachse liegen und einen ovalen Zellkern sowie leicht eosinophiles Zytoplasma besitzen, SB: 25 µm;

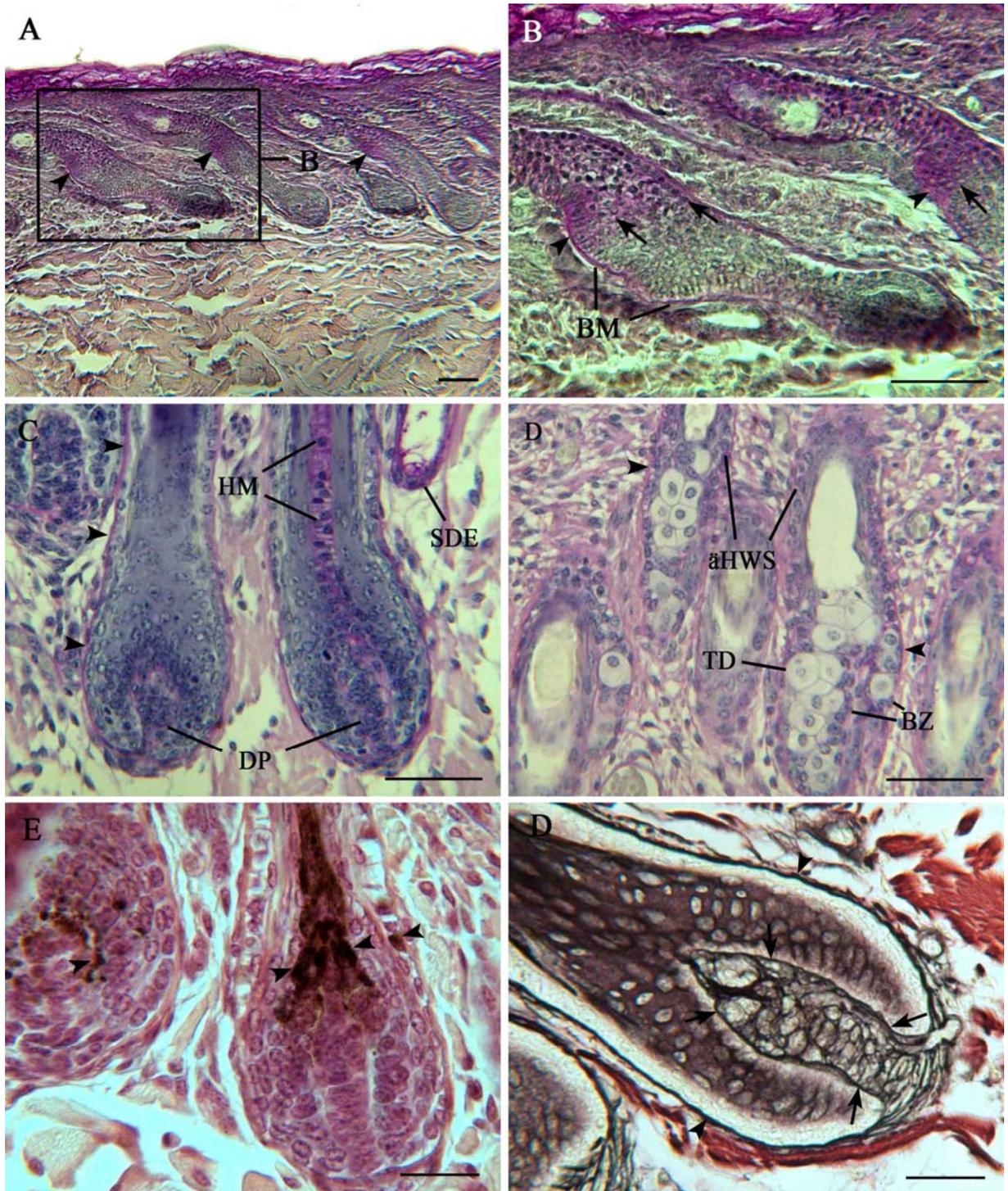
**C: SSL 57,6 cm, Scheitel, Alcianblau mit pH 2,5,** Pfeile: mittlere bis starke Intensität der Färbung im Epithel des Schweißdrüsenendstücks, Pfeilspitzen: Färbung mittlerer Intensität in der dermalen Papille, SB: 50 µm;

**D: SSL 57,6 cm, Scheitel, HE,** Epidermis mit iso- bis hochprismatischem Stratum basale (Sb), Stratum spinosum (Ss) mit ovalen Zellen, basal kleiner als apikal, Stratum granulosum (Sg) mit ovalen großen Zellen, die feine basophile Granula und einen großen runden bis abgeflachten Zellkern besitzen, Stratum corneum (Sc) mit starker Keratinisierung, abgeflachte Zellen mit pyknotischem Zellkern, partielle Abschilferungen, SB: 25 µm.

### **1.23. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 58,0 cm**

Bei dem Fetus mit der SSL 58,0 cm sind in der Epidermis keine bedeutsamen Veränderungen gegenüber dem Fetus mit der SSL 57,6 cm zu erkennen. Zwischen den verschiedenen Hautarealen variiert jedoch die Ausprägung der PAS-Reaktion und lässt darauf schließen, dass die Entwicklung am Scheitel am weitesten fortgeschritten ist. Hier stellt sich die Anfärbung genauso dar, wie bereits bei der SSL 57,6 cm beschrieben (Abbildung 20: A), während bei den übrigen Hautarealen noch die gesamte Epidermis gleichmäßig stark angefärbt ist (Abbildung 19: A). Mit Hilfe der PAS-Reaktion mit Amylase-Vorbehandlung lässt sich deutlich darstellen, dass die positive Reaktion im Stratum spinosum, Stratum granulosum und zum größten Teil auch im Stratum corneum spezifisch für Glykogen ist (Abbildung 19: B). Ebenso wie in der Epidermis ist auch in den Haaranlagen keine grundlegende Änderung in der Entwicklung im Vergleich zur SSL 57,6 cm zu beobachten. Auch hier variiert der Entwicklungsstand von Haaranlagen zwischen fehlender Keratinisierung in der inneren Haarwurzelscheide mit ausgeprägtem Haarwulst bis hin zur vollständigen Ausbildung aller Zellpopulationen eines anagenen Haarfollikels. Die hiermit verbundenen Veränderungen entsprechen denen bei der SSL 57,6 cm. Bei der SSL 58,0 cm ist allerdings lediglich im Scheitel eine vollständige Haarbildung zu erkennen (Abbildung 19: C). In den übrigen Hautregionen beschränkt sie sich partiell auf die Bildung von Haarkegeln. Speziell in der Vorder- und Hintergliedmaße sind Melanosomen im Keimzellbereich der Haarzwiebel und im noch undifferenzierten suprabulbären Anteil von Haarmark und Haarrinde zu erkennen (Abbildung 19: E). Die PAS-Reaktion ist ebenfalls wie bei der SSL 57,6 cm beschrieben, ausgeprägt (Abbildung 19: A, B, C, D). Änderungen in der Entwicklung der Talg- und Schweißdrüsen sind nicht zu beobachten (Abbildung 19: D). Mit Hilfe der Versilberung nach Gomori lassen sich in der dermalen Papille und der dermalen Haarwurzelscheide zahlreiche Nervenfasern darstellen (Abbildung 19: F).

Abbildung 19: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 58,0 cm



Die PAS-Reaktion färbt bei einer SSL von 58,0 cm den oberen Bereich der Haaranlagen bis auf Höhe des Haarwulstes an, in Haaranlagen mit vollständiger Haarbildung auch das Haarmark, außerdem die Basalzellen der Talgdrüsen, das Drüsenepithel der Schweißdrüsen und die dermale Papille. Es sind Melanosomen in Haarrinde und Haarmark zu erkennen. Nervenfasern finden sich unter anderem in der dermalen Haarwurzelscheide und der dermalen Papille.

**A: SSL 58,0 cm, Vordergliedmaße, PAS-Reaktion, Übersicht und Markierung des Ausschnittes für Bild B, die obere Hälfte der Haaranlagen färbt sich durchgehend mit mittlerer bis starker Intensität an, die Epidermis zeigt ebenfalls in allen Anteilen eine starke positive Reaktion, Pfeilspitzen: auffällig ist der obere Bereich des Haarwulstes, dessen Zellen sich sehr stark anfärben, SB: 50 µm;**

**B: SSL 58,0 cm Vordergliedmaße, PAS-Reaktion, Ausschnitt aus Bild A, die Basalmembran (BM) ist stark angefärbt, Pfeile: die Haaranlage reagiert im subepidermalen Bereich, bis auf die Höhe des Haarwulstes in all ihren Anteilen stark positiv, Pfeilspitzen: auffallend ist die besonders starke Reaktion im oberen Teil des Haarwulstes, SB: 50 µm;**

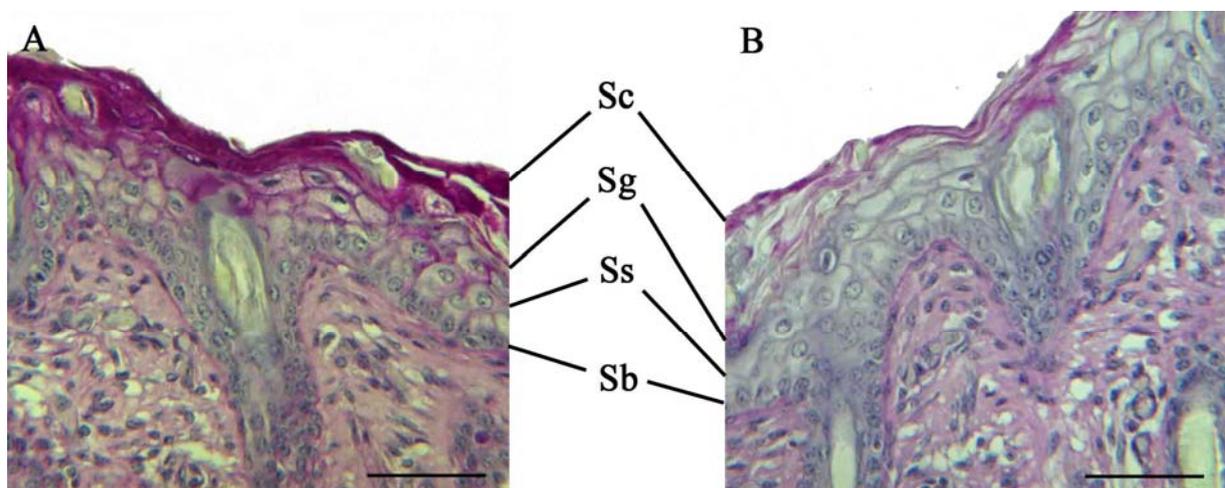
**C: SSL 58,0 cm, Scheitel, PAS-Reaktion, Haarzwiebeln mit leicht positiver Reaktion in den dermalen Papillen (DP), stark positiver Reaktion im Haarmark (HM) und dem Epithel der Schweißdrüsenendstücke (SDE), Pfeilspitzen: partiell Reaktion mittlerer bis starker Intensität in der Basalmembran der Haaranlage, SB: 50 µm;**

**D: SSL 58,0 cm, Scheitel, PAS-Reaktion, stark positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (ähWS) des subepidermalen Bereiches der Haaranlage, an der aus mindestens zwei Drüsenalveolen bestehenden Talgdrüse (TD) können deutlich die Basalzellen (BZ) differenziert werden, Pfeilspitzen: die Basalmembran die die Haar- und Talgdrüsenanlage umgibt färbt sich deutlich an, SB: 50 µm;**

**E: SSL 58,0 cm, Vordergliedmaße, HE, Pfeilspitzen: Melanosomen in Keimzellen und Zellen der Haarrinde, SB: 25 µm;**

**F: SSL 58,0 cm, Scheitel, Gomori, Pfeile: Nervenfasern in der dermalen Papille, Pfeilspitzen: Nervenfasern in der dermalen Haarwurzelscheide, SB: 25 µm.**

**Abbildung 20: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 58,0 cm**



Anhand dieser zwei Bilder wird der Unterschied zwischen der PAS-Reaktion ohne Amylasevorbehandlung (A) und mit Amylasevorbehandlung (B) deutlich.

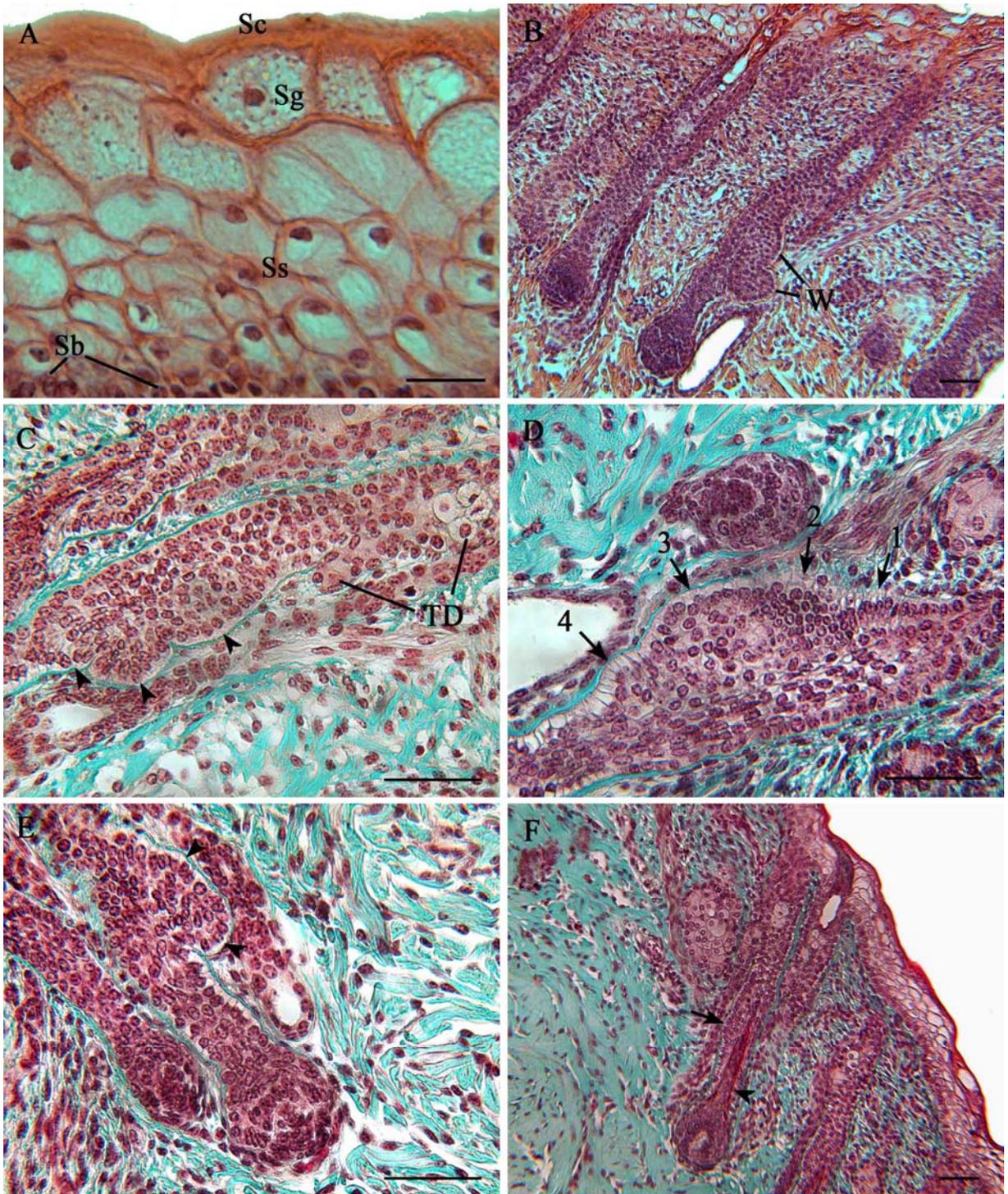
**A: SSL 58,0 cm, Scheitel, PAS-Reaktion, leicht positive Reaktion in der Basalmembran des Stratum basale (Sb), keine Reaktion im Sb und den basalen Zellschichten des Stratum spinosum (Ss), mittlere bis starke positive Reaktion in den apikalen Zellschichten des Ss, starke positive Reaktion im Stratum granulosum (Sg) und im Stratum corneum (Sc), schwache Reaktion in der subepidermalen Dermis, SB: 50 µm;**

**B: SSL 58,0 cm, Scheitel, PAS-Reaktion mit Amylase-Vorbehandlung, leicht positive Reaktion in der Basalmembran des Sb, keine Reaktion im Sb und Ss, partiell Reaktion mittlerer Intensität im Sg und den oberen Zellschichten des Sc, schwache Reaktion in der subepidermalen Dermis, SB: 50 µm.**

**1.24. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 63,0 cm**

Auch bei diesem fetalen Entwicklungsstadium mit der SSL 63,0 cm kann weitestgehend auf die Ausführungen bei dem Fetus der SSL 57,6 cm verwiesen werden. Es ist jedoch hinzuzufügen, dass die Epidermis partiell ein stärker ausgeprägtes Stratum spinosum zeigt (fünf bis sechs Zellschichten) (Abbildung 21: A). Andererseits lassen sich bei diesem Fetus in keinem Hautareal fertig entwickelte Haare erkennen. Am Scheitel sind lediglich partiell Bildungen eines Haarkegels zu beobachten (Abbildung 21: F). Der Haarwulst ist, wie bei der SSL 57,6 cm beschrieben, bei den Haaranlagen, die noch keinen Haarkegel aufweisen, sehr prominent. Die verschiedenen Anteile des Haarwulstes stellen sich, auch bedingt durch einen unterschiedlichen Anschnitt, nicht konstant gleich dar (Abbildung 21: B, C, D, E). Es kann aber sehr wohl von einer Gliederung in mindestens zwei Anteile ausgegangen werden. Ebenfalls ist die Verkleinerung des Haarwulstes nach Ausbildung des Haarkegels zu erkennen (Abbildung 21: F). Mit der Ausbildung eines Haarkegels geht auch die weitgehende Umschließung der dermalen Papille durch die Haarzwiebel einher (Abbildung 21: F).

Abbildung 21: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 63,0 cm



Bei der SSL 63,0 cm befinden sich die Haaranlagen im Beginn der Haarbildung. Bevor der Haarkegel ausgebildet wird ist auffällig, dass der Haarwulst besonders stark ausgeprägt, und segmentiert ist und sich mit dem Beginn der Haarkegelbildung wesentlich verkleinert.

**A: SSL 63,0 cm Scheitel**, HE, Übersicht über die Epidermis, das Stratum spinosum (Ss) oberhalb des Stratum basale (Sb) besteht aus drei bis fünf Zellschichten, das Stratum granulosum (Sg) ist durch die basophilen Granula gut abgrenzbar, das Stratum corneum (Sc) besteht aus ein bis zwei Schichten verhornter Zellen, SB: 25 µm;

**B: SSL 63,0 cm Scheitel**, HE, prominenter Haarwulst (W) an einer Haaranlage ohne Anzeichen einer Haarbildung, SB: 50 µm;

**C: SSL 63,0 cm Scheitel**, Trichrom, im unteren Bereich der Talgdrüse (TD) sind zahlreiche Basalzellen erkennbar, Pfeilspitzen: Haarwulst mit drei Anteilen, von denen der unterste nur undeutlich ausgebildet ist und direkt in die suprabulbäre äußere Haarwurzelscheide übergeht, SB: 50 µm;

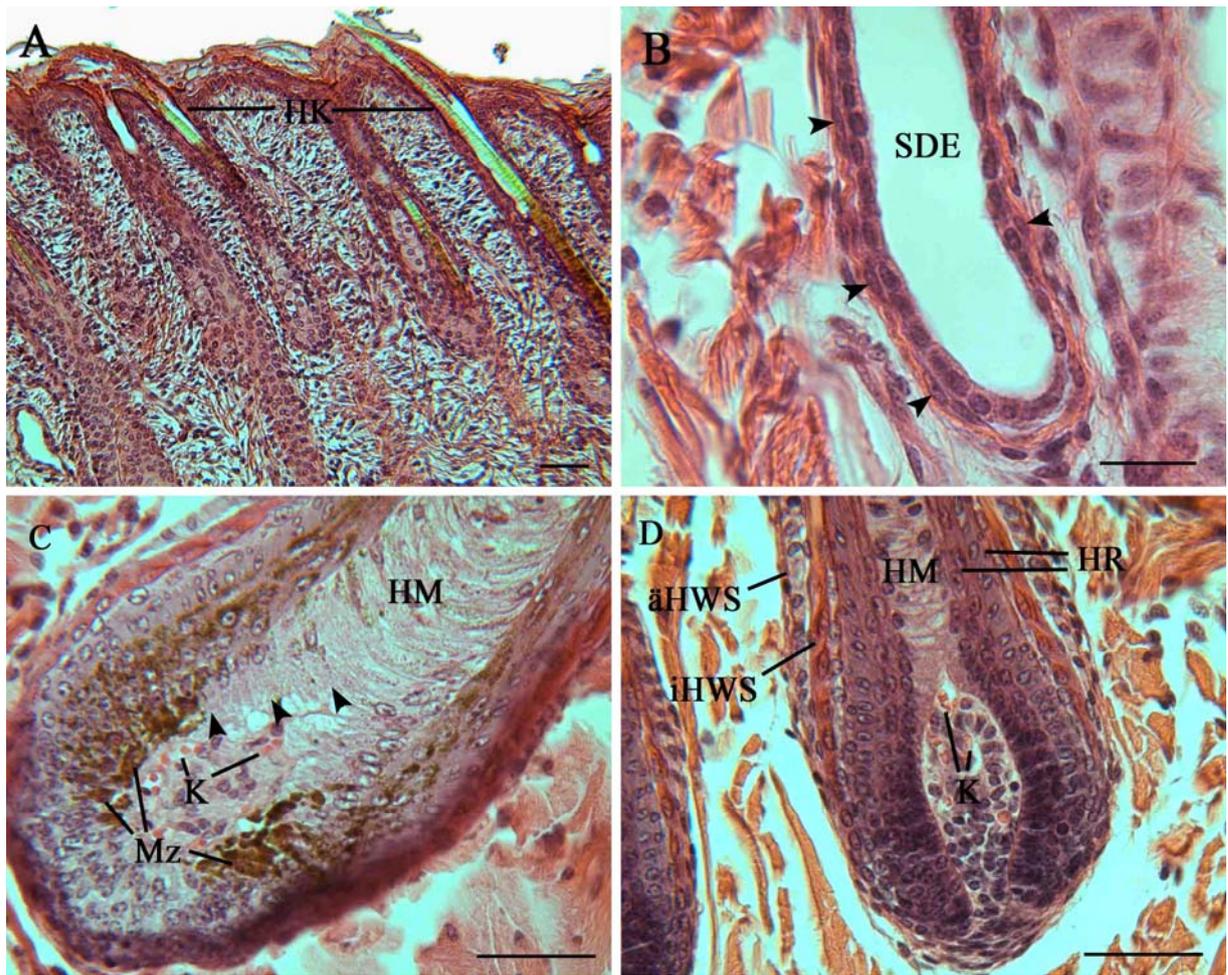
**D: SSL 63,0 cm Vordergliedmaße**, Trichrom, Haarwulst einer Haaranlage vor Ausbildung eines Haarkegels, 1: Übergang vom oberen Bereich der äußeren Haarwurzelscheide zum Haarwulst mit hochprismatischen Zellen, leicht eosinophilem Zytoplasma und zentralen Zellkern, 2: oberer Hauptanteil des Haarwulstes, 3: unterer Hauptanteil des Haarwulstes, 4: Übergang vom Haarwulst in die suprabulbäre Haarwurzelscheide mit hochprismatischen Zellen, hellem Zytoplasma und nach apikal verschobenem Zellkern, SB: 50 µm;

**E: SSL 63,0 cm Hintergliedmaße**, Trichrom, Pfeilspitzen: Haarwulst einer Haaranlage mit nur leicht konkav geformter Haarzwiebel, ohne Anzeichen einer beginnenden Haarbildung, SB: 50 µm;

**F: SSL 63,0 cm Vordergliedmaße**, Trichrom, Haaranlage mit Haarkegelbildung (Pfeilspitze) und deutlich reduziertem Haarwulst (Pfeil) ohne Segmentierung in mehrere Anteile, die Haarzwiebel umschließt weitgehend die dermale Papille, SB: 50 µm.

**1.25. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 64,8 cm**

Die Epidermis des Fetus mit einer SSL von 64,8 cm enthält in allen Hautarealen mit Ausnahme der Hintergliedmaße ein zwei- bis dreischichtiges Stratum spinosum. Im Bereich der Hintergliedmaße ist es meist vier Zellschichten stark. Damit ist es im Vergleich zur SSL 63,0 cm wesentlich schwächer ausgeprägt. Die Verhornung der epidermalen Oberfläche ist, die Hintergliedmaße ausgenommen, überall deutlich ausgeprägt. An der Hintergliedmaße ist nur partiell ein Stratum corneum zu erkennen. Es fällt also auf, dass eine Verhornung der oberen Epidermisschichten mit einer Minderung der Dicke des Stratum spinosum einhergeht. Ein Stratum granulosum ist in allen Hautarealen erkennbar, wenn auch im Bereich von Vorder- und Hintergliedmaße nur partiell. Die PAS-Reaktion fällt in allen Schichten, mit Ausnahme des Stratum basale, stark aus. Das Stratum basale ebenso wie die Basalmembran färben sich schwach an. Zu den Haaranlagen ist zu sagen, dass sie nun in allen Hautarealen voll entwickelte Haare enthalten. Der Haarwulst ist nur noch in den Haaranlagen der Hintergliedmaße als Zellansammlung der äußeren Haarwurzelscheide erkennbar, ansonsten gibt nur die Insertionsstelle des Musculus arrector pili einen Hinweis auf die ursprüngliche Lage des Haarwulstes. Es sind hier aber keine Differenzierungsmerkmale im Vergleich zur äußeren Haarwurzelscheide zu erkennen. Die Haare als auch die innere und äußere Haarwurzelscheide zeigen die bei der SSL 57,6 cm beschriebene Morphologie (Abbildung 22: C, D). An den Gliedmaßen sind bei diesem Fetus Melanozyten im Matrixbereich der Haarzwiebel zu erkennen, deren Melanosomen in der Haarrinde und dem Haarmark lokalisiert sind (Abbildung 22: C). Ein Austritt der Haarspitze durch den Haarkanal kann in allen Hautarealen mit Ausnahme des dorsalen Rumpfes beobachtet werden (Abbildung 22: A). Die Basalmembran, die äußere Haarwurzelscheide sowie das Haarmark sind stark PAS-positiv. Das Haarmark färbt sich außerdem mit Alcianblau bei pH 2,5 an. Die Schweißdrüsen sind bis auf die Höhe der Haarzwiebeln in die Dermis vorgedrungen. Ihre Endstücke zeigen eine positive Reaktion mit PAS und Alcianblau bei pH 2,5 und es sind deutlich die basalen myoepithelialen Zellen zu erkennen (Abbildung 22: B). In den nun meist aus zwei Drüsenalveolen bestehenden Talgdrüsen reagieren die Basalzellen in mittlerer Intensität PAS-positiv. Partuell kann hier eine beginnende holokrine Sekretion beobachtet werden. Die dermale Papille beinhaltet zahlreiche Kapillaren (Abbildung 22: C, D) und ist mit PAS schwach positiv und mit Alcianblau sowohl bei pH 2,5, wie auch bei pH 1,0 in mittlerer Intensität angefärbt. Ansonsten zeigen auch die dermale Haarwurzelscheide und der Musculus arrector pili eine positive PAS-Reaktion in mittlerer Intensität. Das subepidermale Bindegewebe ist schwach PAS-positiv.

**Abbildung 22: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 64,8 cm**

Bei dem Fetus mit der SSL 64,8 cm ist erstmals das Durchbrechen der Haare durch den Haarkanal zu sehen. Es kann partiell die Abgabe von Melanosomen aus Melanozyten ins Haarmark und die Haarrinde beobachtet werden. Die Endstücke der Schweißdrüsen lassen basal myoepitheliale Zellen erkennen.

**A: SSL 64,8 cm, Hintergliedmaße**, HE, Übersicht über die nun voll entwickelten Haarkanäle (HK) mit durchdringenden Haaren, SB: 50 µm;

**B: SSL 64,8 cm, Scheitel**, HE, Schweißdrüsenendstück (SDE) mit myoepithelialen Zellen im basalen Bereich des Drüsenepithels (Pfeilspitzen), SB: 25 µm;

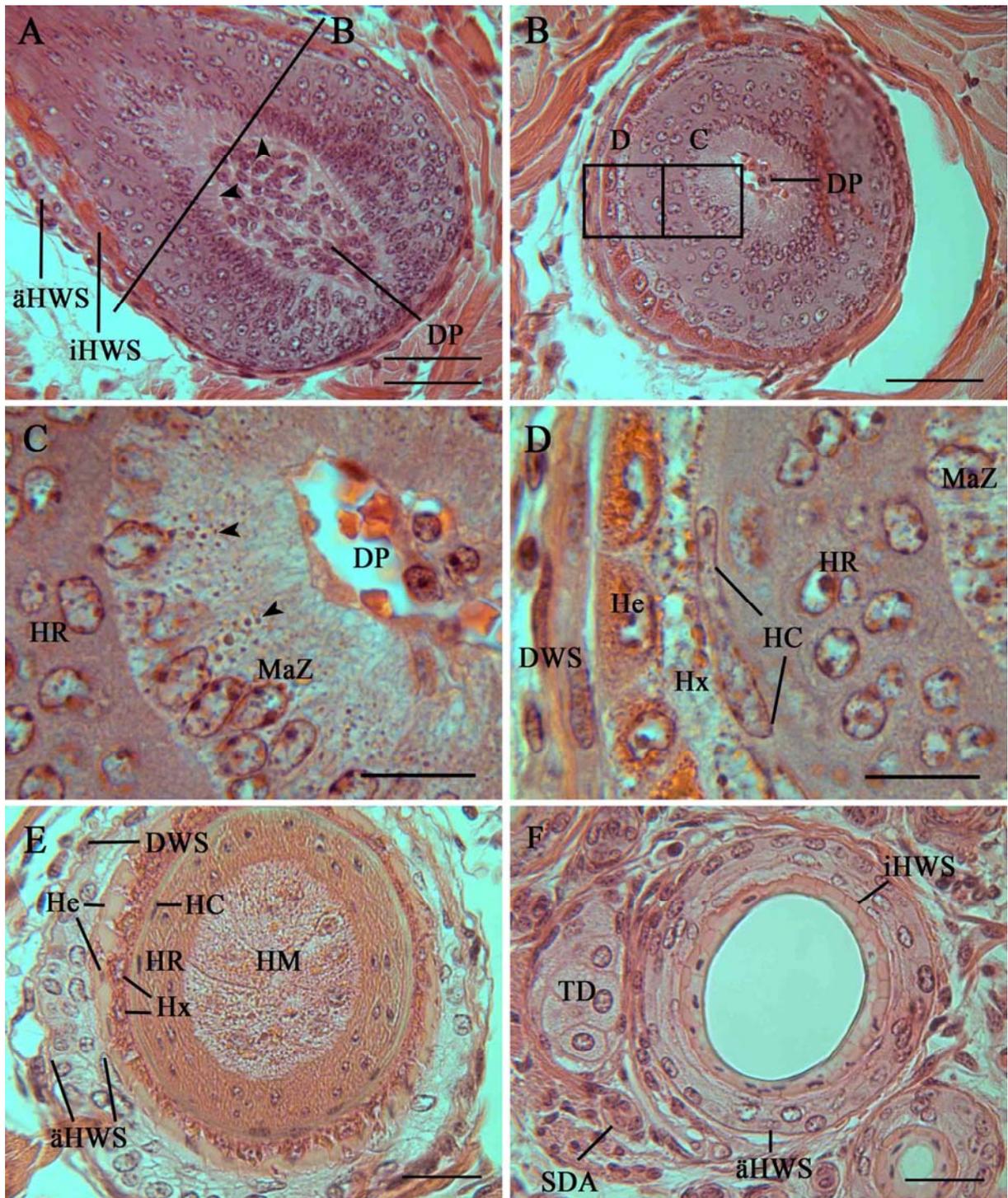
**C: SSL 64,8 cm, Vordergliedmaße**, HE, Haarzwiebel einer Haaranlage im Anagen, mit Melanosomen angefüllte Melanozyten (Mz) zwischen den Matrixzellen der Haarzwiebel, Melanosomen finden sich in Haarmark und Haarrinde wieder, Pfeilspitzen: deutlicher Übergang der Matrixzellen der Haarzwiebel in das Haarmark (HM), zahlreiche Kapillaren (K) in der dermalen Papille, SB: 50 µm;

**D: SSL 64,8 cm, Scheitel**, HE, Haarzwiebel einer Haaranlage im Anagen, keine Melanosomen erkennbar, deutliche Differenzierung von Haarmark (HM), Haarrinde (HR), innerer Haarwurzelscheide (iHWS) und äußerer Haarwurzelscheide (äHWS), zahlreiche Kapillaren (K) in der dermalen Papille, SB: 50 µm.

### **1.26. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm**

Bei diesem fetalen Entwicklungsstadium besteht das Stratum spinosum der Epidermis nur noch aus ein bis zwei Zelllagen. Ein ein- bis zweischichtiges Stratum granulosum kann man nur partiell deutlich erkennen. Das Stratum corneum dagegen ist durchgehend mehrschichtig (Abbildung 24: A). Bei dieser SSL ist in der Epidermis keine positive PAS-Reaktion zu beobachten. Die Haaranlagen enthalten in allen Hautarealen voll entwickelte Haare mit den zugehörigen Differenzierungen der epidermalen Haarwurzelscheide. Detailliert ist der Aufbau der Haaranlagen in diesem Fetalstadium der Abbildung 23: A-F zu entnehmen. In den Haarzwiebeln der Hintergliedmaße fallen nun Zellen mit hellem Zytoplasma auf, die Zellfortsätze erkennen lassen. In der Haarrinde und im Haarmark sind Melanosomen erkennbar, ohne dass mit Melanosomen angefüllte Melanozyten in der Haarzwiebel zu beobachten sind. Daher ist es naheliegend, dass es sich bei den Zellen mit hellem Zytoplasma in der Haarzwiebel um Melanozyten handelt, die ihre Melanosomen bereits vollständig an die umliegenden Zellen abgegeben haben (Abbildung 24: D). In der Haaranlage färbt sich das Haarmark in mittlerer Intensität bei der PAS-Reaktion an. Mit Alcianblau pH 2,5 ist hier nur eine schwache Anfärbung erkennbar. Die Basalmembran der Haaranlage zeigen ebenso wie die äußere Haarwurzelscheide eine schwache PAS-Reaktion (Abbildung 24: C). Im Bereich des Schweißdrüsenendstücks ist eine leichte Abflachung des Epithels erkennbar. Die positive PAS-Reaktion bleibt bestehen (Abbildung 24: C). Alcianblau mit pH 2,5 und pH 1,0 färbt das Schweißdrüsenepithel partiell an, das Sekret im Lumen ist durchgehend positiv. Im Bereich der Talgdrüsen sind keine Veränderungen zu beobachten. Auch die dermale Papille verändert ihre Morphologie im Vergleich zur SSL 64,8 cm nicht. Eine Änderung ist jedoch an der Vordergliedmaße in der Dermis unterhalb der Talgdrüse, zwischen dem Musculus arrector pili und der äußeren Haarwurzelscheide, zu erkennen. Hier fällt eine Ansammlung von relativ kleinen Zellen mit hellem Zytoplasma und zentralem Zellkern auf (Abbildung 24: B). Hierbei könnte es sich um Nervenfasern handeln.

Abbildung 23: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 67,8 cm



In dieser Bildtafel lassen sich die verschiedenen Anteile der Haaranlage im Anagen bei der SSL 67,8 cm in verschiedenen Schnittebenen gut differenzieren.

**A: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, Längsschnitt durch eine Haarzwiebel im Anagen, äußere Haarwurzelscheide (äHWS), innere Haarwurzelscheide (iHWS), dermale Papille (DP), Pfeilspitzen: Übergang der Matrixzellen der Haarzwiebel in das Haarmark, B: Querschnittsebene von Bild B, SB: 50 µm;

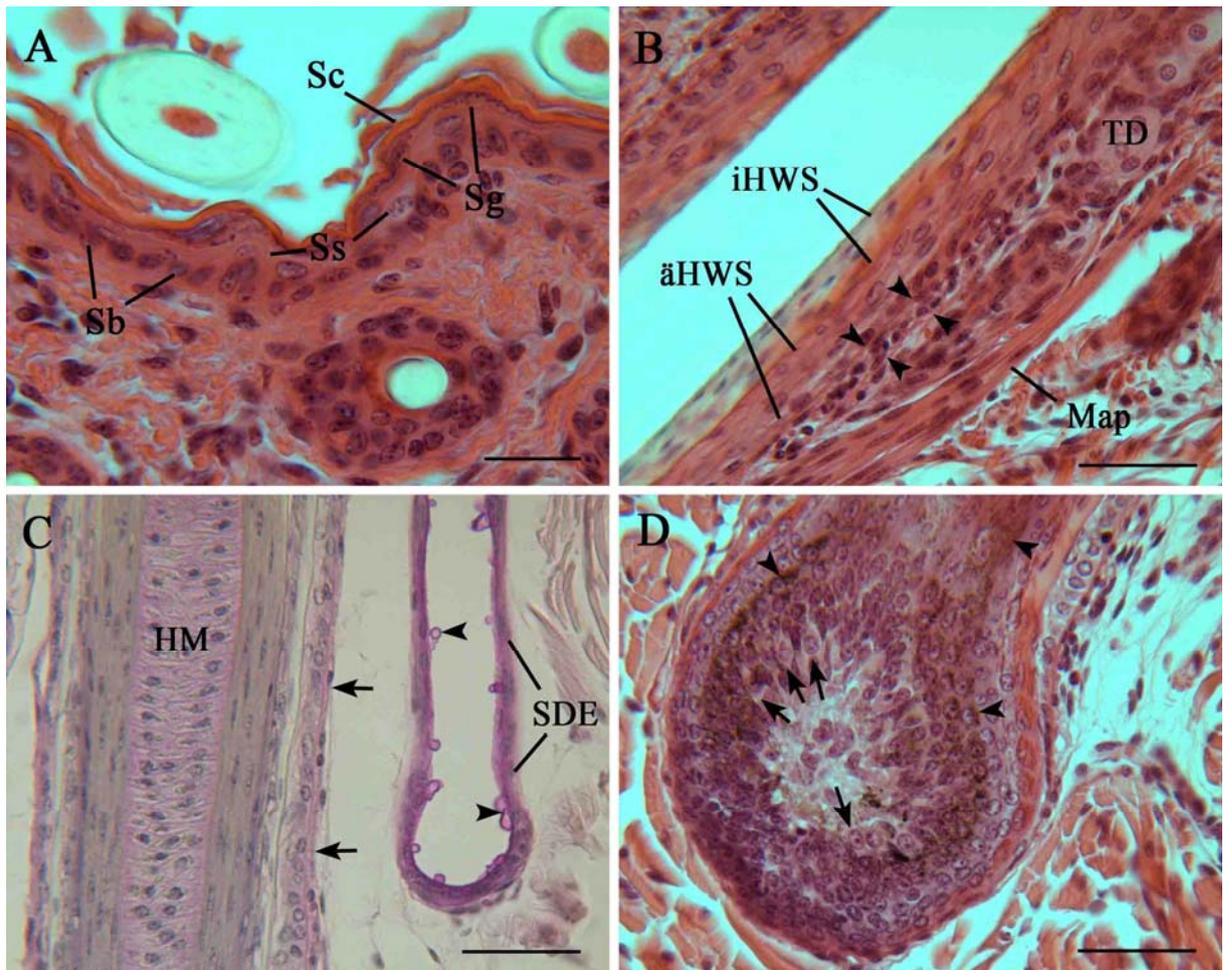
**B: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, Querschnitt durch den oberen Bereich einer Haarzwiebel im Anagen, dermale Papille (DP) mit zahlreichen Kapillaren, C: Ausschnitt für Bild C, D: Ausschnitt für Bild D, dermale Papille (DP) mit zahlreichen Kapillaren, SB: 50 µm;

**C: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, hochprismatische Matrixzellen (MaZ) mit nach außen verschobenen Zellkernen und hellem Zytoplasma mit zentral lokalisierten Trichohyalingranula, die Differenzierungszone der Haarrinde (HR) enthält runde Zellen mit eosinophilem Zytoplasma, SB: 25 µm;

**D: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, Ausschnitt aus Bild B, Differenzierungszone der Haarcuticula (HC) mit flachen Zellen mit leicht eosinophilem Zytoplasma und flachen Zellkernen, innere Haarwurzelscheide ist differenzierbar in innere Huxley-Schicht (Hx) mit wenigen Trichohyalingranula und hellem Zytoplasma und die äußere Henle-Schicht (He) mit sehr vielen Trichohyalingranula, die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) besteht in diesem Bereich lediglich aus einer flachen eosinophilen Zellschicht, die dermale Haarwurzelscheide (DWS) liegt mit ein bis zwei flachen Zellschichten dem epidermalen Haarfollikel eng an, SB: 25 µm;

**E: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, Querschnitt durch eine Haaranlage im Anagen im suprabulbären Bereich, Haarmark (HM) mit Trichohyalingranula, Haarrinde (HR) mit eosinophilem Zytoplasma, Haarcuticula (HC) mit hellem Zytoplasma, Huxley-Schicht (Hx) mit großem Gehalt an Trichohyalingranula, Henle-Schicht (He) mit fortgeschrittener Keratinisierung und ohne voneinander differenzierbare Trichohyalingranula, äußere Haarwurzelscheide (äHWS) aus zwei bis drei Zellschichten mit hellem Zytoplasma, SB: 25 µm;

**F: SSL 67,8 cm, Rumpf dorsal**, HE, Querschnitt durch eine Haaranlage im Anagen im Infundibulum (oberhalb des Haarwulstes), auf dieser Höhe lässt sich die zugehörige Talgdrüse (TD) und der zugehörige Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) erkennen, die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) besteht aus zwei bis drei Zellschichten mit eosinophilem Zytoplasma, die innere Haarwurzelscheide (iHWS) ist vollständig keratinisiert und eine Unterscheidung von Henle-Schicht und Huxley-Schicht ist nur andeutungsweise, durch eine hellere Anfärbung des Zytoplasmas in der Huxley-Schicht möglich, SB: 25 µm.

**Abbildung 24: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 67,8 cm**

Bei dem Fetus der SSL 67,8 cm ist das Stratum spinosum auffällig dünn, bei gleichzeitiger Bildung eines Stratum corneum. Erstmals ist eine Ansammlung von Nervenzellen unterhalb der Talgdrüse erkennbar. Partiiell sind helle Zellen im Matrixbereich der Haarzwiebel zu sehen. Gleichzeitig finden sich in den umliegenden Zellen zahlreiche Melanosomen, was den Schluss nahe legt, dass es sich bei den hellen Zellen um Melanozyten handelt, die ihr Pigment abgegeben haben.

**A: SSL 67,8 cm, Rumpf ventral, HE, Epidermis, alle Schichten stark eosinophil, Stratum basale (Sb) isoprismatisch, Stratum spinosum (Ss) nur zweischichtig, Stratum granulosum (Sg) einschichtig mit basophilen Granula, Stratum corneum (Sc) zeigt Abschilferungen an den obersten Zellschichten, SB: 25 µm;**

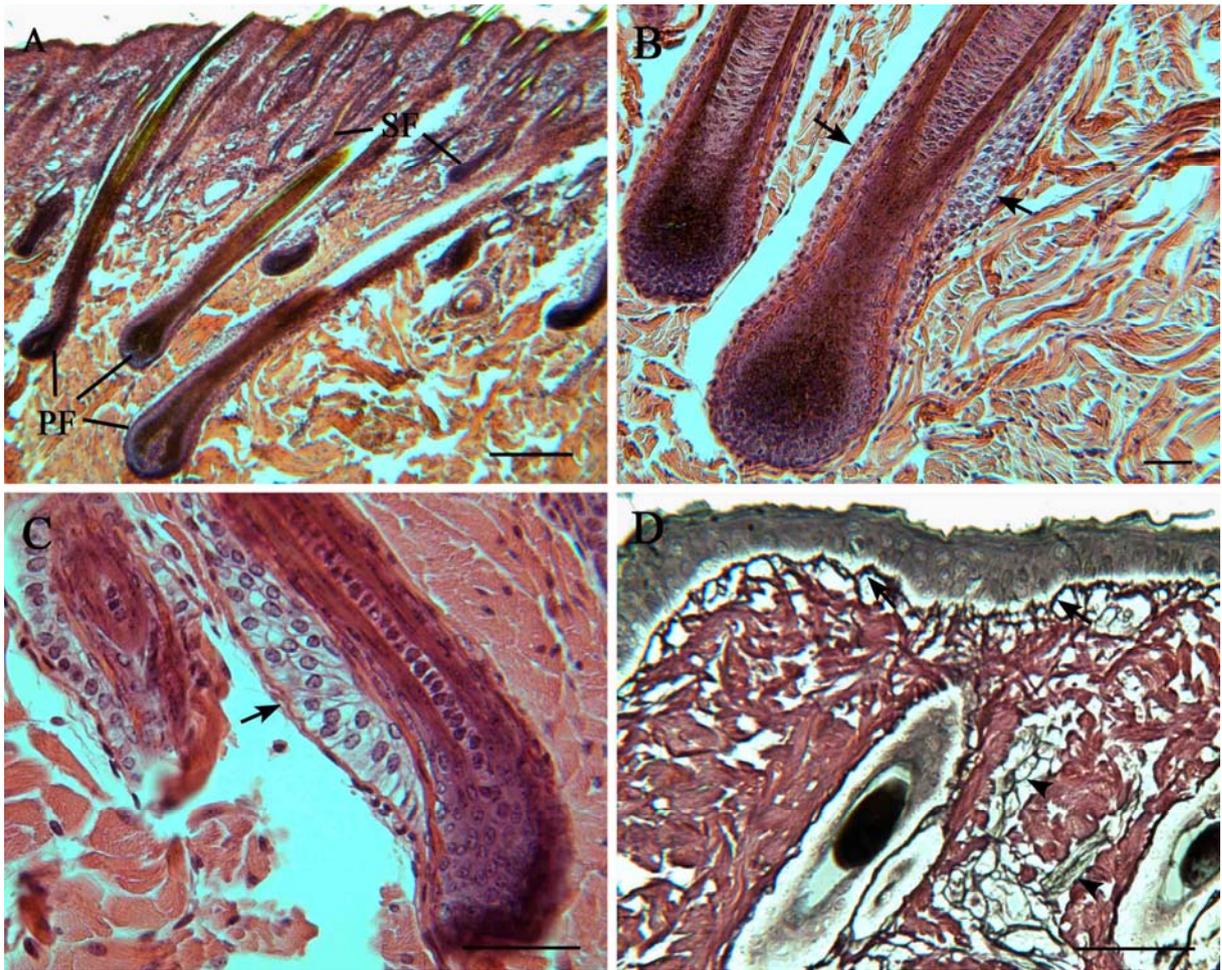
**B: SSL 67,8 cm, Vordergliedmaße, HE, Isthmus der Haaranlage mit stark keratinisierter innerer Haarwurzelscheide (iHWS), äußere Haarwurzelscheide (äHWS) zwei- bis dreischichtig mit eosinophilem Zytoplasma, im Winkel zwischen äußerer Haarwurzelscheide (äHWS), dem Musculus arrector pili (Map) und der Talgdrüse (TD) lässt sich regelmäßig eine Verdichtung von Zellen beobachten, die relativ klein sind, einen runden Zellkern besitzen und ein leicht eosinophiles Zytoplasma aufweisen, SB: 50 µm;**

**C: SSL 67,8 cm, Scheitel, PAS, das Zytoplasma der Zellen des Haarmarks (HM) sowie die dermale Haarwurzelscheide (Pfeile) färben sich schwach an, das Zytoplasma der Epithelzellen des Schweißdrüsenendstücks (SDE) zeigt eine starke Reaktion, ebenso wie das sezernierte Sekret (Pfeilspitzen), SB: 50 µm;**

**D: SSL 67,8 cm, Hintergliedmaße, HE, Pfeile: Zellen mit auffallend hellem Zytoplasma in der Zwiebelmatrix, Pfeilspitzen: Melanosomen in den Differenzierungszonen von Haarmark und Haarrinde, SB: 50 µm.**

**1.27. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm**

Die Epidermis ist im Vergleich zum Fetus mit der SSL 67,8 cm unverändert. Bei diesem Fetus lassen sich die Dimensionen von primär zu den sekundär gebildeten Haaranlagen sehr gut darstellen (Abbildung 25: A). Während die sekundär gebildeten Haaranlagen lediglich bis zu 500  $\mu\text{m}$  tief in die Dermis hinab reichen sind die Enden der primär gebildeten Haaranlagen zwischen 800 und 1200  $\mu\text{m}$  tief und somit bis in die Subcutis hinein zu verfolgen. In den Haaranlagen ist partiell eine auffällige Veränderung im suprabulbären Anteil der äußeren Haarwurzelscheide zu sehen. Partiiell zeigen Haaranlagen eine leichte Abbiegung der Haarzwiebel, die mit einer Verdickung der äußeren Haarwurzelscheide auf der Seite einhergeht, zu der sich die Haarzwiebel neigt (Abbildung 25: C). Auch an Haaranlagen, die keine deutliche Abbiegung der Haarzwiebel erkennen lassen, kommt es partiell zu einer einseitigen Verdickung der Haarwurzelscheide. Der Seitenunterschied ist hier jedoch weniger stark ausgeprägt (Abbildung 25: B). Ein Haarwulst ist nicht zu beobachten. In den Schweiß- und Talgdrüsen, sind wie in der Dermis keine Unterschiede zur SSL 67,8 cm zu beobachten. Die Ansammlung von Nervenzellen unterhalb der Talgdrüsenanlage ist nun jedoch in allen Hautarealen zu beobachten und es finden sich vereinzelt freie Zellen in der subepidermalen Dermis, die sich mit Alcianblau pH 2,5 und pH 1,0 anfärben lassen. Die Versilberung nach Gomori färbt unmittelbar unterhalb des Stratum basale und im subepidermalen Bindegewebe Nervenfasern an (Abbildung 25: D).

**Abbildung 25: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 80,5 cm**

Bei der SSL 80,5 cm sind deutlich die Dimensionen zwischen primär und sekundär gebildeten Haarfollikeln erkennbar. Die Haaranlagen befinden sich im Anagen und zeigen im suprabulbären Bereich unterschiedliche Ausprägungen in der äußeren Haarwurzelscheide.

**A: SSL 80,5 cm, Rumpf dorsal, HE, Übersicht über die Größenverhältnisse zwischen primär gebildeten Haarfollikeln (PF) und sekundär gebildeten Haarfollikeln (SF), SB: 200 µm;**

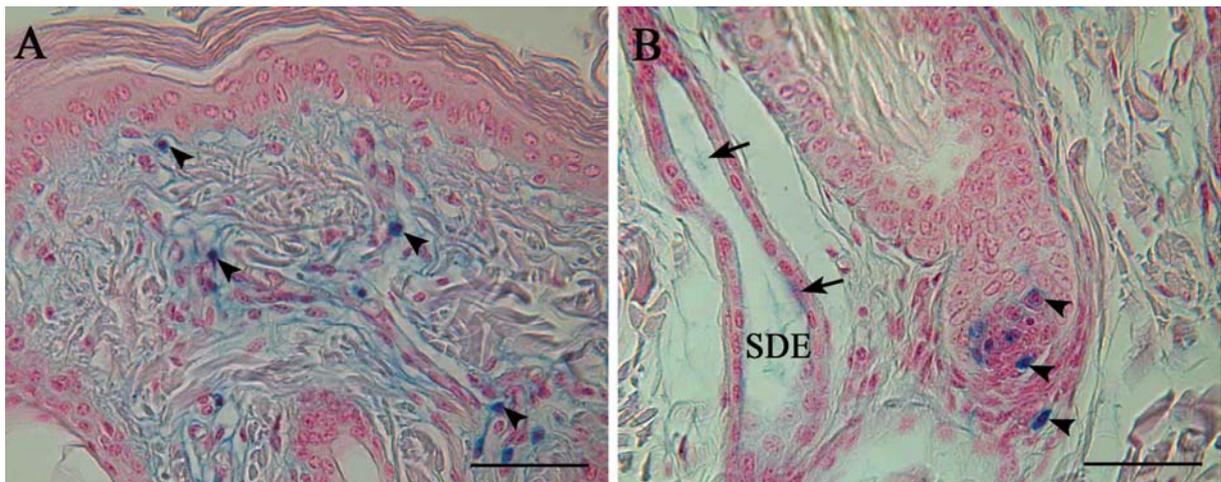
**B: SSL 80,5 cm, Vordergliedmaße, HE, Pfeile:** die Anzahl der Zellschichten variiert partiell in der äußeren Haarwurzelscheide, die Zellen auf der stärker ausgeprägten Seite sind hochprismatisch bis polymorph und größer als die Zellen der schwächer ausgebildeten Seite, an der das Zytoplasma sich leicht eosinophil anfärbt, ein konstanter Zusammenhang zwischen der Seite des Haarwulstes und einer stärker oder schwächer ausgebildeten äußeren Haarwurzelscheide kann nicht festgestellt werden, SB: 50 µm;

**C: SSL 80,5 cm, Rumpf ventral, HE, Pfeil:** einseitig sehr stark ausgeprägte äußere Haarwurzelscheide an einer Haaranlage mit zur gleichen Seite abgebogener Haarzwiebel, die gegenüberliegende Seite lässt nur eine sehr schwache äußere Haarwurzelscheide erkennen, kein konstanter Zusammenhang zwischen der Seite des Haarwulstes, die äußere Haarwurzelscheide ist bei diesem Erscheinungsbild der Haaranlage stets an der Seite verdickt zu der sich die Haarzwiebel hin verschiebt, SB: 50 µm;

**D: SSL 80,5 cm, Scheitel, Gomori, Pfeile:** Nervenfasern unmittelbar unter dem Stratum basale, Pfeilspitzen: Nervenfasern in der subepidermalen Dermis, SB: 50 µm.

**1.28. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm**

Eine wesentliche Veränderung in der Morphologie der Epidermis, die sich in diesem Entwicklungsstadium zeigt, ist die Bildung von basalen Zellfortsätzen des nun leicht hochprismatischen Stratum basale am Scheitel. Dieses Hautareal ist es auch, welches eine leichte Ausbildung des dermalen Stratum papillare erkennen lässt. Ansonsten sind keine Änderungen in der Morphologie der Epidermis, im Vergleich zur SSL 80,5 cm bzw. 67,8 cm, zu beobachten. Die Haaranlagen befinden sich in diesem fetalen Entwicklungsstadium zum Teil noch im Anagen, teilweise aber auch schon im Katagen. Nur an der Hintergliedmaße ist das Katagenstadium noch nicht zu erkennen. Die Haaranlagen, die sich im Katagen befinden, sind durch einen verkürzten Haarfollikel gekennzeichnet, der ein Kolbenhaar enthält. Das Kolbenhaar hat keinen Kontakt mehr über die verschiedenen Differenzierungszonen mit der Haarzwiebel. Die Haarzwiebel ist wesentlich kleiner als im Anagen und umfasst die dermale Papille nicht mehr vollständig. Auch die äußere Haarwurzelscheide hat ihre Morphologie verändert. Sie wirkt nun gestaucht und lässt an ihrer Außenfläche kleine Einbuchtungen erkennen, denen die PAS-positive Basalmembran girlandenartig folgt. Die Henle- und Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide sind im Katagen nicht voneinander differenzierbar, da beide Schichten vollständig keratinisiert sind. Auch ein Haarwulst ist in diesem Stadium des Haarzyklus nicht auffindig zu machen. Die Schweißdrüsen haben ein isoprismatisches bis leicht abgeflachtes Epithel und übersteigen die Länge der katagenen Haaranlagen. Es sind meist mehrere Anschnitte von Schweißdrüsenendstücken auf Höhe der Haarzwiebel und darunter erkennbar. Dies spricht für eine fortgeschrittene Aufknäuelung des Drüsenschlauches. Mit Alcianblau bei pH 2,5 lassen sich das sezernierte Sekret und partiell die apikalen Zytoplasmabereiche der Drüsenzellen sehr schwach anfärben (Abbildung 26: B). Die PAS-Reaktion ist im Drüsenepithel weiterhin deutlich positiv. Im Bereich der Talgdrüsen ist eine wesentliche Vergrößerung der Drüsenalveolen im Vergleich zur SSL 80,5 cm zu beobachten. Die Scheitelprobe zeigt partiell eine Talgdrüsenanlage, die aus drei Drüsenalveolen besteht, während in den anderen Hautarealen nur zwei Drüsenalveolen erkennbar sind. Die Basalzellen lassen eine PAS-Reaktion mittlerer Intensität erkennen. Bedingt durch das Katagen der Haaranlage ist nun auch die Morphologie der dermalen Papille verändert. Sie wird nur noch unvollständig von der Haarzwiebel umgeben und es zeigen sich freie Zellen, die sich stark mit Alcianblau bei pH 2,5 und pH 1,0 färben (Abbildung 26: B). Im subepidermalen Bindegewebe der Dermis sind ebenfalls freie Zellen zu beobachten, welche gleiche Farbreaktion aufweisen. Sie sind bevorzugt um die Kapillaren herum angeordnet.

**Abbildung 26: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 94,5 cm**

Es sind bei dieser SSL freie Zellen in dermalen Anteilen zu erkennen die sich mit Alcianblau anfärben lassen.

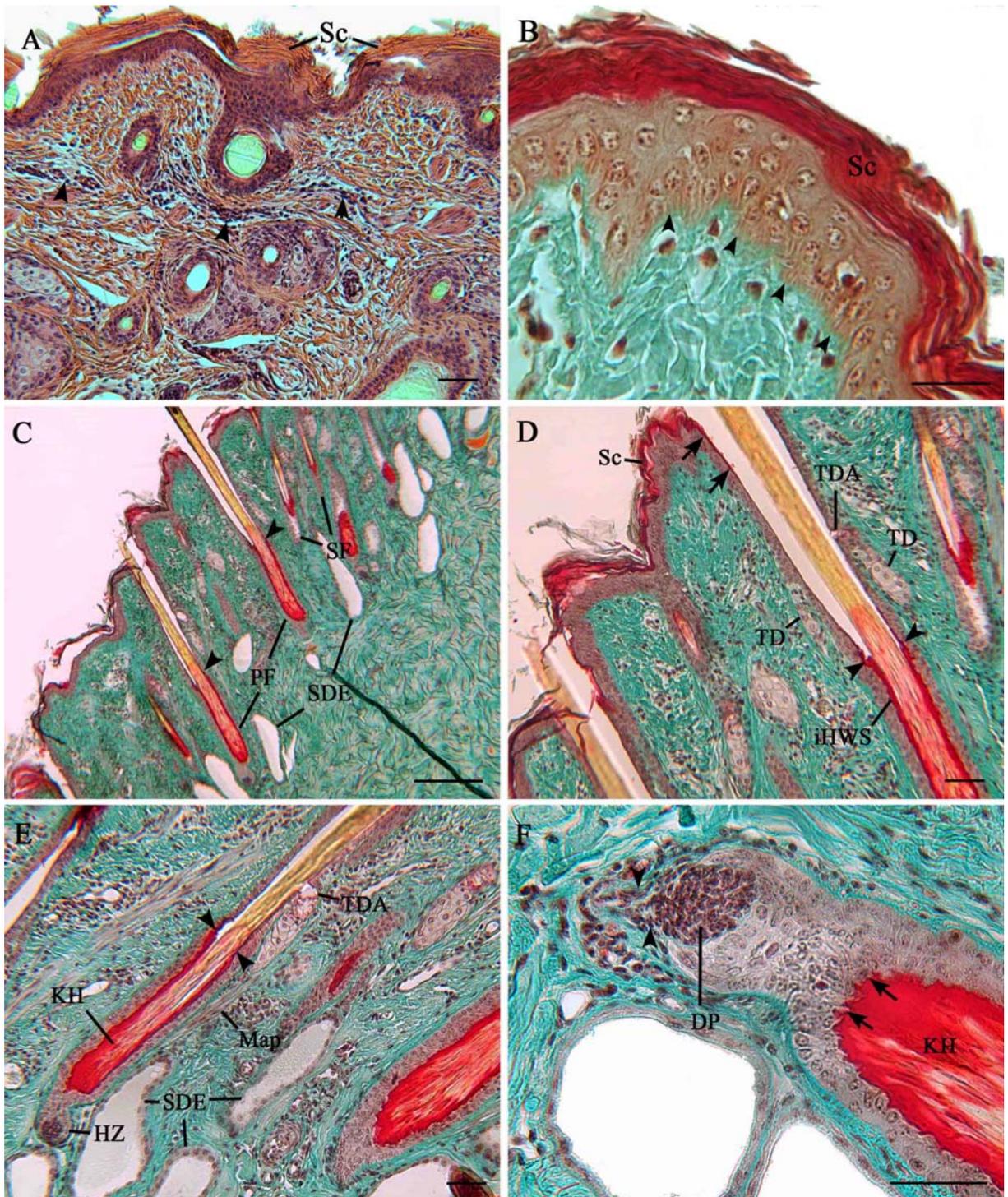
**A: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Alcianblau mit pH 2,5 Pfeilspitzen: freie Zellen in der subepidermalen Dermis, SB: 50  $\mu$ m;

**B: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Alcianblau mit pH 2,5 Pfeilspitzen: freie Zellen in der dermalen Papille einer katagenen Haaranlage, Pfeile: schwache Anfärbung des Sekretes im Scheißdrüsenendstück, SB: 50  $\mu$ m.

### 1.29. Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 95,0 cm

Auch in diesem Fetalstadium sind im Stratum basale der Epidermis basale Zellausläufer erkennbar. Bei dieser SSL ist diese Veränderung in allen Hautarealen zu beobachten (Abbildung 27: B). An der Hintergliedmaße sind im Stratum basale und im Stratum spinosum partiell Melanosomen zu sehen. Melanozyten können anhand der Übersichtsfärbungen in diesem Bereich nicht identifiziert werden. Mit Hilfe der Trichrom-Färbung lässt sich das keratinisierte, rot angefärbte Stratum corneum sehr gut darstellen (Abbildung 27: B, D). Sehr deutlich lässt sich das Stratum corneum noch bis in den Haartrichter hinein verfolgen, wo es deutlich an Höhe verliert und schließlich nicht mehr nachweisbar ist (Abbildung 27: D). Die Haaranlagen sind, bis auf den ventralen Rumpf, an allen Hautarealen im Katagen (Abbildung 27: C, D, E, F), in dem die innere Haarwurzelscheide in der Trichrom-Färbung deutlich sichtbar, vollständig keratinisiert ist (Abbildung 27: C, D, E). Sie endet weit unterhalb der Talgdrüsenmündung (Abbildung 27: D, E). Die katagenen Haarzwiebeln lassen wiederum keine Differenzierungszonen erkennen und sind wesentlich kleiner als im Anagen. Veränderungen an den Schweißdrüsenanlagen sind im Vergleich zur SSL 94,5 cm nicht zu beobachten. Die Talgdrüsen bestehen bei der SSL 94,5 cm in allen Hautarealen aus zwei Drüsenalveolen (Abbildung 27: D). Im Bereich der dermalen Papille ist im Katagen wiederum deutlich sichtbar, dass sie nicht mehr vollständig von der Haarzwiebel umgeben wird (Abbildung 27: F). Da die Haaranlage in diesem Stadium des Haarzyklus verkürzt ist, ist die dermale Papille nach unten aus dem Bereich der Haarzwiebel ausgezogen und geht in eine leicht gestaucht und somit verdickt wirkende dermale Haarwurzelscheide über. Eine weitere Auffälligkeit in der Dermis ist die weitere Zunahme an freien Zellen unterhalb der Epidermis (Abbildung 27: A).

Abbildung 27: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 95,0 cm



Die Haaranlagen befinden sich bei der SSL 95,0 cm im Katagen und zeigen Veränderungen in der Morphologie der Haarzwiebel, der inneren Haarwurzelscheide und der dermalen Papille. Das Stratum papillare der Dermis beginnt sich auszubilden und das Stratum basale zeigt basale Zellausläufer.

**A: SSL 95,0 cm, Scheitel**, HE, Epidermis mit mehrschichtigem Stratum corneum (Sc), Pfeilspitzen: zahlreiche freie Zellen um Kapillaren in der subepidermalen Dermis, SB: 50 µm;

**B: SSL 95,0 cm, Scheitel**, Trichrom, das Stratum corneum (Sc) färbt sich stark rot an, Pfeilspitzen: deutliche basale Zellausläufer des Stratum basale, SB: 25 µm;

**C: SSL 95,0 cm, Vordergliedmaße**, Trichrom, Übersicht über primär gebildete Haarfollikel (PF) und sekundär gebildete Haarfollikel (SF) im Katagen, die Endstücke der Schweißdrüsen (SDE) reichen bis unterhalb der Haarzwiebeln, Pfeilspitzen: die rot angefärbte innere Haarwurzelscheide ist nur bis ca. auf die Hälfte der Haarfollikellänge zu verfolgen, SB: 200 µm;

**D: SSL 95,0 cm, Vordergliedmaße**, Trichrom, Haaranlage im Katagen, das Stratum corneum (Sc) lässt sich bis in das Infundibulum der Haaranlage verfolgen (Pfeile), wo es sich abflacht und schließlich endet, die innere Haarwurzelscheide (iHWS) färbt sich stark rot an und ist so sehr gut zu verfolgen, sie endet unterhalb des Ausführungsganges (TDA) der Talgdrüsen (TA) am unteren Ende des Isthmus der Haaranlage, Pfeilspitzen: Übergang von der intakten inneren Haarwurzelscheide (iHWS) in eine nur rudimentäre abgeflachte Schicht, SB: 50 µm;

**E: SSL 95,0 cm, Vordergliedmaße**, Trichrom, Übersicht über den Follikelschaft und die Haarzwiebel einer Haaranlage im Katagen, das für dieses Haarzyklusstadium typische Kolbenhaar hat keinen Kontakt zur Haarzwiebel in Form von Differenzierungszonen, zwischen der Haarzwiebel und dem unteren Ende des Kolbenhaares ist nun ein Anschnitt sichtbar, der aus Zellen der äußeren Haarwurzelscheide besteht, Pfeilspitzen: Ende der inneren Haarwurzelscheide (iHWS) unterhalb des Talgdrüsenausführungsganges (TDA), die Schweißdrüsenendstücke (SDE) reichen bis unterhalb der Höhe der Haarzwiebeln, SB: 50 µm;

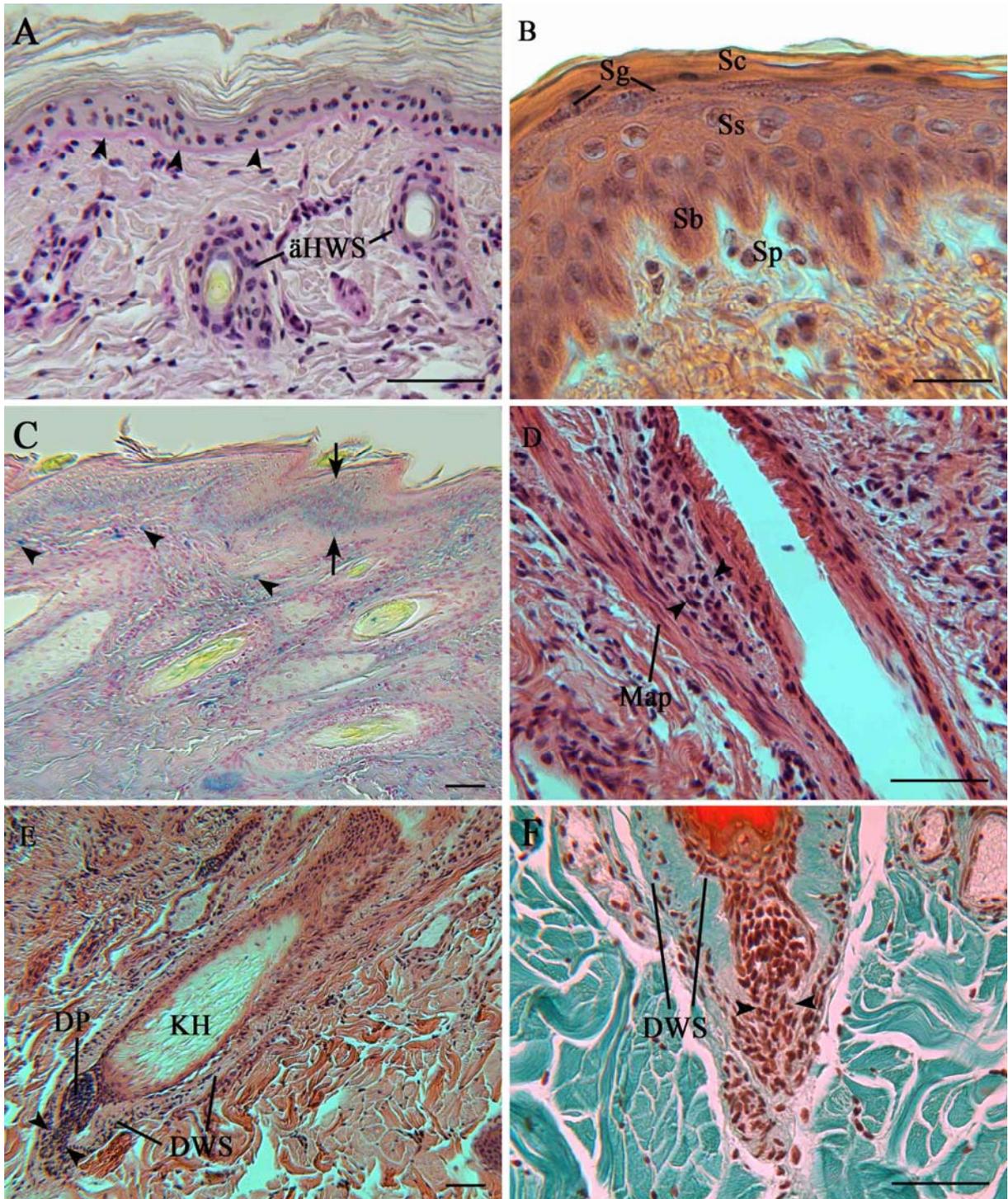
**F: SSL 95,0 cm, Vordergliedmaße**, Trichrom, Haarzwiebel im Katagen, Pfeile: das Kolbenhaar (KH) ist an seinem unteren Ende über vollständig verhornte Zellen der inneren Haarwurzelscheide mit Zellen der äußeren Haarwurzelscheide durch eine unregelmäßige Zelloberfläche verzahnt, der kleinen Haarzwiebel fehlen jegliche Differenzierungszonen, sie umschließt eine besonders stark ausgeprägt und sehr zeldichte dermale Papille (DP), Pfeilspitzen: die dermale Papille wird nicht mehr vollständig von der Haarzwiebel umfasst und so liegt ein Teil der Zellen unterhalb des Haarzwiebelendes, SB: 50 µm.

### 1.30. Haut von Kälbern zwischen dem zweiten und neunten Lebenstag

Veränderungen in der Epidermis sind zwischen dem zweiten und dem neunten Lebenstag in der Anzahl der Zellschichten des Stratum spinosum zu erkennen. Während es am zweiten und auch am siebten Lebenstag in allen Hautarealen nur zwei bis drei Zellschichten dick ist, kann man am neunten Tag ein Stratum spinosum mit drei bis fünf Zelllagen beobachten (Abbildung 28: A, B). Ansonsten sind im Vergleich zu den ältesten untersuchten Feten (SSL 94,5 cm und 95,0 cm) keine morphologischen Veränderungen in der Epidermis sichtbar. Die Basalmembran der Epidermis ist leicht PAS-positiv (Abbildung 28: A). Alcianblau bei pH 2,5 färbt das Stratum basale und spinosum schwach an. Während der ersten neun Lebenstage befindet sich die Mehrzahl der Haaranlagen im Katagen des Haarzyklus. Dies beinhaltet grundsätzlich die bereits bei der SSL 94,5 cm und 95,0 cm beschriebenen Veränderungen der Morphologie der Haaranlage. Allerdings ist das Katagenstadium in den Hautproben der Kälber bereits etwas weiter fortgeschritten, da die Haaranlage offensichtlich noch weiter Richtung Epidermis verkürzt ist. Dies äußert sich in einer, im Vergleich zu den genannten Fetalstadien, stärker gestauchten äußeren Haarwurzelscheide und einer noch schwächer ausgebildeten Haarzwiebel. Im direkten Zusammenhang hiermit stehen die Veränderungen in den dermalen Anteilen wie der dermalen Papille, die nun noch weniger von der Haarzwiebel umfasst wird und somit weiter nach unten ausgezogen ist und der dermalen Haarwurzelscheide, die direkt in die extrabulbären Anteile der dermalen Papille übergeht und stark gestaucht und somit verdickt erscheint (Abbildung 28:

E, F). Dabei fällt auf, dass die suprabulbären und die bulbären Anteile der dermalen Haarwurzelscheide zur Haaranlage hin fast ausschließlich Zytoplasmaausläufer und extrazelluläre Matrix aufweisen, während sie in ihren äußeren Bereichen zahlreiche Zellkerne erkennen lassen. Die PAS-Reaktion färbt partiell schwach die äußere Haarwurzelscheide (Abbildung 28: A) und suprabulbär die Basalmembran an. Die Schweißdrüsen reichen bis auf die Höhe der Haarzwiebel, bei den Haaranlagen im Anagen und bis unterhalb der Haarzwiebel, bei den Haaranlagen im Katagen. Am neunten Lebenstag ist eine auffällig starke Sekretion zu erkennen (Abbildung 29: B, C, D). Partiiell sind im Zytoplasma des Drüsenepithels im Endstück Sekreteinschlüsse zu sehen (Abbildung 29: B). Meist ist die Sekretion jedoch anhand der abgeschnürten Sekretvesikel an der Epitheloberfläche zu erkennen (Abbildung 29: C, D). Das Sekret ist stark PAS-positiv und das Epithel ebenso wie die Basalmembran färben sich mit mittlerer Intensität an (Abbildung 29: D). Zu den Talgdrüsenanlagen ist zu sagen, dass sie bei dem zwei Tage alten Kalb nur zwei Drüsenalveolen erkennen lassen, während sie bei dem sieben und neun Tage alten Kalb überwiegend aus drei Anteilen bestehen (Abbildung 29: A). Ihre Basalzellen reagieren bei allen Altersstadien schwach PAS-positiv. In den dermalen Bereichen sind vereinzelt freie Zellen anzutreffen, die sich mit Alcianblau pH 2,5 und pH 1,0 anfärben (Abbildung 29: A). Zwischen dem Musculus arrector pili und der äußeren Haarwurzelscheide der zugehörigen Haaranlage ist eine ausgeprägte Ansammlung von Nervenzellen zu beobachten (Abbildung 28: D). Eine weitere wesentliche und nun recht deutlich sichtbare Entwicklung ist die Ausbildung des Stratum papillare der Dermis. Beim zwei Tage alten Kalb nur schwach ausgeprägt, ist es beim sieben und neun Tage alten Kalb gut zu sehen (Abbildung 28: A, B).

Abbildung 28: Haut von Kälbern zwischen dem zweiten und dem neunten Lebenstag



Zwischen dem zweiten und dem neunten Lebenstag nimmt das Stratum spinosum der Epidermis deutlich an Dicke zu. Die Nervenzellansammlung unterhalb der Talgdrüse ist nun stärker ausgebildet als bei dem Fetus mit der SSL 67,8 cm. Die Haaranlagen befinden sich bei den Kälbern zumeist im Katagen mit den typischen morphologischen Merkmalen.

**A: Zwei Tage altes Kalb, Scheitel**, PAS-Reaktion, die Basalmembran der Epidermis und auch die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) zeigen eine leicht positive Reaktion, SB: 50 µm;

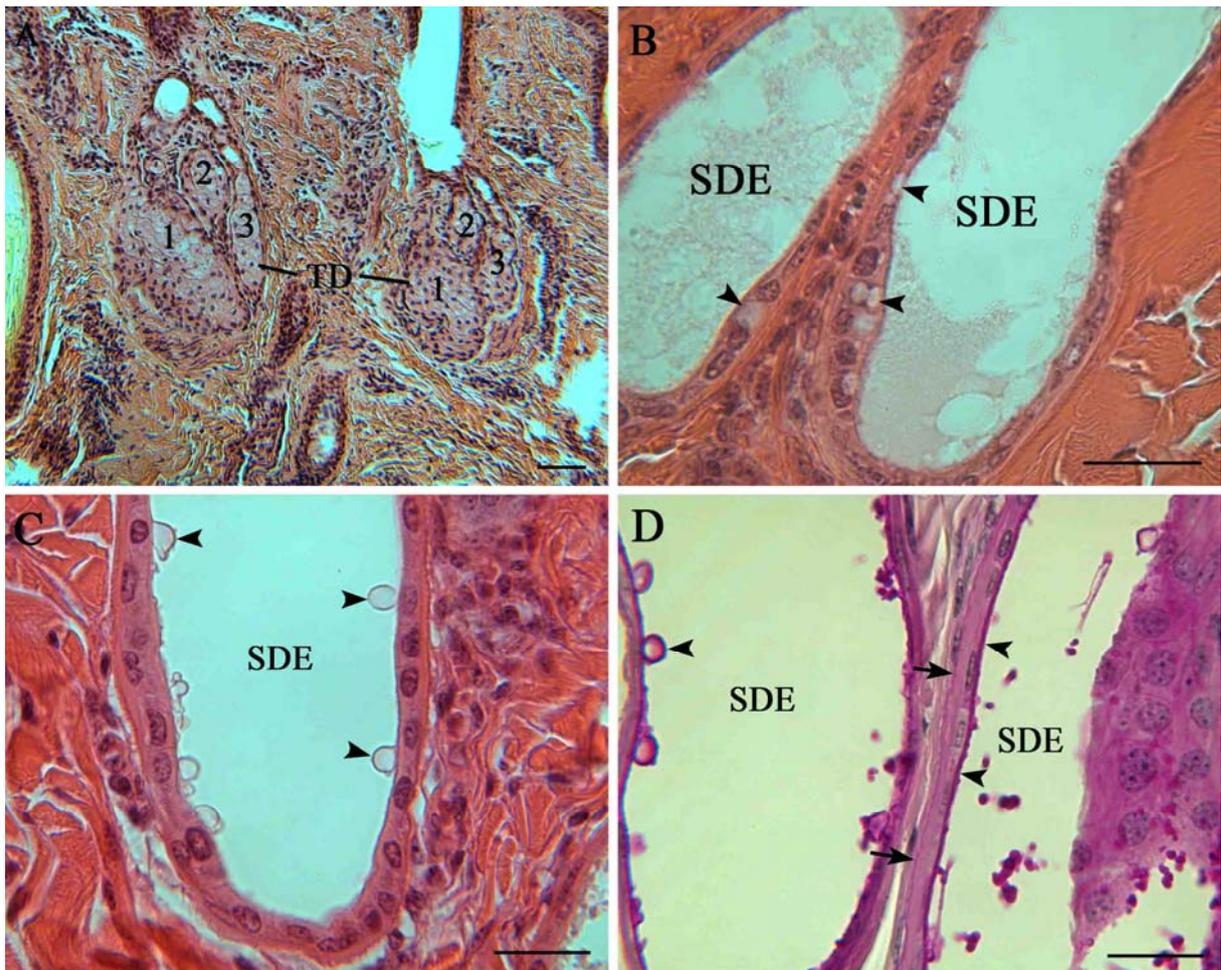
**B: Neun Tage altes Kalb, Scheitel**, HE, das Stratum basale (Sb) besteht aus leicht hochprismatischen Zellen, die über zahlreiche basale Zellfortsätze mit der Basalmembran verbunden sind, das Stratum basale (Sb) zeigt einen wellenförmigen Verlauf, da es nun vom Stratum papillare (Sp) der Dermis unterlagert wird, das Stratum spinosum (Ss) besteht aus drei bis vier Zellschichten, die apikalen Zellschichten weisen einen pyknotischen Zellkern auf, das Stratum granulosum (Sg) besteht aus ein bis zwei Zellschichten, seine Zellen sind abgeflacht mit pyknotischem Zellkern und basophilen Granula, das Stratum corneum (Sc) besteht aus mehreren verhornten Zellschichten die vereinzelt noch pyknotische Zellkerne erkennen lassen, SB: 25 µm;

**C: Neun Tage altes Kalb, Rumpf ventral**, Alcianblau mit pH 2,5, Pfeile: schwache Anfärbung im Stratum basale und Stratum spinosum der Epidermis, Stratum granulosum und Stratum corneum negativ, starke Anfärbung von freien Zellen in der subepidermalen Dermis, SB: 50 µm;

**D: Zwei Tage altes Kalb, Hintergliedmaße**, HE, Pfeilspitzen, zellreicher Bereich knapp oberhalb des Ansatzes des Musculus arrector pili (Map), SB: 50 µm;

**E: Sieben Tage altes Kalb, Rumpf dorsal**, HE, Haaranlage im fortgeschrittenen Katagen, Pfeilspitzen: die dermale Papille weist eine Ausziehung nach unten aus der Haarzwiebel heraus auf, dieser Bereich geht in die dermale Haarwurzelscheide (DWS) über, die im suprabulbären Bereich gestaucht und damit verdickt erscheint, KH: Kolbenhaar, SB: 50 µm;

**F: Zwei Tage altes Kalb, Scheitel**, Trichrom, Pfeilspitzen: Ausziehung der dermalen Papille nach unten aus der Haarzwiebel heraus, Übergang in die stark verdickte dermale Haarwurzelscheide (DWS) in der nur im äußeren Bereich Zellkerne zu finden sind, innerer Bereich aus Faserbündeln des Bindegewebes und Zytoplasma der Fibrozyten, SB: 50 µm.

**Abbildung 29: Haut von Kälbern zwischen dem siebten und dem neunten Lebenstag**

Bei den Kälbern sind die Talgdrüsen deutlich aus drei Anteilen aufgebaut. Die Schweißdrüsen zeigen deutliche Anzeichen von apokriner Sekretion.

**A: Sieben Tage altes Kalb, Scheitel, HE, die Talgdrüse (TD) jeder primär entwickelten Haaranlage, besteht aus bis zu drei Drüsenalveolen, SB: 50 µm;**

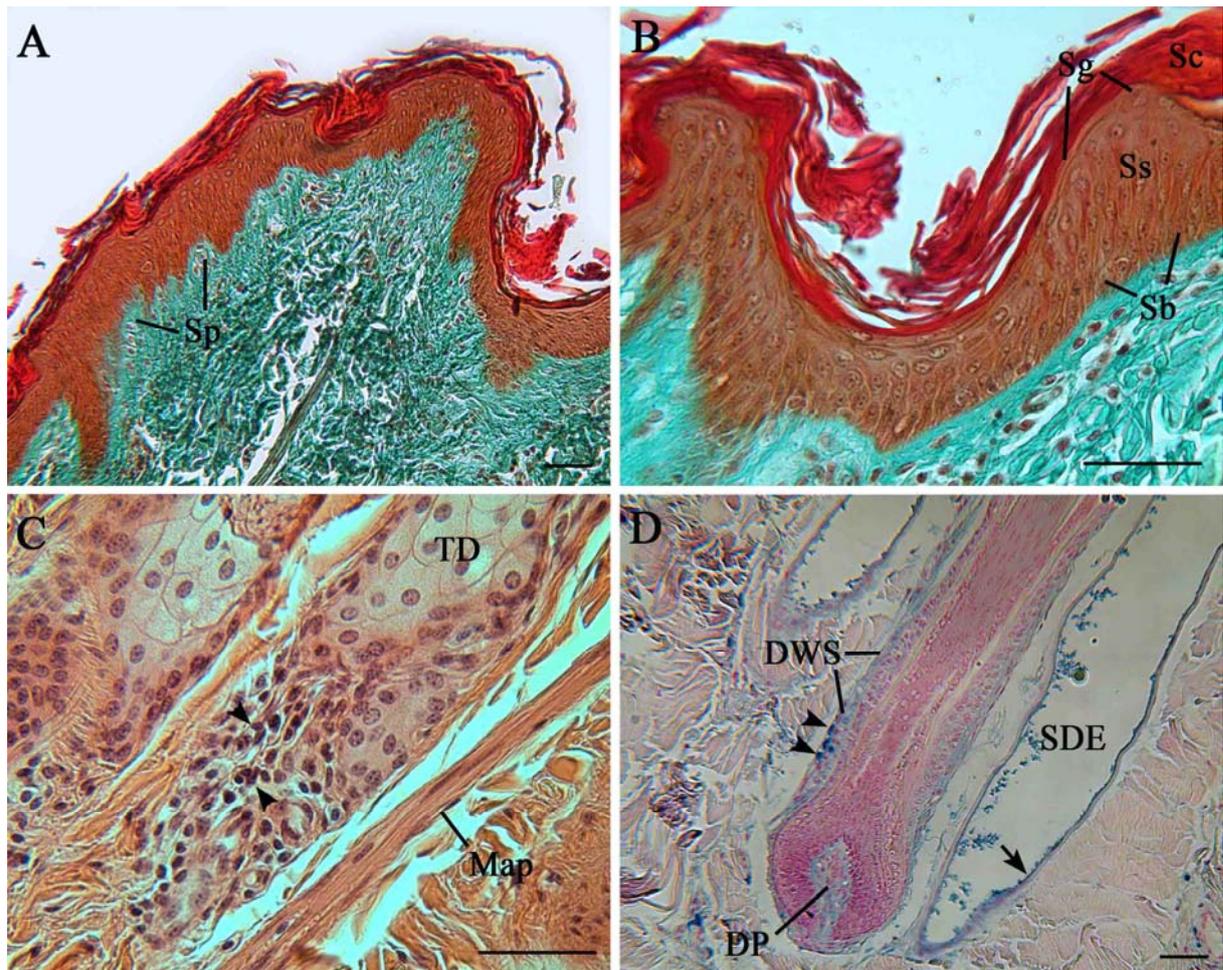
**B: Neun Tage altes Kalb, Rumpf ventral, HE, Schweißdrüsenendstücke (SDE) mit Sekret im Lumen und Sekretansammlungen im Zytoplasma des Drüsenepithels (Pfeilspitzen), SB: 50 µm;**

**C: Neun Tage altes Kalb, Scheitel, HE, Pfeilspitzen: apokrine Sekretion in einem Schweißdrüsenendstück (SDE), SB: 25 µm;**

**D: Neun Tage altes Kalb, Rumpf dorsal, PAS-Reaktion, Schweißdrüsenendstück (SDE) mit stark positiver Reaktion an der apikalen Zellmembran der Drüsenepithelzellen (Pfeilspitzen), Pfeile: Reaktion mittlerer Intensität der Basalmembran des Drüsenepithels und des Zytoplasmas der Drüsenepithelzellen, SB: 25 µm.**

### **1.31. Bovine Haut von adulten Tieren zwischen 20 Monaten und 4,5 Jahren**

Die Epidermis der adulten Tiere unterscheidet sich nicht zwischen dem Alter von 20 Monaten bis 4,5 Jahren. Das Stratum basale zeigt basal partiell Zellfortsätze und ist leicht hochprismatisch. Im Stratum spinosum sind drei bis vier Zelllagen zu differenzieren, die aus polymorphen Zellen bestehen. Darauf folgt ein ein- bis zweischichtiges Stratum granulosum mit abgeflachter Zellform und wenigen basophilen Granula. Abgeschlossen wird die Epidermis mit dem Stratum corneum, das deutliche Abschilferungen aufweist (Abbildung 30: B). Die Basalmembran der Epidermis ist schwach PAS-positiv. Die Haaranlagen befinden sich in der adulten Haut meist im Anagen (Abbildung 30: D, Abbildung 31: C, E). Sie beinhalten eine Haarzwiebel, welche Differenzierungszonen für das Haarmark, die Haarrinde, die Haarcuticula und die Henle- und Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide enthält. An dieser Stelle möchte ich auf die Beschreibungen bei der SSL 57,6 cm verweisen in der erstmals alle Anteile einer Haaranlage im Anagen ausgebildet sind, sowie auf die Abbildung 23: A-F in der die typische Morphologie ersichtlich wird (SSL 67,8 cm). Partiiell sind auch katagene Haaranlagen zu beobachten, die eine stark Richtung Epidermis zurückgezogene Haarzwiebel beinhalten. Diese Haarzwiebeln sind oftmals nur noch leicht konkave Ausbuchtungen am unteren Ende der Haaranlagen. Die dermale Papille liegt hier weitgehend frei unterhalb der Haaranlage (Abbildung 31: F). Weder in den anagenen noch in den katagenen Haaranlagen ist ein Haarwulst feststellbar. Eine positive PAS-Reaktion ist im Haaranlagenbereich in der Basalmembran (Abbildung 31: F) und im Haarmark festzustellen. Die Schweißdrüsen besitzen großlumige Endstücke, die mit einem abgeflachten stark PAS-positivem Epithel ausgekleidet sind. Mit Alcianblau bei pH 2,5 färbt sich die Oberfläche dieses Epithels mit mittlerer Intensität an (Abbildung 30: D). Die Talgdrüsen bestehen aus drei Drüsenalveolen pro Haaranlage, die aber nicht in jedem Anschnitt erkennbar sind. Ihre Basalzellen sind leicht PAS-positiv. Zu den dermalen Anteilen der Haut ist zu sagen, dass die schon beschriebene, dermale Papille sich in mittlerer Intensität mit Alcianblau bei pH 2,5, in schwacher Intensität mit pH 1,0, anfärbt und schwach PAS-positiv ist (Abbildung 30: D, Abbildung 31: F). Das gleiche Anfärbungsverhalten zeigt die dermale Haarwurzelscheide (Abbildung 30: D, Abbildung 31: F). Es sind in der dermalen Haarwurzelscheide (Abbildung 30: D) und im subepidermalen Bindegewebe freie Zellen, die teilweise mit Alcianblau bei pH 2,5 und 1,0 positiv reagieren anzutreffen. Auch mit der Hämalaun-Eosin- und der Trichrom-Färbung lassen sich im subepithelialen Bindegewebe des dermalen Stratum reticulare große Ansammlungen freier Zellen um Kapillaren darstellen (Abbildung 31: B, D). Das Stratum papillare der Dermis ist sehr deutlich ausgeprägt (Abbildung 30: A, Abbildung 31: A, D) Die Nervenfasern, die sich bei dem Fetus mit der SSL 67,8 cm unterhalb der Talgdrüsen erstmals darstellen lassen (Abbildung 24: B), sind hier wesentlich stärker ausgeprägt (Abbildung 30: C).

**Abbildung 30: Bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 20 Monaten**

Das Stratum papillare der Dermis ist bei den adulten Tieren stark ausgeprägt. Die Nervenzellansammlung unterhalb der Talgdrüsen hat ihre volle Größe erreicht. Alcianblau färbt freie Zellen, die dermale Papille und die Endstücke der Schweißdrüsen an.

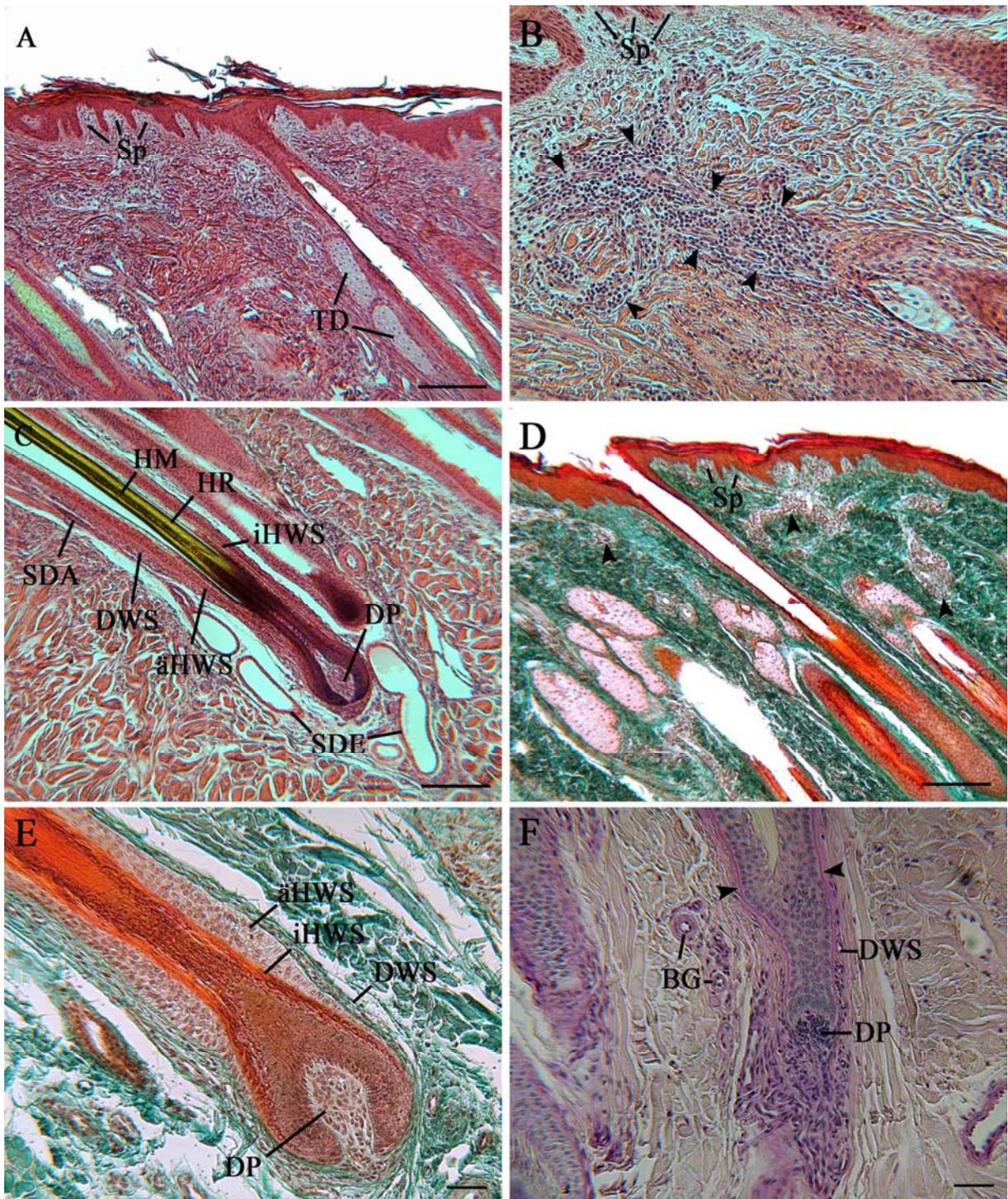
**A: 20 Monate altes Rind, Vordergliedmaße, Trichrom, deutliche Ausbildung eines Stratum papillare (Sp) der Dermis, SB: 50 µm;**

**B: 20 Monate altes Rind, Vordergliedmaße, Trichrom, Stratum basale (Sb) aus leicht hochprismatischen Zellen, Stratum spinosum (Ss) drei bis vier Zellschichten, Stratum granulosum (Sg) ein bis zwei Zellschichten mit nur wenigen Granula, Stratum corneum (Sc) mehrschichtig mit deutlichen Abschilferungen, SB: 50 µm;**

**C: 20 Monate altes Rind, Vordergliedmaße, HE, Pfeilspitzen: Ansammlung von kleinen Zellen mit stark basophilem Zellkern unterhalb der Talgdrüse (TD), nahe dem Musculus arrector pili (Map), SB: 50 µm;**

**D: 20 Monate altes Rind, Vordergliedmaße, Alcianblau bei pH 2,5, starke positive Reaktion im Sekret des Schweißdrüsenendstückes (SDE) und an der apikalen Zellmembran (Pfeil), sowie partiell im Zytoplasma der Drüsenzellen, starke Reaktion in freien Zellen im Bereich der dermalen Haarwurzelscheide (DWS), ansonsten hier schwache Reaktion, schwache mit mittlere Reaktion in der dermalen Papille (DP), SB: 50 µm.**

Abbildung 31: Bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 4,5 Jahren



Die Haaranlagen befinden sich bei dem 4,5 Jahre alten Tier zumeist im Anagen, partiell aber auch im Katagen. Es lassen sich große Ansammlungen von freien Zellen im subepidermalen Stratum reticulare der Dermis finden.

**A: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, HE, ausgeprägtes Stratum papillare (Sp) der Dermis, im subepithelialen Stratum reticulare der Dermis zahlreiche Kapillaren und freie Zellen, TD: Talgdrüse, SB: 200 µm;

**B: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, HE, Pfeilspitzen: Bereich mit zahlreichen Kapillaren und freien Zellen im Stratum reticulare dicht unter dem Stratum papillare (Sp), SB: 50 µm;

**C: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, HE, Haaranlage im Anagen, dermale Papille (DP), Haarmark (HM), Haarrinde (HR), innere (iHWS) und äußere Haarwurzelscheide (äHWS), dermale Haarwurzelscheide (DWS), Schweißdrüsenendstücke (SDE) und Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) sind gut differenzierbar, SB: 200 µm;

**D: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, Trichrom, Übersicht, Ausgeprägtes Stratum papillare (Sp) der Dermis, Pfeilspitzen: Bereiche mit zahlreichen Kapillaren und freien Zellen, hier wird durch die schwache Anfärbung dieser Bereiche deutlich, dass wenige Bindegewebsfasern vorliegen, SB: 200 µm;

**E: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, Trichrom, Haarzwiebel im Anagen, dermale Papille (DP) wird vollständig von Haarzwiebel umschlossen, Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide (iHWS) ist bis in die Haarzwiebel hinein zu verfolgen, suprabulbär ist die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) beidseits leicht verdickt im Vergleich zum oberen Bereich, dermale Haarwurzelscheide (DWS) ist zwei- bis dreischichtig und geht an der Zwiebel in die dermale Papille (DP) über, SB: 50 µm;

**F: 4,5 Jahre altes Rind, Vordergliedmaße**, PAS-Reaktion; Haarzwiebel einer Haaranlage im fortgeschrittenen Katagen, leicht positive Reaktion in der dermalen Haarwurzelscheide (DWS) und der dermalen Papille (DP), die nur noch partiell von der Haarzwiebel umfasst wird, leichte Reaktion in der Tunica media der Blutgefäße (BG), Reaktion mittlerer Intensität in der Basalmembran der Haaranlage (Pfeilspitzen), SB: 50 µm.

## **2. Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen**

Die im Kapitel Material und Methoden aufgelisteten Kontrollen wurden bei jeder der folgenden Untersuchungen durchgeführt. Die Positivkontrollen entsprechen dem Expressionsmuster, das für das verwendete Gewebe typisch ist und die Negativkontrollen zeigen keinerlei Anfärbung, so dass von einer spezifischen Bindung der Antikörper in den beschriebenen Bereichen auszugehen ist.

### **2.1. Expression von Laminin in der bovinen Haut**

#### **2.1.1. Übersicht**

Laminin lässt sich in allen Basalmembranen nachweisen, die die Zellpopulationen epithelialen Ursprungs unterlagern sowie in der Basalmembran des Endothels der Blutgefäße. Außerdem zeigt sich entwicklungsstufenabhängig eine Expression in den Zellen des Stratum basale, den Muskelzellen des Musculus arrector pili, den Fibrozyten der dermalen Papille und den bindegewebigen Anteilen von Nerven.

#### **2.1.2. Expressionsmuster von Laminin in der Haut boviner Feten**

Bereits bei der fetalen Größe von 8,5 cm ist eine starke Reaktion in der Basalmembran der Epidermis, sowie den Endothelzellen der Blutgefäße und deren Basalmembran erkennbar. Eine leichte positive Reaktion im subepidermalen Mesenchym ist ebenfalls zu verzeichnen. Die SSL 15,7 cm zeigt zusätzlich eine Expression von Laminin in Bindegewebe, welches einzelne Muskelfasern in der tiefen Subcutis umgibt. Die positive Reaktion im subepidermalen Bindegewebe ist nun etwas stärker ausgeprägt als bei früheren, fetalen Stadien (Abbildung 32: A). Ab einer SSL von 23,8 cm ist eine Expression mittleren Maßes im Stratum basale erkennbar. Die Basalmembran aller epidermalen Anteile färbt sich sehr stark, wobei insbesondere die der Schweißdrüsenanlage eine besonders starke Reaktion aufweist. Bei dieser fetalen Größe zeigt sich auch eine Anfärbung der dermalen Präpapille von mittlerer Stärke und die Reaktion des subepidermalen Bindegewebes gewinnt weiterhin leicht an Stärke und räumlichem Umfang (Abbildung 32: B). Ab der SSL 34,0 cm zeigt sich zusätzlich eine positive Reaktion in den Muskel- und Bindegewebszellen des Musculus arrector pili in mittlerem Umfang wohingegen die Expression von Laminin im subepidermalen Bindegewebe ab diesem Stadium nicht mehr nachweisbar ist. Dieses Expressionsmuster ist bis zur SSL von 63,0 cm in den beschriebenen Lokalisationen nachweisbar. Ab dieser fetalen Größe kann nun zusätzlich zu den bisher als positiv registrierten Lokalisationen (Stratum basale mit Basalmembran, Endothel mit Basalmembran, Basalmembran der epidermalen Anteile der Haaranlage, Muskel- und Bindegewebszellen des Musculus arrector pili, dermale Papille) eine Anfärbung der bindegewebigen Anteile von Nerven (Endo-, Peri- und Epineurium) festgestellt werden. Ab der SSL 67,8 cm kann keine positive Reaktion des Stratum basale mehr nachgewiesen werden. Ansonsten zeigt sich die Expression von Laminin in allen Basalmembranen, der dermalen Papille, dem Endothel sowie den bindegewebigen Anteilen von Nerven als sehr stark (Abbildung 32: D). Dieses Expressionsmuster bleibt auch bis zum größten, untersuchten, fetalen Stadium von 95,0 cm erhalten.

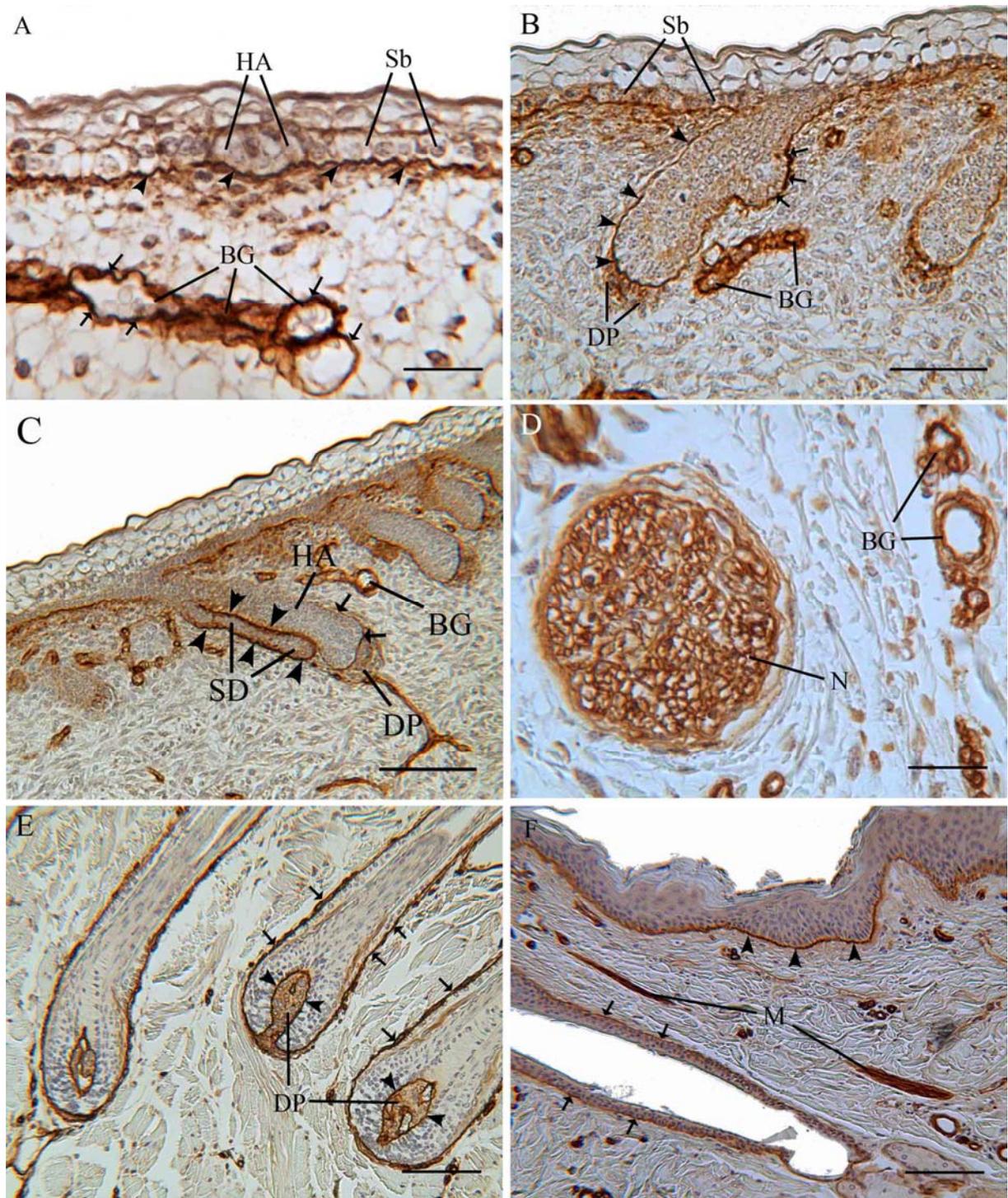
### **2.1.3. Expressionsmuster von Laminin in der Haut von Kälbern**

Das Expressionsmuster in den postnatalen Proben entspricht dem der größten fetalen Stadien. Das bedeutet eine positive Reaktion in der Basalmembran der Epidermis und der Basalmembran, sowie des Zytoplasma des Endothels. Weiterhin zeigen sich deutlich positive Reaktionen im Musculus arrector pili, der dermalen Papille und den bindegewebigen Anteilen von Nerven.

### **2.1.4. Expressionsmuster von Laminin in der bovinen Haut adulter Tiere**

Auch die Haut der adulten Tiere weist deutlich positive Gewebeanteile auf. Hier ist eine starke Reaktion in der Basalmembran aller epithelialer Hautkomponenten, dem Endothel und seiner Basalmembran, ebenso wie im Musculus arrector pili, der dermalen Papille und dem Epi- Peri- und Endoneurium nachweisbar (Abbildung 32: F).

**Abbildung 32: Expression von Laminin in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 64,8 cm und bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 20 Monaten**



**A: SSL 15,7 cm, Hintergliedmaße**, Epidermis mit früher Haaranlage (HA) und subepitheliales Bindegewebe mit Blutgefäßen (BG), Pfeilspitzen: positive Reaktion in der Basalmembran der Epidermis, Pfeile: positive Reaktion in den Endothelzellen und der zugehörigen Basalmembran der Blutgefäße (BG), Sb: Stratum basale, SB: 25 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Haaranlage mit sich bildender Schweißdrüsenanlage und Epidermis, leicht positive Reaktion im Stratum basale (Sb), der dermalen Präpapille (DP) und dem Endothel der Blutgefäße (BG) mit Basalmembran, Pfeile: starke Reaktion der Basalmembran der frühen Schweißdrüsenanlage, Pfeilspitzen: mittlere Reaktion in der Basalmembran der Haaranlage, SB: 50 µm;

**C: SSL 34,0 cm, Hintergliedmaße**, Übersicht über Epidermis, Haaranlage (HA), Schweißdrüsenanlage (SD), dermale Papille (DP) und Blutgefäße (BG), Pfeile: leichte positive Reaktion der Basalmembran der Haaranlage (HA), Pfeilspitzen: starke positive Reaktion der Basalmembran der Schweißdrüsenanlage (SD), SB: 100 µm;

**D: SSL 63,0 cm, Scheitel**, Nerv (N) in der Sucutis und Blutgefäße (BG), positive Reaktion von Endo- Peri- und Epineurium, SB: 25 µm;

**E: SSL 64,8 cm, Scheitel**, Haarzwiebeln und dermale Papillen, Pfeilspitzen: starke positive Reaktion der Basalmembran unterhalb der Zellen der Haarmatrix, Pfeile: starke positive Reaktion der Basalmembran der äußeren Haarwurzelscheide, DP: dermale Papille, SB: 100 µm;

**F: adult, 20 Monate alt, Vordergliedmaße**, Epidermis, Haaranlage und Musculus arrector pili (M), stark positive Reaktion der Muskelzellen des Musculus arrector pili (M), Pfeilspitzen: stark positive Reaktion der epidermalen Basalmembran, Reaktion leichter bis mittlerer Stärke der Basalmembran der äußeren Haarwurzelscheide, SB: 100 µm.

**Tabelle 8: Expression von Laminin in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Sb	BM/ Ed	BM/ SD	BM/ HA	BM/ Et und Et	BM/TD	DP	N	M
8,5 cm	-	++			+++			-	
11,0 cm	-	++			+++			-	
15,7 cm	-	++			+++			-	
23,8 cm	++	++	+++	++	+++		++	-	
29,0 cm	+	++	+++	++	+++		++	-	
34,0 cm	++	++	+++	++	+++		++	-	++
37,3 cm	-	++	+++	++	+++	++	++	-	++
41,4 cm	++	++	+++	++	+++	++	++	+	++
49,0 cm	++	++	+++	++	+++	++	++	+	++
58,0 cm	++	++	+++	++	+++	++	+++	+	++
63,0 cm	+	++	+	+	+++	++	++	++	++
64,8 cm	-	+	-	+	+++	+	++	++	++
67,8 cm	++	++	-	++	+++	++	++	++	++
80,5 cm	+	++	-	++	+++	++	++	++	++
94,5 cm	++	++	+	++	+++	++	++	+++	+++
95,0 cm	+	++	-	++	+++	++	++	++	+++
2 T	+	++	-	++	+++	++	++	++	+++
7 T	+	++	-	++	+++	++	++	++	+++
9 T	++	++	+	++	+++	++	+++	++	++
20 Mo	+	++	-	++	+++	++	++	++	+++
54 Mo	+	+	-	+	+++	++	++	++	++
60 Mo	+	++	-	++	+++	++	++	++	+++

BM/Et und Et: Basalmembran des Endothels und Endothel, BM/HA: Basalmembran der Haaranlage, BM/Ed: Basalmembran der Epidermis, BM/SD: Basalmembran der Schweißdrüse, BM/TD: Basalmembran der Talgdrüse, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, M: Musculus arrector pili, Mo: Alter in Monaten, N: Bindegewebe um Nervenfasern, Sb: Stratum basale, T: Alter in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.2. Expression von Vimentin in der bovinen Haut**

### **2.2.1. Übersicht**

Während der fetalen bovinen Hautentwicklung ist Vimentin als Marker für Zellen mesenchymalen Ursprungs in den Fibrozyten, den Endothelzellen der Blutgefäße, der dermalen Haarpapille, ebenso wie in der dermalen Haarwurzelscheide auffindbar. Weiterhin konnten mit Hilfe dieser immunhistologischen Untersuchung dendritische Zellen, die in der Haut in Form von Langerhanszellen und Melanozyten auftreten, in verschiedenen epithelialen Anteilen der Haut und in der postnatalen, sowie in der adulten Haut auch im subepidermalen Bindegewebe detektiert werden.

### **2.2.2. Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten**

Die Expression von Vimentin beschränkt sich bei der SSL 8,5 cm auf das Zytoplasma der Fibrozyten und die Endothelzellen der Blutgefäße. In diesem Entwicklungsstadium ist die noch sehr aufgelockerte Architektur des Mesenchyms erkennbar, die während der weiteren Entwicklung an Dichte gewinnt. Bei der SSL 11,0 cm werden Unterschiede in der Gewebestruktur des Mesenchyms zwischen der Scheitel- und Hintergliedmaßenprobe erkennbar. Die Probe des Scheitels weist eine bereits verdichtete Struktur dieses Gewebeanteils vor allem im subepithelialen Bereich auf (Abbildung 33: A), wohingegen die Probe der Hintergliedmaße durch eine noch wesentlich lockerere Anordnung der Mesenchymzellen gekennzeichnet ist. Bei der Probe der SSL 15,7 cm ist dieser Unterschied nicht mehr erkennbar und es wird subepithelial eine verstärkte Verdichtung der Mesenchymzellen ebenso wie im Bereich der Präpapille (Abbildung 33: B) und der sich entwickelnden dermalen Haarwurzelscheide sichtbar. Zusätzlich zu diesem Expressionsmuster zeigen sich ab einer SSL von 29,0 cm Vimentin-positive Zellen mit dendritischer Struktur im Bereich des Oberflächenepithels. In diesem fetalen Entwicklungsstadium sind diese Zellen nur vereinzelt im Stratum basale des Epithels anzutreffen. Abgesehen von der leichten positiven Reaktion, die ab der SSL 34,0 cm in den Muskelzellen des Musculus arrector pili erscheint, bleibt die Expression von Vimentin im Bereich der Fibrozyten, des Endothels, der dermalen Präpapille und der dermalen Haarwurzelscheide wie bisher beschrieben erhalten. Ab der SSL 49,0 cm nimmt die Anzahl der dendritischen Zellen jedoch zu und diese sind nun deutlich erkennbar auch in der Haaranlage anzutreffen (Abbildung 33: D). Außerdem nimmt die Intensität der Anfärbung in den übrigen als positiv angesprochenen Zellpopulationen gleichmäßig an Intensität zu. Während der weiteren Entwicklung beschränken sich grundlegende Änderungen im Expressionsmuster lediglich auf die in unterschiedlichen Lokalisationen aufgefundenen, dendritischen Zellen. Sie finden sich in unterschiedlicher Häufigkeit im Stratum basale, Stratum spinosum, der äußeren Haarwurzelscheide und der Haarzwiebel (Abbildung 33: D, E, F).

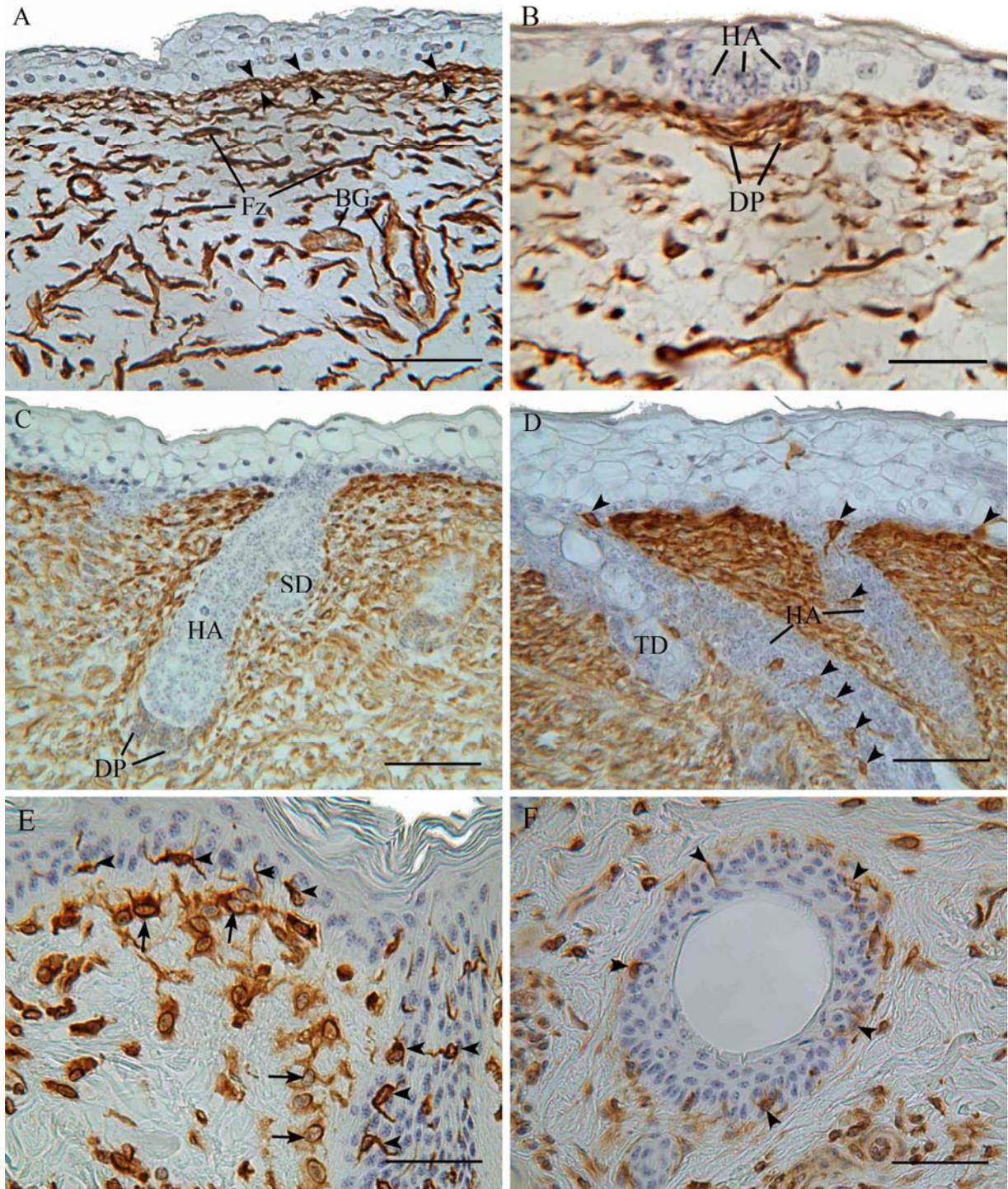
### **2.2.3. Expression von Vimentin in der Haut von Kälbern**

Auch die Proben der Kälber zeigen eine positive Reaktion in den folgenden Bereichen: Fibrozyten, Blutgefäßendothel, Musculus arrector pili, dermale Papille, dermale Haarwurzelscheide und dendritische Zellen vor allem im Stratum basale, Stratum spinosum und der äußeren Haarwurzelscheide. Die Probe des neun Tage alten Kalbes weist im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide dendritische Zellen im Haaranlagenabschnitt oberhalb der Drüsenabgänge auf. Außerdem sind in den Proben dieses Tieres, ähnlich wie bei denen der adulten, dendritische Zellen im subepithelialen Bindegewebe nachweisbar.

### **2.2.4. Expression von Vimentin in der bovinen Haut adulter Tiere**

Die Proben der adulten Tiere zeigen eine starke Expression in den Fibrozyten der dermalen Papille, der dermalen Haarwurzelscheide und den Endothelzellen der Blutgefäße. Dem gegenüber ist die Expression in den übrigen Fibrozyten der Dermis nur schwach ausgeprägt. Die Muskelzellen des Haarmuskels zeigen eine Reaktion mittlerer Intensität. Ebenso wie bei dem neun Tage alten Kalb beschränken sich die in der äußeren Haarwurzelscheide gefundenen dendritischen Zellen auf den oberen Bereich der Haaranlage (Abbildung 33: E) bis auf die Höhe der abgehenden Talg- und Schweißdrüsen und lassen sich auch im subepithelialen Bindegewebe nachweisen (Abbildung 33: F).

**Abbildung 33: Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten zwischen der SSL 11,0 cm und 49,0 cm und in der Haut adulter Tiere im Alter von 20 und 60 Monaten**



**A: SSL 11cm, Scheitel;** Epidermis mit Mesenchym; Endothel der Blutgefäße (BG) und Fibrozyten (FZ) mit positiver Reaktion; Pfeilspitzen: subepitheliale Verdichtung fibrozytären Zellanteilen, SB: 50 µm;

**B: SSL 15,7 cm, Scheitel,** frühe Haaranlage (HA) mit dermalen Präpapille (DP) in der Anteile von Fibrozyten verdichtet gegenüber dem umliegenden Bindegewebe erscheinen, SB: 25 µm;

**C: SSL 23,8 cm, Scheitel,** Haaranlage (HA) mit Schweißdrüsenanlage (SD) und dermalen Präpapille (DP) umgeben von Bindegewebe mit positiver Reaktion, SB: 50µm;

**D: SSL 49 cm, Hintergliedmaße,** zwei Haaranlagen (HA) mit einer Talgdrüsenanlage (TD), Pfeilspitzen: dendritische Zellen in der äußeren Zellpopulation der Haaranlagen und im Stratum basale, SB: 50µm;

**E: adult, 20 Monate alt, Vordergliedmaße,** Epithel mit subepitheliales Bindegewebe, Pfeilspitzen: dendritische Zellen im Stratum basale, Pfeile: dendritische Zellen im subepitheliales Bindegewebe, SB: 50 µm;

**F: adult, 60 Monate alt, Vordergliedmaße,** Querschnitt durch eine Haaranlage im Bereich oberhalb des Haarwulstes, Pfeilspitzen: dendritische Zellen in der äußeren Haarwurzelscheide, SB: 50 µm.

**Tabelle 9: Übersicht Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	DWS	DP	Fz	Et
8,5 cm			++	+++
11,0 cm			++	++
15,7 cm		++	++	++
23,8 cm	+	+	++	++
29,0 cm	+	+	+++	++
34,0 cm	+	+	++	++
37,3 cm	+	-	++	++
41,4 cm	+	-	++	+++
49,0 cm	++	+	++	+++
58,0 cm	++	++	++	+++
63,0 cm	++	++	++	+++
64,8 cm	++	++	++	+++
67,8 cm	++	++	++	+++
80,5 cm	++	++	++	+++
94,5 cm	++	++	++	+++
95,0 cm	++	++	++	+++
2 T	++	+++	+	+++
7 T	++	++	+	+++
9 T	++	++	+	+++
20 Mo	++	+++	+	+++
54 Mo	++	+++	+	+++
60 Mo	++	+++	+	+++

cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: dermale Papille, DWS: dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel, Fz: Fibrozyten, Mo: Alter der adulten Rinder in Monaten, T: Alter der postnatalen Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.3. Expression von $\alpha$ -SMA in der bovinen Haut**

### **2.3.1. Übersicht**

Strukturen mit einer Expression von  $\alpha$ -SMA im bovinen Hautentwicklungsvorgang sind glatte Muskelzellen in der Tunica media und externa der Blutgefäße. Auch der Musculus arrector pili setzt sich durch eine deutliche Expression optisch vom umgebenden Gewebe ab. Als Anteil der Haaranlage zeigt die dermale Wurzelscheide eine positive Reaktion. Ebenso kann eine deutliche Expression von  $\alpha$ -SMA in den myoepithelialen Zellen der Schweißdrüsenendstücke nachgewiesen werden.

### **2.3.2. Expression von $\alpha$ -SMA in der Haut boviner Feten**

Bereits ab der kleinsten untersuchten fetalen Größe von SSL 8,5 cm zeigt sich eine ausgeprägte positive Reaktion in der Tunica media der Blutgefäße (Abbildung 34: A). Ab einer SSL von 34,0 cm kann  $\alpha$ -SMA zusätzlich im Musculus arrector pili nachgewiesen werden (Abbildung 34: B). Durch die Anfärbung kann der Verlauf des Muskels sehr gut nachvollzogen werden. Die myoepithelialen Zellen im Bereich der Schweißdrüsenendstücke zeigen ab der SSL von 41,4 cm eine stark positive Reaktion (Abbildung 34: D), so dass ab dieser SSL diese, wie auch die Tunica media der Blutgefäße und der Musculus arrector pili eine Expression von  $\alpha$ -SMA aufweisen. Auch die dermale Wurzelscheide ist ab der SSL 41,4 cm ein Bereich mit  $\alpha$ -SMA-Expression (Abbildung 34: D). Bis zum Entwicklungsstadium der SSL 63,0 cm ist die positive Reaktion nur partiell und in schwacher bis mittlerer Stärke in den dermalen Anteilen, welche die Haarzwiebel und den unteren Bereich der Haaranlage bis auf Höhe der Wulstregion umgeben, ausgeprägt. Ab der SSL 64,8 cm bis hin zu den adulten Tieren nimmt die Intensität der Anfärbung zu, bleibt jedoch auf die oben beschriebene Region begrenzt (Abbildung 34: E, F). Während der fetalen Entwicklung der Haut nimmt die Anzahl der Blutgefäße in der Haut zu. Das Expressionsmuster mit einer positiven Reaktion in der Tunica media bleibt allerdings bei allen Entwicklungsstadien erhalten.

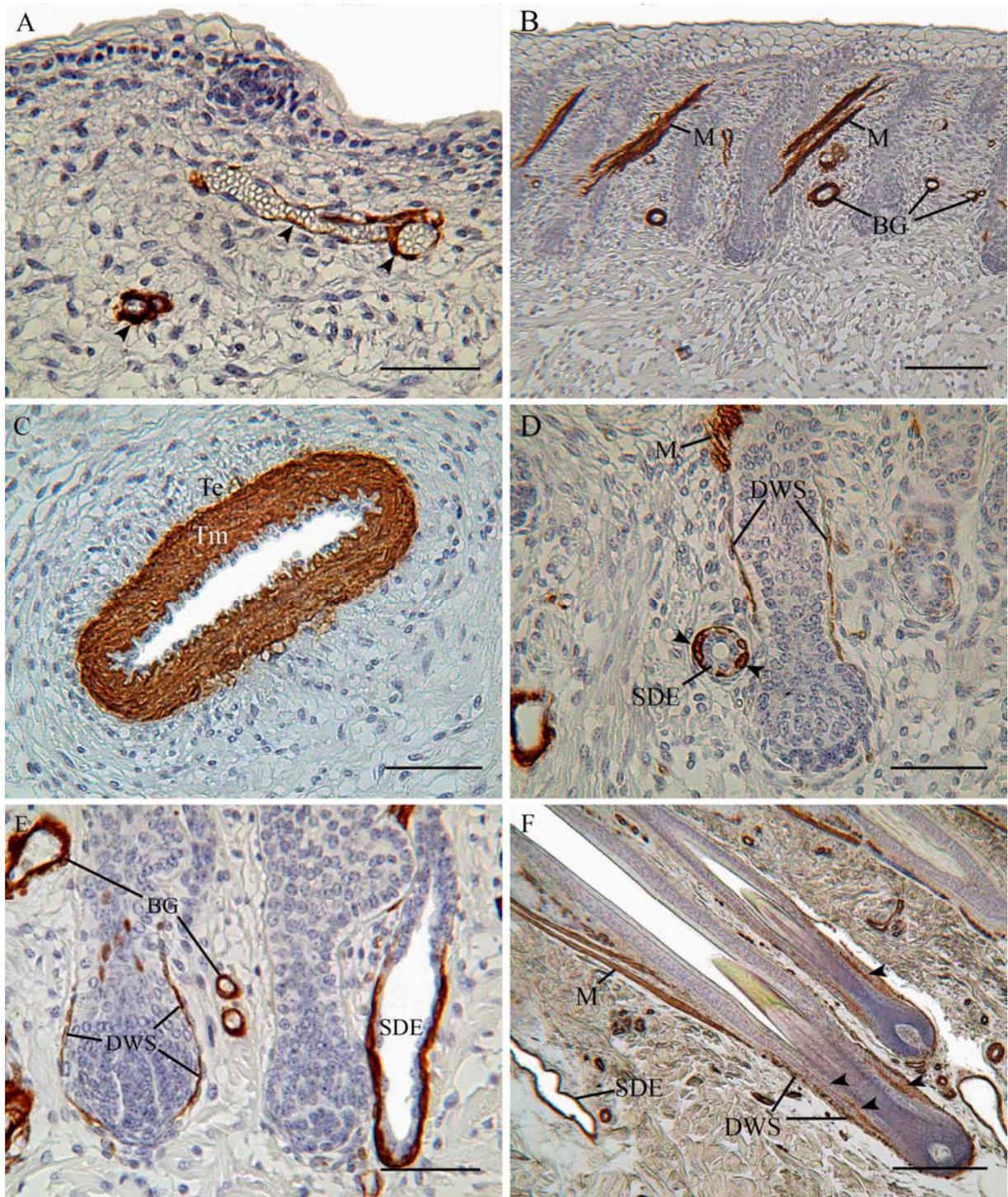
### **2.3.3. Expression von $\alpha$ -SMA in der Haut von Kälbern**

Das Expressionsmuster der postnatalen Haut entspricht weitestgehend dem der späten fetalen Stadien. Dies bedeutet eine positive Reaktion in der Tunica media der Blutgefäße, eine Anfärbung des Musculus arrector pili, sowie der myoepithelialen Zellen der Schweißdrüsenendstücke. Ebenfalls ist eine leichte positive Reaktion in der dermalen Haarwurzelscheide sowie von der Haarzwiebel bis zur Wulstregion erkennbar. Eine Zellpopulation, die erst bei der Probe den Proben des neun Tage alten Kalbes eine Expression von  $\alpha$ -SMA aufweist, ist der suprabulbäre Bereich der inneren Anteile der äußeren Haarwurzelscheide.

#### **2.3.4. Expression von $\alpha$ -SMA in der bovinen Haut adulter Tiere**

Die Expression von  $\alpha$ -SMA in der adulten bovinen Haut konzentriert sich ebenso wie bei der postnatalen Haut auf die Tunica media der Blutgefäße, die myoepithelialen Zellen der Schweißdrüsenendstücke, den Musculus arrector pili und den unteren Bereich der dermalen Haarwurzelscheide. Die Anfärbung der suprabulbären inneren Anteile der äußeren Haarwurzelscheide ist bei der adulten Haut stärker ausgeprägt als bei der postnatalen Haut (Abbildung 34: F).

Abbildung 34: Expression von  $\alpha$ -SMA in der Haut boviner Fetten mit einer SSL zwischen 14,5 cm und 63,0 cm und in der bovinen Haut eines adulten Tieres im Alter von 54 Monaten



**A: SSL 14,5 cm, Hintergliedmaße,** Blutgefäße, Pfeilspitzen: positive Reaktion in der Tunica media der Blutgefäße, SB: 50 µm,

**B: SSL 37,3 cm, Scheitel,** Haaranlagen mit Musculus arrector pili (M) und Blutgefäßen (BG), positive Reaktion in der Tunica media der Blutgefäße (BG) und dem Musculus arrector pili (M), SB: 100 µm,

**C: SSL 37,3 cm, Hintergliedmaße,** Querschnitt durch eine Arterie in der tiefen Dermis, positive Reaktion in der stark ausgeprägten Tunica media (Tm), die von der Tunica externa (Te) umgeben wird, SB: 50 µm,

**D: SSL 41,4 cm, Scheitel,** Haaranlage mit zugehörigem Musculus arrector pili (M) und quergeschnittenem Schweißdrüsenendstück (SDE), positive Reaktion im Musculus arrector pili (M), unteren Drittel der dermalen Haarwurzelscheide (DWS), Pfeilspitzen: positive Reaktion in den myoepithelialen Zellen des Schweißdrüsenendstücks (SDE), SB: 50 µm,

**E: SSL 63,0 cm, Scheitel,** Haaranlage mit dermalen Haarwurzelscheide (DWS), Blutgefäße (BG) und Schweißdrüsenendstück (SDE), positive Reaktion in der die Haarzwiebel umgebende dermalen Haarwurzelscheide (DWS) (der Haaranlage rechts daneben fehlt diese Expression), der Tunica media (TM) der Blutgefäße (BG) und den myoepithelialen Zellen des Schweißdrüsenendstücks (SDE), SB: 50 µm;

**F: Adult, Alter: 54 Monate, Vordergliedmaße,** Haaranlage mit Musculus arrector pili (M) und Schweißdrüsenendstück (SDE), positive Reaktion in myoepithelialen Zellen des Schweißdrüsenendstücks (SDE), dem Musculus arrector pili (M), der unteren dermalen Haarwurzelscheide (DWS) von der Haarzwiebel, bis auf Höhe des Haarmuskelsansatzes, Pfeilspitzen: positive Reaktion in den inneren Bereichen der äußeren Haarwurzelscheide begrenzt auf eine kurze Strecke oberhalb der Haarzwiebel, SB: 30 µm.

**Tabelle 10: Übersicht Expression von  $\alpha$ -SMA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	BG/Tm	M	DWS	MEZ	ähWS/sb
8,5 cm	+++				
11,0 cm	+++		-		-
15,7 cm	+++		-		-
23,8 cm	+++		-		-
29,0 cm	+++		-		-
34,0 cm	+++	++	-		-
37,3 cm	+++	+++	-	-	-
41,4 cm	+++	+++	+	++	-
49,0 cm	+++	+++	+	++	-
58,0 cm	+++	+++	++	+++	-
63,0 cm	+++	+++	++	+++	-
64,8 cm	+++	+++	++	+++	-
67,8 cm	+++	+++	++	+++	-
80,5 cm	+++	+++	++	+++	-
94,5 cm	+++	+++	++	+++	-
95,0 cm	+++	+++	+++	+++	-
2 T	+++	+++	++	+++	-
7 T	+++	+++	++	+++	-
9 T	+++	+++	+++	+++	++
20 Mo	+++	+++	+++	+++	+++
54 Mo	+++	+++	+++	+++	+++
60 Mo	+++	+++	+++	+++	+++

ähWS/sb: suprabulbärer Bereich der äußeren Haarwurzelscheide, BG/Tm: Tunica media der Blutgefäße, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DWS: dermale Wurzelscheide, M: Musculus arrector pili, MEZ: myoepitheliale Zellen der Schweißdrüsenendstücke, Mo: Alter in Monaten, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## 2.4. Expression von Kollagen Typ IV in der bovinen Haut

### 2.4.1. Übersicht

Kollagen Typ IV wird in der fetalen Haut des Rindes hauptsächlich in den Basalmembranen exprimiert, die sich unter der Epidermis, dem Epithel der Haaranlagen, dem Drüsenepithel und dem Endothel der Blutgefäße befinden. Außerdem zeigen die Bindegewebsfasern welche die Muskelzellen des Musculus arrector pili ebenso wie solche, die die Nervenfasern umgeben, eine Expression von Kollagen Typ IV.

#### **2.4.2. Expression von Kollagen Typ IV in der Haut boviner Feten**

Bereits ab der kleinsten untersuchten fetalen Größe (SSL 8,5 cm) wird Kollagen Typ IV in der Basalmembran der Epidermis sowie der Basalmembran des Endothels der Blutgefäße nachgewiesen. Die subepidermale Basalmembran weist ab einer SSL von 15,7 cm eine deutliche Verminderung der Kollagen IV -Expression unterhalb der frühen Haaranlagen auf (Abbildung 35: B, C), während die Expression in den übrigen Bereichen der Basalmembran weiterhin stark bleibt. Die Anfärbung der subendothelialen Basalmembran behält bei allen folgenden fetalen Entwicklungsstadien ihre starke Intensität (Abbildung 35: A, B, C, D). Die Basalmembran der Drüsenanlagen zeigt ab der SSL 29,0 cm eine schwache Expression. Ab der SSL 34,0 cm kann zusätzlich zur starken Reaktion der subendothelialen Basalmembran zur mittleren der Basalmembran der Haaranlage und zur schwachen der Basalmembran der Drüsenanlage eine positive Reaktion in den um Nervenfasern angeordneten bindegewebigen Fasern (Endo-, Peri- und Epineurium) festgestellt werden. Zusätzlich zeigen auch Bindegewebsfasern im Bereich des Musculus arrector pili (Endo-, Peri- und Epimysium) eine deutliche Expression von Kollagen IV ab diesem fetalen Entwicklungsstadium (Abbildung 35: D). Im weiteren Verlauf der Fetogenese der Haut zeigen sich Änderungen im Expressionsmuster nur im Rahmen von Intensitätsänderungen der Anfärbung, nicht aber in der grundsätzlichen positiven oder negativen Reaktion einzelner Gewebebestandteile. So nimmt die Stärke der Expression in der Basalmembran der Talg- und Schweißdrüsenanlagen bis zur SSL von 64,8 cm zu (Abbildung 35: E) und die Anfärbung der Basalmembran der Haaranlage ist meist etwas schwächer ausgeprägt als die der Basalmembran der Epidermis. Ansonsten bleiben die Intensitäten der Reaktionen bis zu dieser SSL abgesehen von geringen Schwankungen im Entwicklungsverlauf gleich. Während der späteren fetalen Entwicklungsstadien ist wiederum eine Abnahme der Expression in der Basalmembran von Talg- und Schweißdrüsen erkennbar und auch die Basalmembranen von Epidermis und Haaranlagen zeigen nur noch eine schwach positive Reaktion (Abbildung 35: F). Die subendotheliale Basalmembran hingegen ist stark angefärbt, die Bindegewebsfasern des Musculus arrector pili weisen eine mittlere bis starke Expression und die Bindegewebsfasern im Bereich der Nerven eine schwache bis mittlere Reaktion auf.

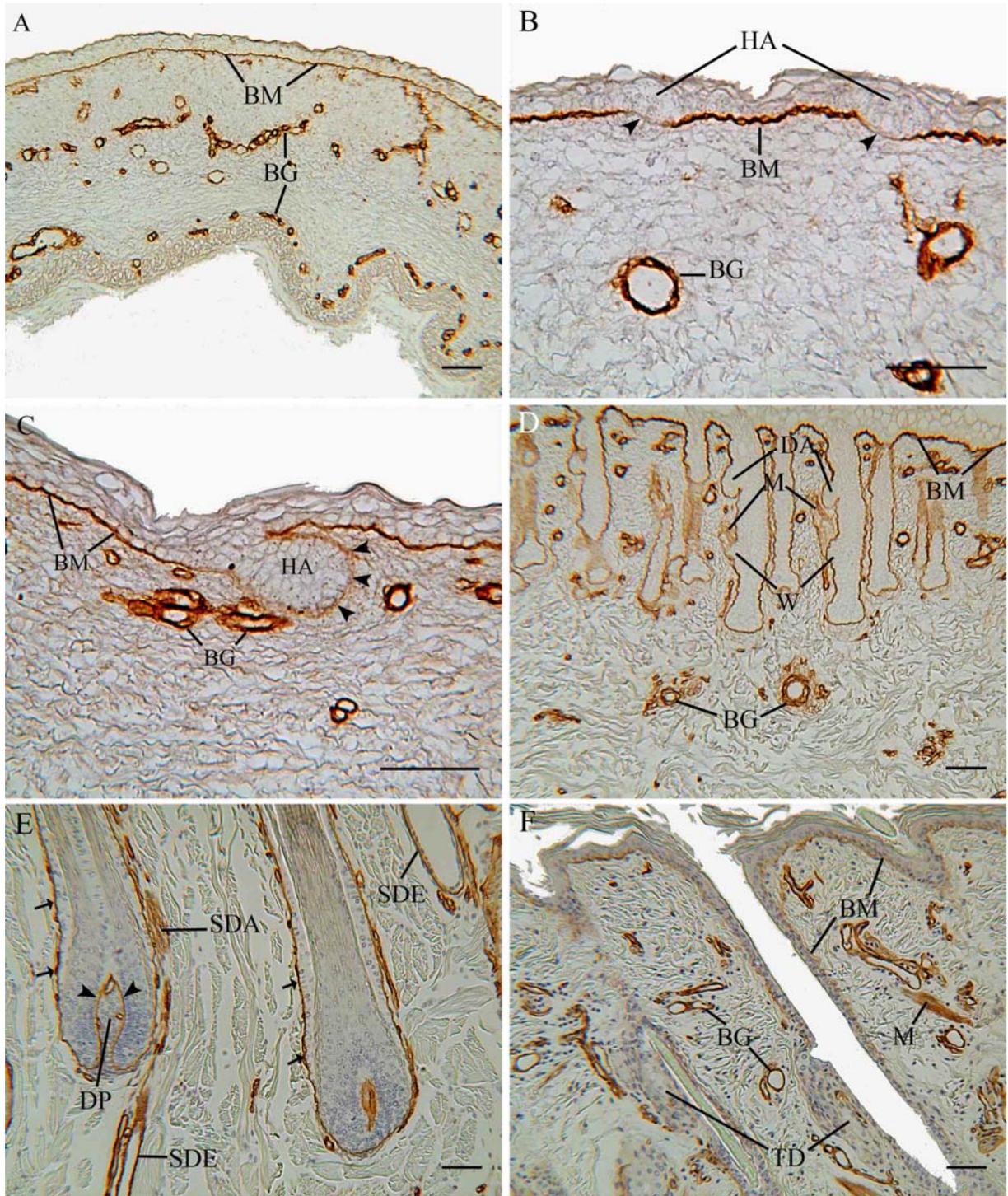
#### **2.4.3. Expression von Kollagen Typ IV in der Haut von Kälbern**

Ein extrazellulärer Anteil mit starker Kollagen IV Expression ist die dem Endothel unterlagerte Basalmembran. Ebenso wie die ältesten untersuchten Feten weisen auch die Kälber in ihrer Haut eine nur schwache Reaktion in den Basalmembranen von Epidermis, Haaranlagen und Hautdrüsen auf. Die Expression von Kollagen IV in bindegewebigen Anteilen der Nerven, welche in der Dermis lokalisiert sind, ist in schwachem Umfang ausgeprägt, während die Bindegewebsfasern, die mit dem Musculus arrector pili assoziiert sind, eine Reaktion mittlerer Intensität aufweisen.

#### **2.4.4. Expression von Kollagen Typ IV in der bovinen Haut adulter Tiere**

Wie auch bei den fetalen und postnatalen Proben lässt sich eine starke Expression von Kollagen Typ IV in der subendothelialen Basalmembran nachweisen. Die subepidermale Basalmembran hingegen zeigt im Gegensatz zu den meisten fetalen Entwicklungsstufen nur eine schwache Expression. Ebenso ist die Anfärbung der die Haaranlage umgebende bzw. unterlagernde Basalmembran in der adulten Haut verhältnismäßig gering ausgeprägt. Die Intensitäten der Anfärbung in beiden Basalmembrananteilen zeigen keinen Unterschied. Wie schon bei dem größten untersuchten Fetus und den Kälbern ist auch bei den adulten Proben eine leichte Expression im Bindegewebe von Nerven und eine mittlere Expressionsstärke in bindegewebigen Anteilen des Musculus arrector pili feststellbar.

**Abbildung 35: Expression von Kollagen Typ IV in der Haut boviner Fetten mit einer SSL zwischen 11,0 cm und 94,5 cm**



**A: SSL 11,0 cm, Hintergliedmaße;** Übersicht, Basalmembran (BM) der Epidermis und Basalmembran (BM) der Blutgefäße (BG) mit positiver Reaktion, SB: 50 µm;

**B: SSL 15,7 cm, Scheitel;** Oberflächenepithel mit frühen Haaranlagen (HA) und subepitheliales Mesenchym mit Blutgefäßen (BG); verminderte Expression in Basalmembranabschnitten (BM), welche die Haaranlage (HA) unterlagern (Pfeile), SB: 50 µm;

**C: SSL 23,8 cm, Hintergliedmaße;** Oberflächenepithel mit Haaranlage (HA); Basalmembran (BM) des Oberflächenepithels mit starker Expression; Blutgefäße (BG) mit endothelialer Basalmembran (BM); Basalmembran (BM) um Haaranlage (HA) mit schwacher Expression (Pfeile) SB: 50 µm;

**D: SSL 37,3 cm, Scheitel;** Oberflächenepithel mit Haaranlage (HA), dazugehörigen Drüsenanlagen (DA) und Musculus arrector pili (M); Basalmembran (BM) der Epidermis; die gesamte Haaranlage (HA) mit ihrem Haarwulst (W) und der Drüsenanlage (DA) umgeben von einer Basalmembran (BM); Basalmembran (BM) des Endothels der Blutgefäße (BG) SB: 50 µm;

**E: SSL 64,8 cm, Scheitel,** Übersicht über zwei Haarwurzeln und die zugehörigen Schweißdrüsen (SD); Basalmembran (BM) der äußeren Haarwurzelscheide (stumpfe Pfeile), Basalmembran (BM) der Schweißdrüsenendstücke (SDE) und -ausführungsgänge (SDA), Basalmembran (BM) (spitze Pfeile) im Bereich der Matrixzellen (um dermale Papille (DP)); SB: 50 µm;

**F: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Oberflächenepithel und oberer Bereich einer Haaranlage (HA), Expression in der Basalmembran (BM) des Oberflächenepithels und der Haaranlage (HA) schwächer als bei früheren fetalen Stadien; Expression im Bindegewebe des Musculus arrector pili (M) stark, BG: Blutgefäß; SB: 50 µm.

**Tabelle 11: Übersicht Expression von Kollagen IV in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	BM/Ep	BM/HA	BM/SD,TD	BM/BG	M	N
8,5 cm	++			+++		
11,0 cm	++			+++		
15,7 cm	+++	+		+++		
23,8 cm	+++	+		+++		
29,0 cm	+++	+	+	+++		
34,0 cm	++	++	+	+++	+	+
37,3 cm	+++	+++	++	+++	+	+
41,4 cm	+++	++	++	+++	+	+
49,0 cm	+++	++	++	+++	+	+
58,0 cm	+	++	++	+++	++	+
63,0 cm	++	+	++	+++	++	+
64,8 cm	+++	++	+++	+++	++	+
67,8 cm	++	+	+	+++	++	+
80,5 cm	+++	++	+	+++	+++	++
94,5 cm	++	+	+	+++	+++	++
95,0 cm	+	-	-	+++	++	+
2 T	+	-	-	+++	++	+
7 T	+	+	+	+++	++	+
9 T	+	+	+	+++	++	+
20 Mo	+	+	+	+++	++	+
54 Mo	+	+	++	+++	++	+
60 Mo	++	+	++	+++	++	+

Spalte links: Größe der Feten (in cm), bzw. Alter der postnatalen Kälber in Tagen (T) und Alter der adulten Tiere in Monaten (Mo); obere Zeile: Strukturen in der Haut, welche eine Expression von Kollagen IV während der verschiedenen Entwicklungsstadien aufweisen; BM/BG: Basalmembran der Blutgefäße, BM/Ep: Basalmembran der Epidermis, BM/HA: Basalmembran der Haaranlage, BM/SD,TD: Basalmembran der Schweiß- und Talgdrüsen, M: Musculus arrector pili (extrazelluläre Anteile des Bindegewebes), N: Nervenfasern (extrazelluläre Anteile des Bindegewebes, das diese Nervenfasern umgibt), -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.5. Expression von S100 in der bovinen Haut**

### **2.5.1. Übersicht**

Eine Expression von S100 konnte im Rahmen dieser Arbeit im Bereich des Endothels der Blutgefäße festgestellt werden. Abhängig von der Größe des Feten war ebenfalls eine positive Reaktion im Bereich der Schweißdrüsen, der subepithelial gelegenen Fibrozyten sowie der Schwann-Zellen und in sehr schwacher Ausprägung auch im Bereich verschiedener Anteile der Haaranlagen sichtbar.

### **2.5.2. Expression von S100 in der Haut boviner Feten**

Der kleinste untersuchte Fetus zeigt bei einer SSL von 8,5 cm lediglich im Endothel der Blutgefäße eine schwache Reaktion, die sich auf das Zytoplasma konzentriert. Ab einer SSL von 23,8 cm ist die Intensität dieser positiven Reaktion erhöht (Abbildung 36: A) und hier wird nun auch stark vereinzelt eine Expression von S100 in subepithelial gelegenen Fibrozyten sichtbar, die sich auf den Zellkern und teilweise auch zellkernnahe zytoplasmatische Bereiche beschränkt. Ab dieser fetalen Größe zeigt sich auch eine schwache Anfärbung des Zytoplasmas des Schweißdrüsenepithels. Eine Änderung dieses Expressionsmusters ist ab der SSL 34,0 cm zu verzeichnen, ab der sich die positive Reaktion des Schweißdrüsenepithels auf die sich in Entwicklung befindlichen Endstücke beschränkt. Ab der SSL 41,4 cm kommt zu der beschriebenen Expression eine positive Reaktion im Bereich der Schwann-Zellen, die in Nerven der tiefen dermalen Anteile anzutreffen sind (Abbildung 36: A). In diesem Zelltyp konzentriert sich die Expression von S100 auf den Zellkern. Ab einer SSL von 64,8 cm ist weiterhin vereinzelt eine Expression in den Zellkernen subepithelialer Fibrozyten (Abbildung 36: C) sowie in Fibrozyten der dermalen Wurzelscheide zu sehen. Die Farbtintensität im Bereich des Endothels nimmt weiter zu. Auch die Schweißdrüsen zeigen weiterhin in den Endstücken eine positive Reaktion (Abbildung 36: B), ebenso wie die Zellkerne der Schwann-Zellen. Vereinzelt können auch positive Zellen im Musculus arrector pili gefunden werden. Die fetale Größe von 67,8 cm weist zusätzlich stark vereinzelt in der äußeren und inneren Zellpopulation der Haaranlage positive Reaktionen der Zellkerne auf. Ab dieser SSL nimmt die Häufigkeit der Anfärbung von Zellkernen der Schwann-Zellen weiter zu und die Expression im Bereich des Schweißdrüsenepithels ändert sich insofern, dass ab diesem fetalen Stadium nicht mehr das Endstück sondern der Ausführungsgang der Bereich der S100 Expression ist, der bis dahin nicht angefärbt war. Dieses Expressionsmuster bleibt auch bis zum größten untersuchten Fetus erhalten.

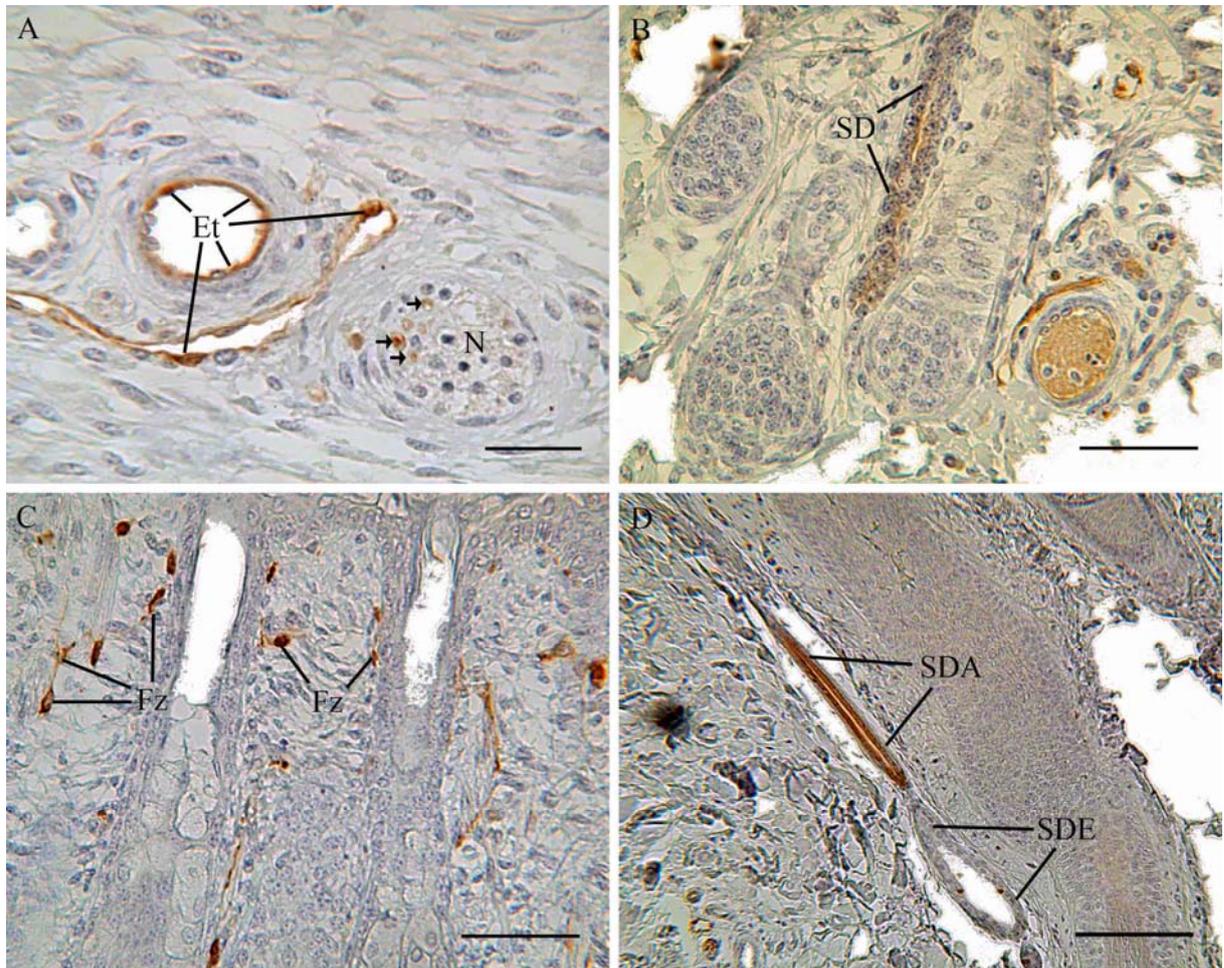
### **2.5.3. Expression von S100 in der Haut von Kälbern**

Auch die Haut der untersuchten Kälber zeigt ähnlich wie die der größten fetalen Stadien partiell eine positive Reaktion in subepithelialen Fibrozyten, dem Musculus arrector pili, sowie den nicht verhornten Anteilen der inneren wie äußeren Haarwurzelscheide. Regelmäßig ist die Expression im Ausführungsgang der Schweißdrüse sowie den Schwann-Zellen der Nerven zu erkennen.

### **2.5.4. Expression von S100 in der bovinen Haut adulter Tiere**

Die Proben der adulten Tiere zeigen ebenfalls eine Expression im Ausführungsgangepithel der Schweißdrüsen (Abbildung 36: D), dem Endothel, sowie partiell eine positive Reaktion in subepithelialen Fibrozyten und dem Musculus arrector pili. Die partielle Expression von S100 der Haarwurzelscheide, wie sie bei den Kälbern beobachtet werden kann, ist hier nicht mehr nachweisbar.

**Abbildung 36: Expression von S100 in der Haut boviner Feten zwischen der SSL 41,4 cm und 64,8 cm und in der bovinen Haut eines adulten Tieres im Alter von 54 Monaten**



**A: SSL 41,4 cm, Hintergliedmaße,** Blutgefäß und Nerv (N) in der tiefen Dermis, positive Reaktion im Endothel (Et) des Blutgefäßes, Pfeile: positive Reaktion in Zellkernen von Schwann-Zellen in einem Nerven (N), SB: 25 µm;

**B: SSL 63,0 cm, Scheitel,** Haaranlagen mit Schweißdrüsenanlage (SD), leichte positive Reaktion im Zytoplasma des Schweißdrüsenepithels, SB: 50 µm;

**C: SSL 64,8 cm, Scheitel,** oberer Anteil zweier Haaranlagen, vereinzelt positive Reaktion in subepithelialen Fibrozyten (Fz), SB: 50µm;

**D: Adult, 54 Monate, Vordergliedmaße,** Haaranlage mit zugehöriger Schweißdrüse, stark positive Reaktion im Ausführungsgangepithel der Schweißdrüse (SDA), keine Reaktion im Epithel des Schweißdrüsenendstückes (SDE), SB: 100 µm.

**Tabelle 12: Übersicht Expression von S100 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Fz	Et	SD	HWS	SZ	Map
8,5 cm	-	++			+++	
11,0 cm	-	++			+++	
15,7 cm	-	++			+++	
23,8 cm	++	++	+++	++	+++	
29,0 cm	+	++	+++	++	+++	
34,0 cm	++	++	+++	++	+++	
37,3 cm	-	++	+++	++	+++	++
41,4 cm	++	++	+++	++	+++	++
49,0 cm	++	++	+++	++	+++	++
58,0 cm	++	++	+++	++	+++	++
63,0 cm	+	++	+	+	+++	++
64,8 cm	-	+++	+++	+++	+++	+++
67,8 cm	-	+++	+++	+++	+++	+++
80,5 cm	-	+++	+++	+++	+++	+++
94,5 cm	-	+++	+++	+++	+++	+++
95,0 cm	-	+++	+++	++	+++	++
2 T	-	+++	+++	++	+++	++
7 T	-	+	+	+	+++	+
9 T	-	+++	+++	+++	+++	+++
20 Mo	-	+++	+++	+++	+++	+++
54 Mo	-	+++	+++	+++	+++	+++
60 Mo	-	+++	+++	+++	+++	+++

cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, Et: Endothel, Fz: Fibrozyten, HWS: epitheliale Haarwurzelscheide, Map: Musculus arrector pili, Mo: Alter adulter Rinder in Monaten, SZ: Schwann-Zellen T: Alter postnataler Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.6. Expression von Ki67 in der bovinen Haut**

### **2.6.1. Übersicht**

Während der verschiedenen fetalen Entwicklungsstadien lässt sich, ebenso wie bei den Kälbern und den adulten Tieren, in den meisten Anteilen der Haut eine Expression von Ki67 darstellen. Jedoch ist die Häufigkeit der positiven Zellkerne in den jeweiligen Zellpopulationen sehr unterschiedlich.

### **2.6.2. Expression von Ki67 in der Haut boviner Feten**

Bei einer SSL von 11 cm ist in mesenchymalen Bindegewebszellen vereinzelt eine Expression von Ki67 in den Zellkernen sichtbar. Die SSL 15,7 cm ist zusätzlich gekennzeichnet durch vereinzelte positive Reaktionen im Stratum basale, ebenso wie im Bereich der frühen Haaranlagen. Bei einer SSL von 23,8 cm setzt sich dieses Expressionsmuster fort, wobei zusätzlich auch positive Reaktionen in Zellen der sich bildenden dermalen Haarwurzelscheide zu beobachten sind. Ab der SSL 34,0 cm sind in der Haaranlage vorwiegend im äußeren Bereich Expressionen von Ki67 sichtbar. Außerdem zeigen hier auch einige Zellen der Schweißdrüsenanlagen eine positive Reaktion. Der Musculus arrector pili weist bei der SSL von 37,3 cm in einzelnen Muskelzellen eine Expression auf. Ab dieser fetalen Größe zeigt auch die Talgdrüsenanlage eine Anfärbung einiger Zellkerne und die äußere Zellpopulation der Haaranlagen lässt besonders häufig eine Proliferation, gekennzeichnet durch Ki67, erkennen (Abbildung 37: A). Die fetale Größe von 58,0 cm weist zusätzlich zu den bisher aufgeführten Lokalisationen der Ki67- Expression auch eine Reaktion in Zellen der Haarmatrix auf. Diese bleibt auch bei der SSL 63,0 cm und SSL 64,8 cm erhalten. Bei letzterer SSL zeigen im Bereich der Talgdrüsen häufig die Basalzellen eine positive Reaktion und die äußere Haarwurzelscheide ist besonders im Mündungsbereich der Talgdrüsen sowie im Halsbereich der Haaranlage von einer positiven Reaktion gekennzeichnet (Abbildung 37: B, C, D). Auch der Musculus arrector pili weist ab dieser fetalen Größe vereinzelt angefärbte Zellkerne auf. Dieses Expressionsmuster zeigt auch der Fetus der SSL 80,5 cm. Die SSL 95,5 cm und SSL 95,0 cm haben eine ähnliche Expression von Ki67, allerdings ist die Anzahl der positiven Zellkerne in der Haarzwiebel gegenüber den Proben ab einer SSL von 58,0 cm stark vermindert. In den übrigen Zellpopulationen der Haaranlage ist keine positive Reaktion bei diesen späten, fetalen Stadien sichtbar.

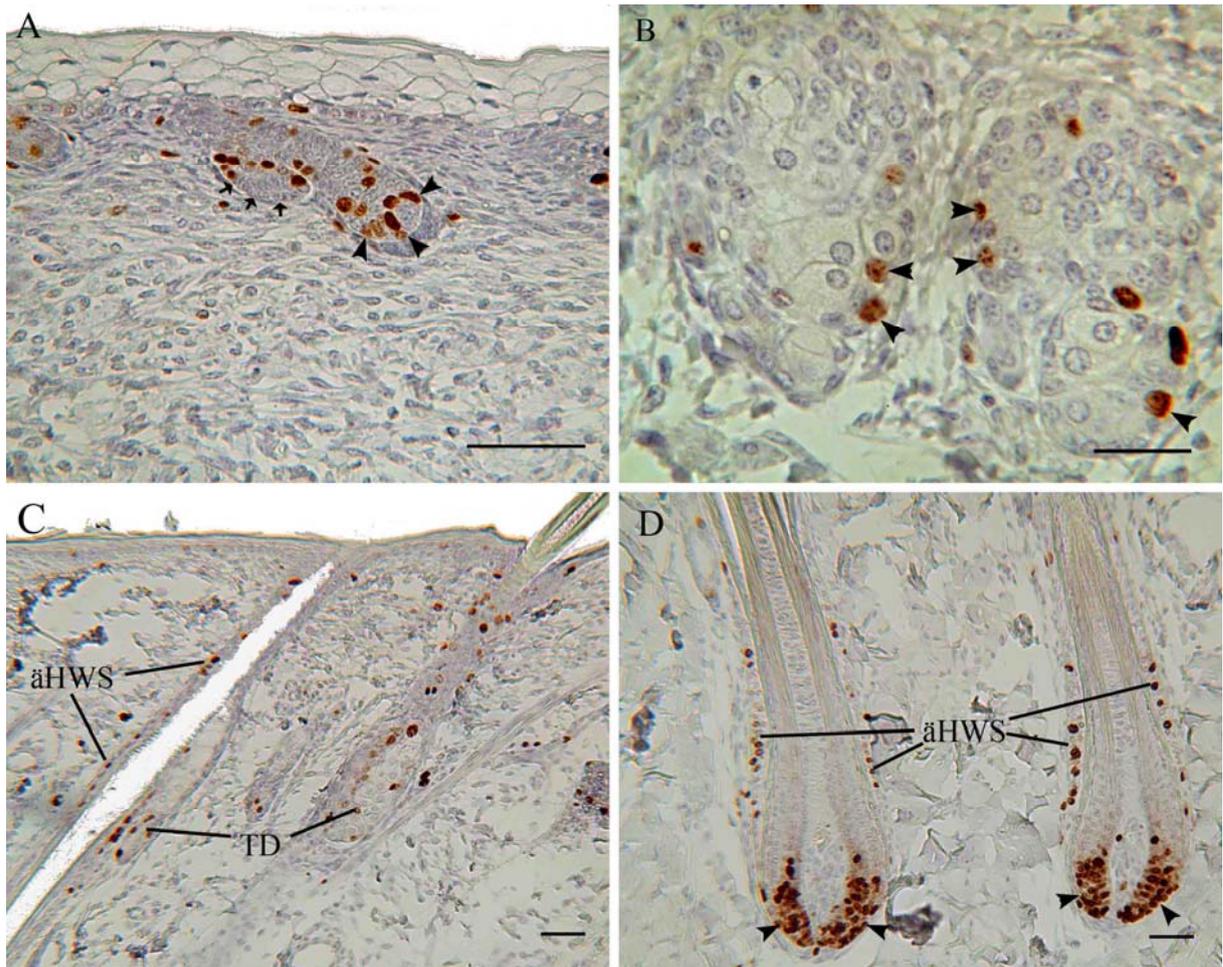
### **2.6.3. Expression von Ki67 in der Haut von Kälbern**

Das 2 Tage alte Kalb ebenso wie das 7 Tage alte zeigt nur sehr vereinzelt eine Expression von Ki67 im Stratum basale, der äußeren Haarwurzelscheide, den Talgdrüsen und der Haarzwiebel. Im Vergleich hierzu zeigt das 9 Tage alte Kalb eine häufige Reaktion im Stratum basale, Stratum spinosum, der äußeren Haarwurzelscheide (vorwiegend im Bereich der Drüsenabgänge) und der Basalzellen der Talgdrüsen. Vereinzelt ist auch Ki67 auch in Zellkernen von Fibrozyten der Dermis, in den Epithelzellen der Schweißdrüsen wie auch in einzelnen Zellen der Haarzwiebeln, die sich in dieser Probe zumeist im Katagen des Haarzyklus befinden, zu erkennen.

#### 2.6.4. Expression von Ki67 in der bovinen Haut adulter Tiere

Die Proben der adulten Tiere gleichen in ihrem Expressionsmuster in etwa dem des 9 Tage alten Kalbes. Auch hier wird der Unterschied in der Häufigkeit exprimierender Zellen in der Haarzwiebel zwischen dem Anagenstadium mit häufiger Expression und dem Katagenstadium mit seltener Expression deutlich.

**Abbildung 37: Expression von Ki67 in der Haut boviner Feten zwischen einer SSL von 37,3 cm bis 64,8 cm**



**A: SSL 37,3 cm, Hintergliedmaße,** Haar- und Schweißdrüsenanlage mit Epidermis, Pfeile: Schweißdrüsenanlage mit partieller positiver Reaktion in den Zellkernen, Pfeilspitzen: Haaranlage mit partieller positiver Reaktion vor allem im äußeren Bereich, SB: 50 µm;

**B: SSL 63,0 cm, Hintergliedmaße,** Talgdrüsen, Pfeilspitzen: positive Reaktion in den Basalzellen der Talgdrüse, SB: 25 µm;

**C: SSL 64,8 cm, Scheitel,** Haaranlage und Talgdrüse, partiell positive Reaktion in Zellkernen der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) und in den Basalzellen der Talgdrüse (TD), SB: 50 µm;

**D: SSL 64,8 cm, Scheitel,** Haarzwiebeln, partiell positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), Pfeilspitzen : positive Reaktion in den Zellkernen der Matrixzellen der Haarzwiebel, SB: 50 µm.

## **2.7. Expression von p63 in der bovinen Haut**

### **2.7.1. Übersicht**

Eine Expression von p63 kann während der Hautentwicklung in verschiedenen epidermalen Strukturen der Haut festgestellt werden. Besonders häufig ist, abhängig von der Entwicklungsstufe, die Expression im Stratum basale, der äußeren Haarwurzelscheide mit der Wulstregion, den Matrixzellen der Haarzwiebel, sowie den Basalzellen der Talgdrüse und den Epithelzellen der Schweißdrüse.

### **2.7.2. Expression von p63 in der fetalen bovinen Haut**

Der kleinste untersuchte Fetus (SSL 8,5 cm) weist eine Expression von p63 in der Mehrzahl der Zellkernbereiche des Stratum basale auf. Mit der Entwicklung der ersten Haaranlagen (SSL 11,0 cm, Scheitel) zeigen auch diese eine deutlich positive Reaktion (Abbildung 38: A). Ab dieser fetalen Größe ist auch im Stratum intermedium partiell eine Expression von p63 zu erkennen. Die Proben des Fetus mit einer SSL von 23,8 cm lassen eine positive Reaktion im Stratum basale beobachten. Ebenso zeigt sich in der äußeren Zellpopulation der Haaranlage eine Anfärbung im Bereich der Zellkerne. Eine weitere Zellpopulation mit positiver Reaktion auf p63 sind die äußeren Epithelzellen der sich entwickelnden Schweißdrüsen (Abbildung 38:B). Die Haaranlage weist in ihrer inneren Zellpopulation bei dieser fetalen Größe eine schwache Anfärbung der Zellkerne auf, wohingegen die basal liegenden Zellen eine mittlere bis starke Anfärbung ihrer Zellkerne erkennen lassen (Abbildung 38:B). Eine Expression von p63 ist im Stratum intermedium ab diesem fetalen Entwicklungsstadium nicht mehr feststellbar. Ab einer SSL von 34,0 cm zeigen auch die Anlagen der Talgdrüsen eine positive Reaktion in den Zellkernen der Basalzellen (Abbildung 38: E, Abbildung 39: D). Nun wird auch der Haarwulst erkennbar, der ebenso wie die übrige äußere Haarwurzelscheide eine Immunreaktion auf p63 von mittlerer bis starker Intensität erkennen lässt (Abbildung 38: C, E). Ab diesem Stadium wird auch das Expressionsmuster im Schweißdrüsenbereich deutlicher sichtbar. Eine Expression liegt in basal lokalisierten myoepithelialen Zellen des Schweißdrüsenepithels sowohl im Endstück als auch im Ausführungsgang vor (Abbildung 38: D und Abbildung 39: D). Ab der SSL von 58,0 cm sind partiell Veränderungen im oben beschriebenen Expressionsmuster zu erkennen. Die Haarzwiebel in den Zellkernen der Basalmembran anliegenden Matrixzellen zeigt eine stärkere positive Reaktion als bei den vorhergehenden Entwicklungsstadien (Abbildung 38: E). Dieser Haaranlagenbereich verändert sich ab der SSL 64,8 cm grundlegend. Die Zwiebelmatrix ist in diesem Stadium deutlich formiert, so dass unterschiedliche Differenzierungszone für die jeweiligen Bereiche der Haaranlage sichtbar werden (Abbildung 38: F). Nun zeigt sich eine positive Immunfärbung in allen Differenzierungszone, wobei nur die äußere Haarwurzelscheide eine Expression über die gesamte Haaranlagenlänge bis zur Epidermis erkennen lässt. Für die übrigen Zellpopulationen ist eine Beschränkung der positiven Reaktion auf die Differenzierungszone zu beobachten. Ab einer SSL von 67,8 cm erscheinen außer den Zellkernen des Stratum basale auch jene des Stratum spinosum teilweise positiv. Ansonsten ist auch weiterhin eine positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide den

Matrixzellen der Haarzwiebel, den Basalzellen der Talgdrüsen und den basal lokalisierten Zellen der Schweißdrüsenanlage zu verzeichnen. Ab einer SSL von 94,5 cm zeigen sich gehäuft Haaranlagen, welche sich im Katagen des Haarzyklus befinden. In den Zwiebeln dieser Haaranlagen ist eine Unterscheidung der verschiedenen Differenzierungszonen nicht möglich. Vorwiegend die basale Zellpopulation der Haarzwiebel weist eine positive Reaktion in ihren Zellkernen auf (Abbildung 39: A). Ansonsten bleibt das zuletzt beschriebene Expressionsmuster erhalten (Abbildung 39: A, B).

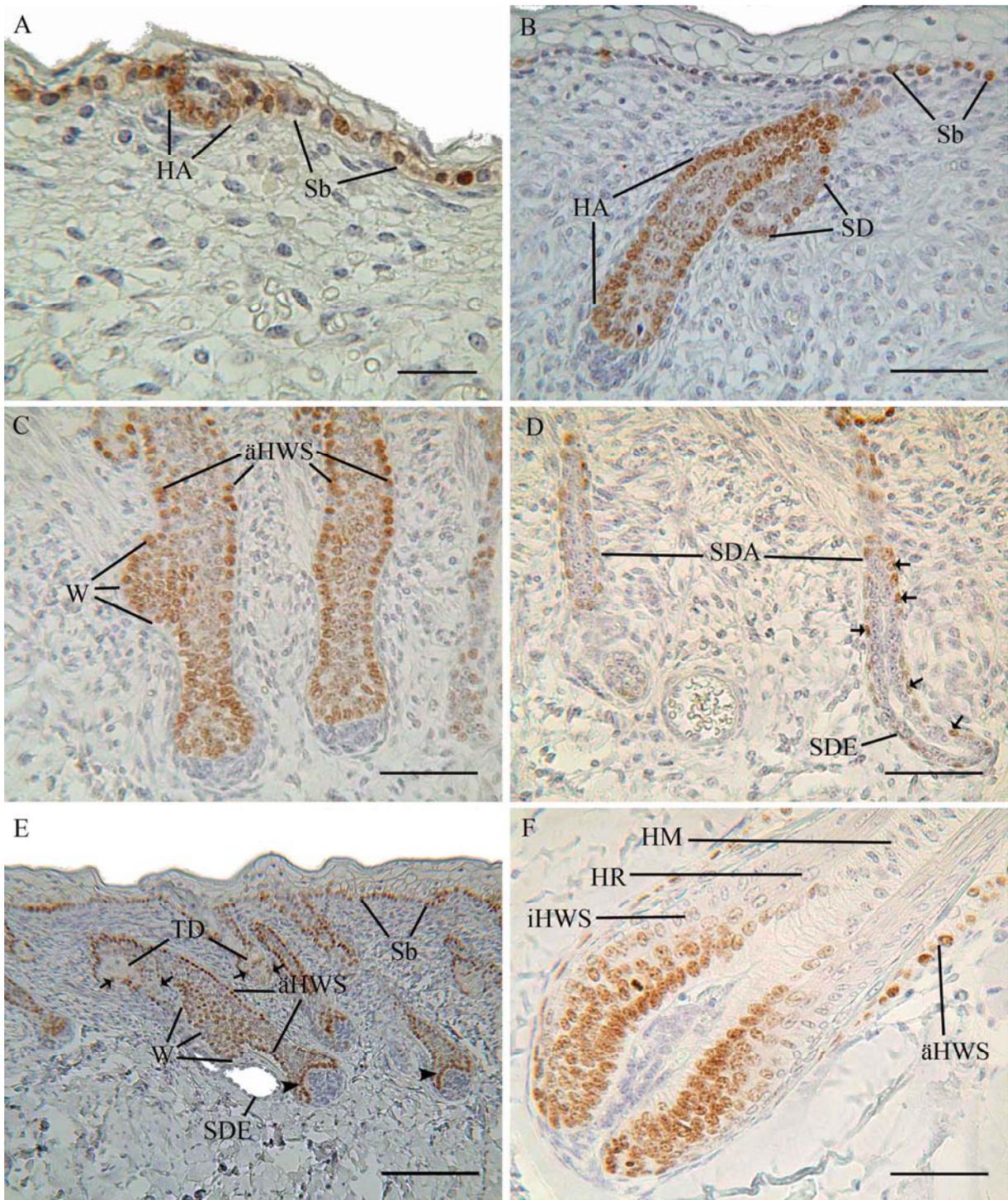
### **2.7.3. Expression von p63 in der Haut von Kälbern**

Das Expressionsmuster von p63 in der Haut von Kälbern zwischen dem zweiten und neunten Lebenstag entspricht weitestgehend dem der größten fetalen Stadien (SSL 94,5 cm und SSL 95,0 cm). Deutlich positive Reaktionen können auch hier im Stratum basale sowie partiell im Stratum spinosum festgestellt werden. Auch die Expression in der äußeren Haarwurzelscheide (Abbildung 39: C) sowie der Haarzwiebeln ist mit der der späten fetalen Stadien vergleichbar. Dies bedeutet eine positive Reaktion in den verschiedenen Differenzierungszonen der Haaranlagenanteile während des Anagens und eine positive Reaktion in Haarzwiebeln ohne erkennbare Differenzierungszonen während des Katagens (Abbildung 39: C). Die Expression in basalen Zellen der Schweißdrüsenanlage ist nur noch sehr schwach ausgeprägt.

### **2.7.4. Expression von p63 in der bovinen Haut adulter Tiere**

Das Expressionsmuster von p63 in der Haut von adulten Rindern ist charakterisiert durch eine positive Reaktion im Bereich des Stratum basale und Stratum spinosum (Abbildung 39: B). Weiterhin finden sich Anfärbungen im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide und der Haarzwiebel. Da sich die Haaranlagen bei den untersuchten adulten Tieren (Alter 20 Monate, 54 Monate, 60 Monate) zumeist im Anagen des Haarzyklus befinden ist eine Unterscheidung der Differenzierungszonen möglich. Wie schon bei dem Fetus der SSL 64,8 cm (Abbildung 38: F) zeigen sich auch hier positive Reaktionen aller Differenzierungszonen, wobei nur die äußere Haarwurzelscheide diese auch über den gesamten Verlauf der Haaranlage beibehält (Abbildung 39: D). Auch die Basalzellen der Talgdrüsen und die basal liegenden Zellen der Schweißdrüsen zeigen weiterhin eine deutlich positive Reaktion (Abbildung 39: D).

**Abbildung 38: Expression von p63 in der Haut von bovinen Fetten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 64,8 cm**



**A: SSL 15,7 cm, Scheitel**, Epithel mit Haaranlage (HA), positive Reaktion in Zellkernen des Stratum basale (Sb) und der HA, SB: 25µm;

**B: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Epithel und Haaranlagen (HA) mit Schweißdrüsen (SD), positive Reaktion im Stratum basale (Sb) des Epithels, der äußeren Zellpopulation der Haaranlage (HA) und der Schweißdrüse (SD), SB: 50µm;

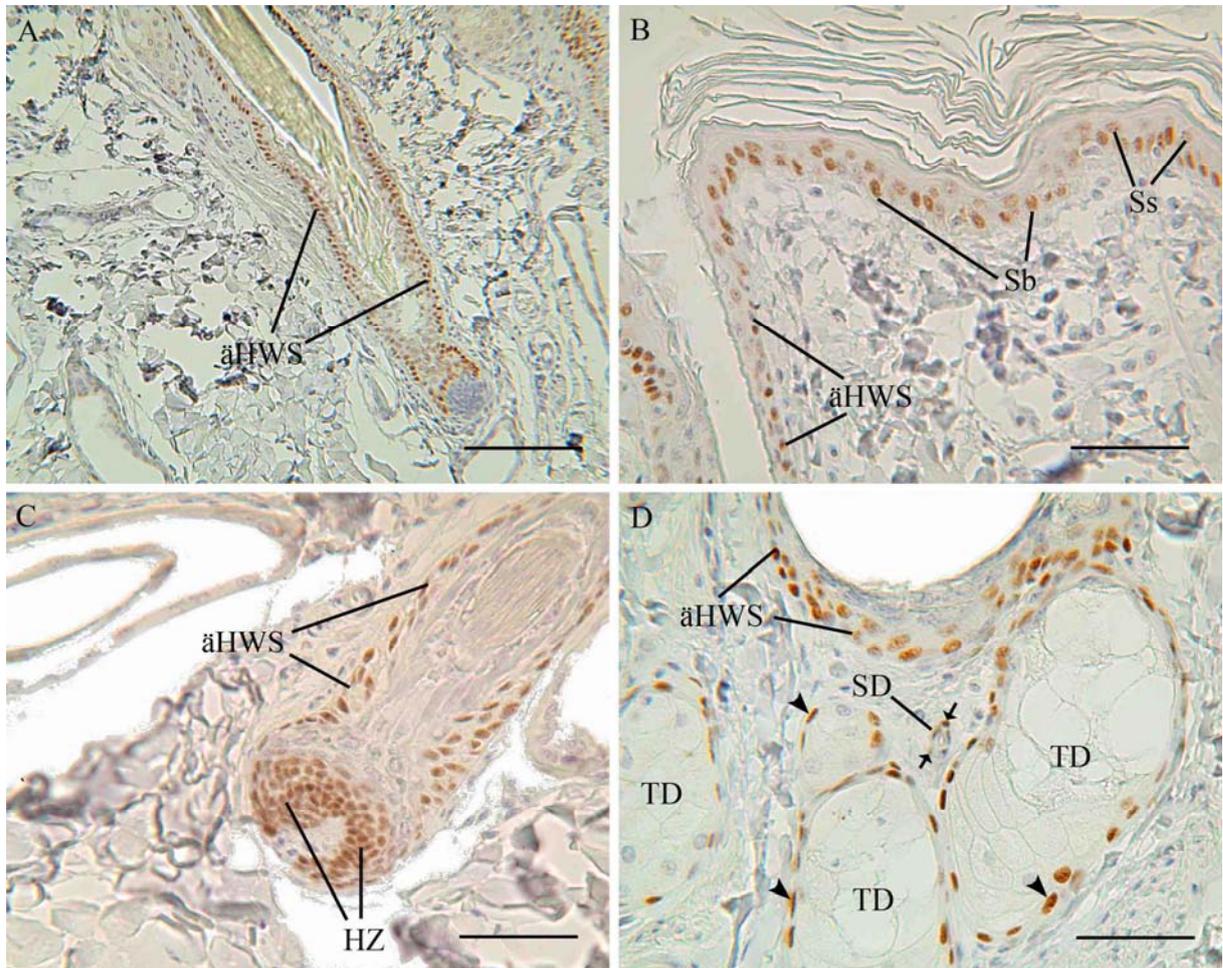
**C: SSL 37,3 cm, Scheitel**, Haaranlage mit einem Anschnitt des Haarwulstes (W), deutlich positive Reaktion in den Zellkernen der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) sowie des Haarwulstes (W), SB: 50µm;

**D: SSL 37,3 cm, Scheitel**, Schweißdrüsen, positive Reaktion in Zellkernen der basal liegenden Zellen der Schweißdrüsenausführungsgänge (SDA) sowie der Endstücke (SDE) (Pfeile), SB: 50µm;

**E: SSL 63,0 cm, Hintergliedmaße**, Übersicht über die Epidermis, Haaranlagen, Talgdrüsen (TD) und Schweißdrüsenendstück (SDE), positive Reaktion im Stratum basale (Sb), der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), dem Haarwulst (W), den Basalzellen der Talgdrüse (TD) (Pfeile), und den Matrixzellen der Haarzwiebel (Pfeilspitzen), SB: 100 µm;

**F: SSL 64,8 cm, Scheitel**, Haarzwiebel, positive Reaktionen in den Differenzierungszonen des Haarmarks (HM), der Haarrinde (HR), der inneren (iHWS) und der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) zeigt auch außerhalb ihrer Differenzierungszone eine positive Reaktion, SB: 50 µm.

**Abbildung 39: Expression von p63 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere (fetal SSL 94,5 cm, Kalb neun Tage alt, adult 60 Monate alt)**



**A: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Haaranlage im Katagen des Haarzyklus, positive Reaktion der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), SB: 50µm;

**B: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Epidermis mit Haartrichter, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), dem Stratum spinosum (Ss) und der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS); SB: 50µm;

**C: Kalb, Alter neun Tage,** Scheitel, Haaranlage im Katagen des Haarzyklus, positive Reaktion in der Haarzwiebel (HZ) und der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), SB: 50 µm;

**D: Adult, Alter 60 Monate,** Vordergliedmaße, Haaranlage im Querschnitt mit Talgdrüsen (TD) und Schweißdrüse (SD), positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), den Basalzellen der Talgdrüsen (TD) (Pfeilspitzen), sowie den basal liegenden Zellen des Schweißdrüsenepithels (Pfeile), SB:50µm.

**Tabelle 13: Expression von p63 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Si/Ss	Sb	W	ähWS	iHWS	TD/BZ	SD/BZ	HZ
8,5 cm	-	++						
11,0 cm	+	++		++	++			
15,7 cm	+	++		++	++			
23,8 cm	-	++		++	+		+	
29,0 cm	-	++		++	+		+	
34,0 cm	-	++	++	++	+	+	++	
37,3 cm	-	++	++	++	+	++	++	
41,4 cm	-	++	++	++	+	++	++	
49,0 cm	-	++	++	++	+	++	++	
58,0 cm	-	++	++	++	-	++	++	++
63,0 cm	-	++	++	++	-	++	++	++
64,8 cm	-	++	++	++	-	++	++	++
67,8 cm	+	++	++	++	-	++	++	++
80,5 cm	+	++	++	++	-	+	++	++
94,5 cm	+	++	++	++	-	+	++	++
95,0 cm	++	++	++	++	-	++	++	++
2 T	+	++	++	++	-	+	+	++
7 T	+	++	++	++	-	+	+	++
9 T	+	++	++	++	-	++	++	++
20 Mo	++	++	+++	+++	-	+	++	++
54 Mo	++	++	+++	+++	-	+	++	++
60 Mo	++	++	+++	+++	-	++	++	++

ähWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, HZ: Haarzwiebel, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter in Monaten Sb: Stratum basale, SD/BZ: basal liegende Zellen der Schweißdrüsenanlage, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, TD/BZ: Basalzellen der Talgdrüsen, W: Wulstregion, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.8. Expression von Keratin 5 in der bovinen Haut**

### **2.8.1. Übersicht**

Wesentliche Zellpopulationen, welche während der fetalen Entwicklung der bovinen Haut eine Expression von Keratin 5 (K5) aufweisen, sind das Stratum basale und das Stratum spinosum. Weiterhin zeigen Anteile der Haarwurzelscheide im inneren wie auch äußeren Bereich, abhängig von der Entfernung zur Hautoberfläche, ein deutlich unterschiedliches Expressionsmuster. Dies betrifft auch den Haarwulst. Schließlich zeigen auch die Schweißdrüsenanlagen und die Basalzellen der Talgdrüsenanlage eine positive Reaktion.

### **2.8.2. Expression von Keratin 5 in der Haut boviner Feten**

K5 wird in der Haut boviner Feten bereits bei der kleinsten untersuchten Größe von 8,5 cm nachgewiesen. In diesem Entwicklungsstadium zeigt sich eine Expression mittlerer Stärke im Stratum basale der Epidermis (Abbildung 40: A1). Mit der Entstehung der ersten Haaranlagen in Form epithelialer Knospen (SSL 15,7 cm) ist auch hier eine deutliche Reaktion zu verzeichnen (Abbildung 40: B1). Im Stadium des Haarzapfens bei einer SSL von 23,8 cm beschränkt sich die Expression jedoch auf die oberen zwei Drittel der inneren Zellpopulation des Haarzapfens und das epithelnahe Drittel der äußeren Zellpopulation (Abbildung 40: C1). Auch die Drüsenanlage färbt sich bei dieser fetalen Entwicklungsstufe in all ihren Bereichen schwach an. Ab der SSL von 34,0 cm erscheint die Expression in der inneren Haarwurzelscheide im oberen Drittel in mittlerer Stärke, die unteren zwei Drittel dieser Zellpopulation färben sich dagegen nur schwach an. Die äußere Haarwurzelscheide zeigt in diesem Entwicklungsstadium im oberen Drittel eine schwache Immunfärbung und in den unteren zwei Dritteln eine Expression mit einer Anfärbung mittlerer Stärke, also in umgekehrter Ausprägung wie in der inneren Haarwurzelscheide. Der Fetus der SSL 37,3 cm lässt eine abgeschwächte Expression im Stratum basale der Epidermis im Vergleich zu den früheren Entwicklungsstadien erkennen und die Schweißdrüsenanlage zeigt eine positive Reaktion auf K5 von mittlerer Stärke im Ausführungsgang, während die Endstücke nur eine sehr schwache Expression von K5 aufweisen. Die Anfärbung in der inneren Haarwurzelscheide umfasst die gesamte Zellpopulation mit leichter Intensität. Die äußere Haarwurzelscheide zeigt dagegen durchgehend eine Reaktion in mittlerer Intensität. Ab der SSL 41,4 cm ist keine Expression von K5 in der inneren Haarwurzelscheide mehr nachweisbar (Abbildung 41: A1). Die nächste Änderung des Expressionsmusters tritt bei der SSL 58,0 cm auf. Hier wird deutlich, dass auch die Differenzierungszone der äußeren Haarwurzelscheide eine Reaktion mittlerer Intensität zeigt (Abbildung 41: B1). Der Fetus der SSL 67,8 cm lässt eine Immunfärbung auf K5 mittlerer Stärke im Stratum basale erkennen. Weiterhin zeigt sich eine Expression mittlerer Stärke in der äußeren Haarwurzelscheide (Abbildung 41: C1) und die Schweißdrüsen weisen eine schwach positive Reaktion in ihren myoepithelialen Zellen auf. Im weiteren Entwicklungsverlauf ist bei einer SSL von 94,5 zusätzlich eine schwache Reaktion in den Basalzellen der Talgdrüsen zu beobachten. Während die sich im Katagen befindlichen Haarzwiebeln eine gleichmäßige Reaktion mittlerer Intensität aufweisen, beschränkt sich die Expression in den

Haarzwiebeln im Anagen auf die Differenzierungszone der äußeren Haarwurzelscheide. Dieses Expressionmuster wird auch bei dem größten untersuchten Fetus der SSL 95,0 cm beibehalten.

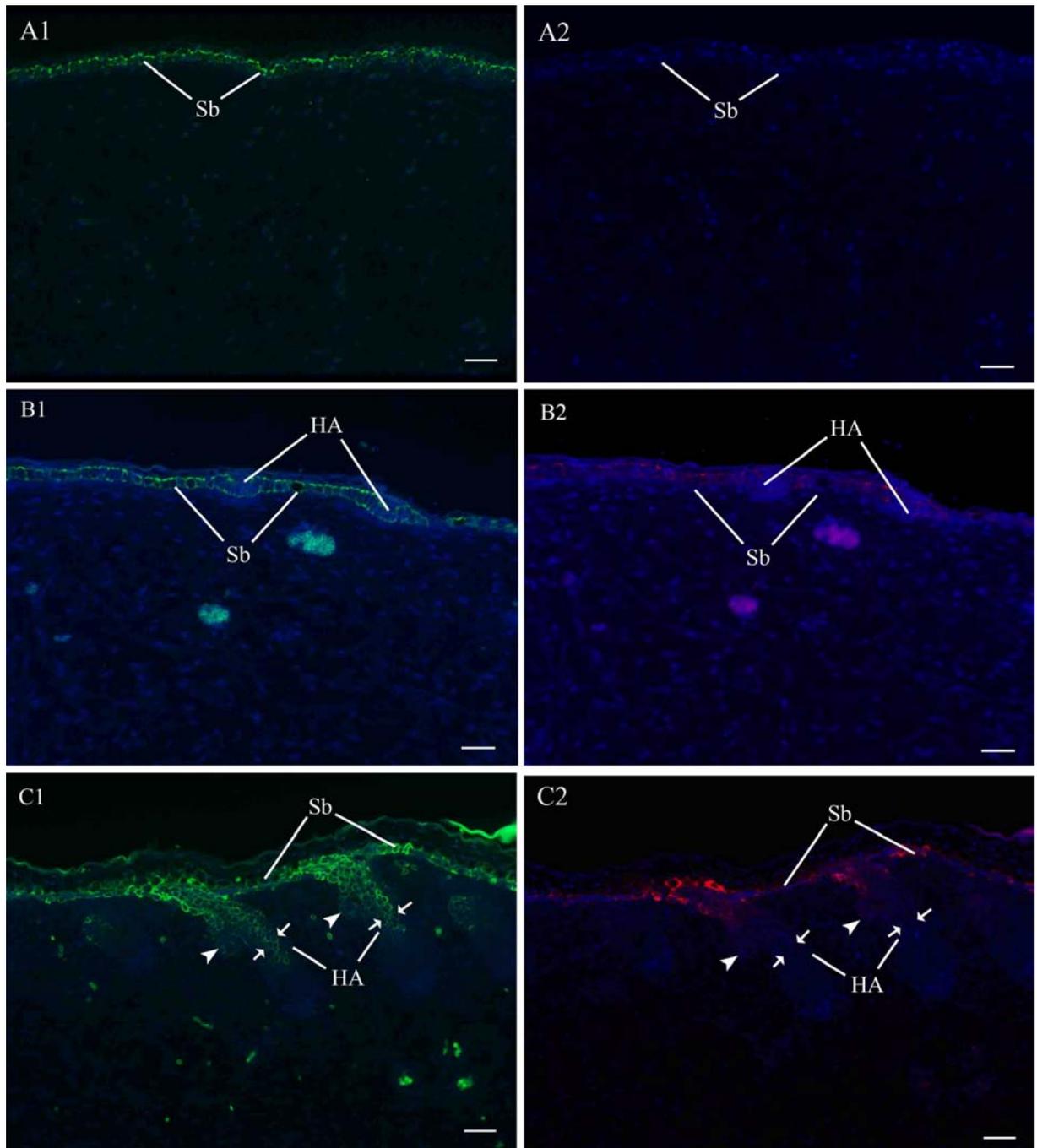
### **2.8.3. Expression von Keratin 5 in der Haut von Kälbern**

Die Expression von K5 in der Haut der untersuchten Kälber gleicht weitestgehend dem der größten Fetalstadien (SSL 94,5 cm und SSL 95,0 cm). Dies bedeutet eine positive Reaktion mittlerer Intensität im Stratum basale und eine sehr schwache Anfärbung im Stratum spinosum, ebenso wie eine Reaktion mittlerer Intensität in der äußeren Haarwurzelscheide, mit eingeschlossen die Differenzierungszone in der Haarzwiebel anagener und die gesamte Haarzwiebel katagener Haaranlagen. Hinzu kommen eine schwache Expression im Bereich der myoepithelialen Zellen der Schweißdrüse und eine partiell leicht positive Reaktion in den Basalzellen der Talgdrüsen.

### **2.8.4. Expression von Keratin 5 in der bovinen Haut adulter Rinder**

Auch die adulte Haut zeigt ein Expressionsmuster von K5, welches dem der größten Fetalstadien stark ähnelt (SSL 94,5 cm und SSL 95,0 cm). Das Stratum basale weist eine schwache Expression auf und teilweise ist dies auch im Stratum spinosum zu beobachten. Die äußere Haarwurzelscheide zeigt weiterhin eine deutlich positive Immunfärbung. Auch hier zeigen sich Unterschiede zwischen der Expression in katagenen und anagenen Haaranlagen. Die Haarzwiebeln der katagenen Haaranlagen weisen bei allen Zellen eine Reaktion mittlerer Intensität auf, wohingegen die der anagenen Haaranlagen lediglich eine Anfärbung der Differenzierungszone der äußeren Haarwurzelscheide aufweisen. Außerdem ist in den Basalzellen der Talgdrüsen ebenso wie in den myoepithelialen Zellen der Schweißdrüsen eine Anfärbung mittleren Ausmaßes zu beobachten.

**Abbildung 40: Expression von Keratin 5 und 14 in der Haut boviner Feten mit einer SSL von 8,5 cm und bis 23,8 cm**



**A1: SSL 8,5 cm, Scheitel**, Expression von K5, Übersicht Epidermis, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), SB: 30µm;

**A2: SSL 8,5 cm, Scheitel**, Expression von K14, Übersicht Epidermis, keine Expression erkennbar, Sb: Stratum basale, SB: 30 µm;

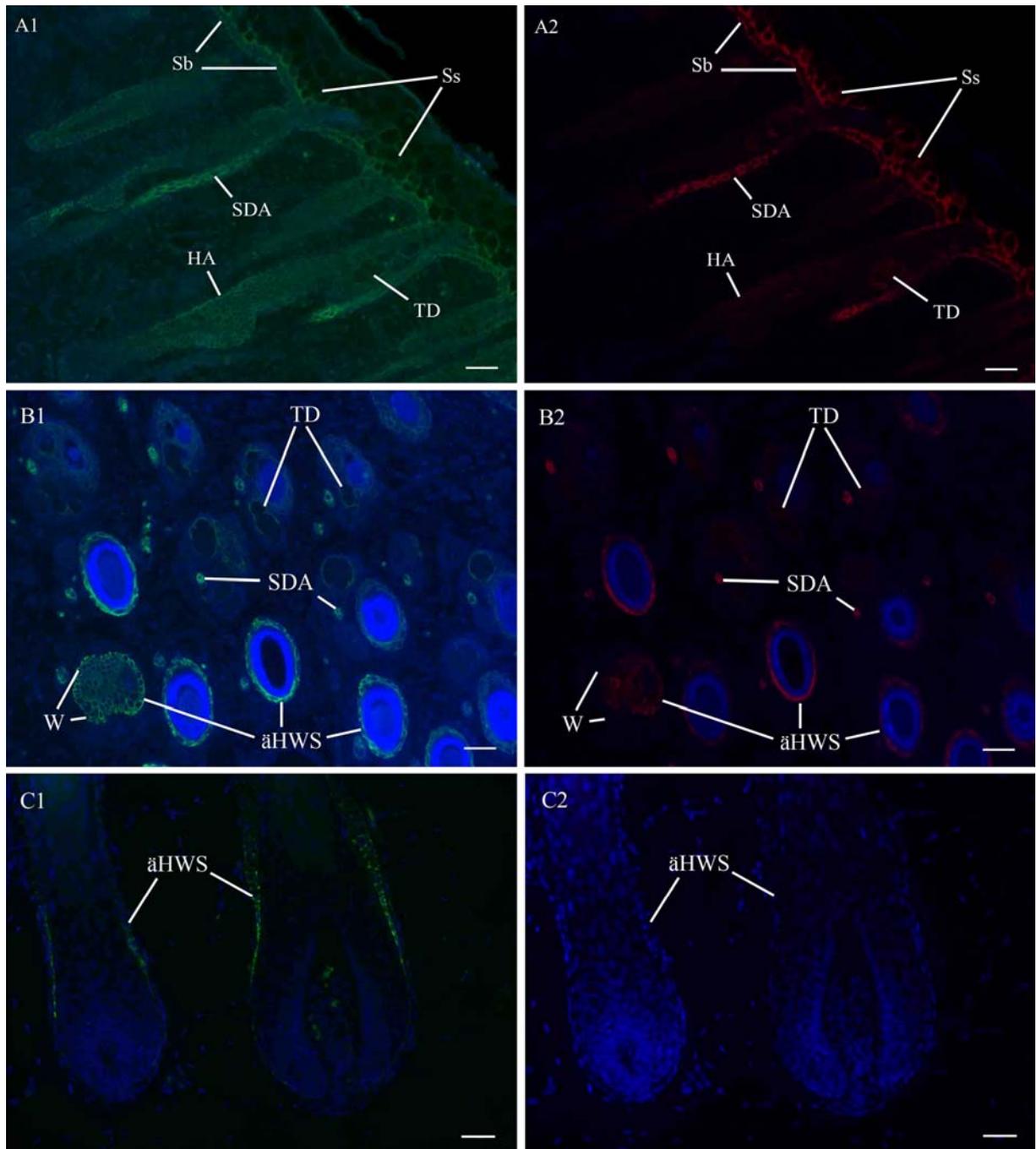
**B1: SSL 15,7 cm, Scheitel**, Expression von K5, Epidermis mit Haaranlagen, positive Reaktion in den Haaranlagen (HA) und im Stratum basale (Sb), SB: 30 µm;

**B2: SSL 15,7 cm, Scheitel**, Expression von K14, Epidermis mit Haaranlagen, schwach positive Reaktion im Bereich des Stratum basale (Sb) und der Haaranlagen (HA), SB: 30 µm;

**C1: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Expression von K5, Epidermis, Haaranlagen (HA) und Drüsenanlage, positiver Reaktion im Stratum basale (Sb), und den Haaranlagen, positive Reaktion im oberen Bereich der Haaranlagen, Pfeile: im mittleren Drittel der Haaranlage positive Reaktion in der inneren Zellpopulation, Pfeilspitzen: positive Reaktion in der Drüsenanlage, SB: 30 µm;

**C2: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Expression von K14, Epidermis, Haaranlage (HA) und Drüsenanlage, positive Reaktion im Stratum basale, starke Reaktion im Bereich des Haarkanals bzw. des Haartrichters, Pfeile: im mittleren Drittel der Haaranlage keine Reaktion in der inneren Zellpopulation der Haaranlage, Pfeilspitzen: keine Reaktion in der Drüsenanlage, Sb: Stratum basale, SB: 30 µm.

**Abbildung 41: Expression von Keratin 5 und 14 in der Haut boviner Feten mit einer SSL von 41,4 cm und bis 64,8 cm**



**A1: SSL 41,4 cm, Scheitel**, Expression von K5, Epithel mit Haar- und Drüsenanlagen, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), Stratum spinosum (Ss) (schwach), dem Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), Talgdrüse (TD) und der äußeren Haarwurzelscheide der Haaranlage (HA), SB: 30 µm;

**A2: SSL 41,4 cm, Scheitel**, Expression von K14, Epithel mit Haar- und Drüsenanlagen, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), Stratum spinosum (Ss), dem Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), keine Expression in der Talgdrüse (TD) und der äußeren Haarwurzelscheide der Haaranlage (HA), SB: 30 µm;

**B1: SSL 58,0 cm, Scheitel**, Expression von K5, Haaranlage (HA) und Schweißdrüsenanlagen im Querschnitt, positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), dem Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), den Talgdrüsen (TD) und dem Haarwulst (W) der Haaranlage, SB: 30 µm;

**B2: SSL 58,0 cm, Scheitel**, Expression von K14, Haaranlage (HA) und Schweißdrüsenanlagen im Querschnitt, positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), dem Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), nur schwach im Haarwulst (W), sehr schwache Reaktion in den Talgdrüsen (TD), SB: 30 µm;

**C1: SSL 64,8 cm, Scheitel**, Expression von K5, Haarzwiebeln, positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), SB: 30 µm;

**C2: SSL 64,8 cm, Scheitel**, Expression von K14, Haarzwiebeln, keine Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), SB: 30 µm.

**Tabelle 14: Expression des Keratins 5 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Si/Ss	Sb	W	iHWS	äHWS	SD	TD/BZ
8,5 cm	-	++					
11,0 cm	-	++					
15,7 cm	-	++		++	++		
23,8 cm	-	++		++	++	+	
29,0 cm	-	++		-	+	+	
34,0 cm	-	++		++	++	+	
37,3 cm	+	++	++	+	++	++	-
41,4 cm	-	++	++	-	++	++	-
49,0 cm	-	++	++	-	++	++	-
58,0 cm	-	+	+	-	+	++	-
63,0 cm	-	+	+	-	+	+	-
64,8 cm	-	++	+	-	+	-	-
67,8 cm	-	++	++	-	++	+	-
80,5 cm	-	+	++	-	++	+	-
94,5 cm	+	++	++	+	++	+	+
95,0 cm	-	+	++	-	++	-	+
2 T	+	+	++	-	++	++	+
7 T	+	+	++	-	++	-	+
9 T	+	++	++	+	++	++	++
20 Mo	-	+	++	-	++	-	-
54 Mo	-	+	+	-	+	-	++
60 Mo	+	+	++	-	++	++	++

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter in Monaten Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüse, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, TD/BZ: Basalzellen der Talgdrüsen, W: Wulstregion, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.9. Expression von Keratin 14 in der bovinen Haut**

### **2.9.1. Übersicht**

Zu den Zellpopulationen mit deutlicher Expression von K14 gehören Anteile der Epidermis, nämlich das Stratum basale, Stratum intermedium bzw. spinosum und auch das Stratum granulosum. Die Haaranlagen zeigen ebenfalls eine positive Reaktion in verschiedenen Bereichen. Hier sind die äußere und innerer Haarwurzelscheide sowie das Haarmark zu nennen. Die Expression in diesen Bereichen der Haaranlage spiegelt sich teilweise auch in einer positiven Reaktion in den entsprechenden Differenzierungszonen der Haarzwiebel wieder. Auch die Drüsenanlagen weisen während der bovinen Hautentwicklung eine Expression von K14 auf.

### **2.9.2. Expression von Keratin 14 in der Haut boviner Feten**

K14 wird in der fetalen Haut ab einer SSL von 15,7 cm im Stratum basale in geringem Umfang exprimiert. Gleichzeitig ist in diesem fetalen Stadium auch eine Expression in den Haaranlagen zu beobachten (Abbildung 40: B2). Die Intensität der Anfärbung steigt im Stratum basale bei einer SSL von 23,8 cm leicht an und auch im Haarkanal bzw. Haartrichter zeigt sich eine verstärkte Expression von K14 (Abbildung 40: C2). Die Proben der SSL 29,0 cm weisen eine starke Expression im Stratum basale und eine Expression mittlerer Intensität im Stratum spinosum auf. Ab diesem Entwicklungsstadium ist lediglich in den oberen zwei Dritteln der Haaranlage eine leicht positive Reaktion sichtbar. Im Bereich der Schweißdrüsenanlage ist eine leichte Reaktion in der äußeren Zellschicht zu beobachten. Der Fetus mit einer SSL von 34,0 cm ist durch eine Expression in der Haaranlage gekennzeichnet, die lediglich die Haarzwiebel ausspart. Ab der SSL 37,3 cm zeigt sich die Schweißdrüsenanlage in ihrer Expression differenziert zwischen dem Ausführungsgang mit einer mittleren bis starken Reaktion und dem Endstück mit einer nur schwachen Reaktion. Die nächste Änderung im Expressionsmuster ist bei der SSL 49,0 cm zu beobachten und beinhaltet eine sehr schwache Expression in den Talgdrüsen (Abbildung 41: A2). Bei der SSL 58,0 cm ist K14 im Stratum basale sowie in den basalen Zellschichten des Stratum spinosum nachweisbar. Ebenso findet sich eine Immunfärbung auf K14 in der äußeren Haarwurzelscheide, wobei der Haarwulst bei diesem fetalen Entwicklungsstadium in seinen äußeren Zellschichten keine positive Reaktion aufweist. Auch die Ausführungsgänge der Schweißdrüsen bleiben weiterhin Regionen mit K14-Expression. Das Haarmark zeigt hier ebenfalls erstmals eine schwache positive Reaktion. Die Talgdrüsenanlage ist nun K14-negativ (Abbildung 41: B2). Bei den folgenden Entwicklungsstadien weist auch die äußere Zellreihe des Haarwulstes ebenso wie die übrige äußere Haarwurzelscheide eine Expression auf. Der Fetus der SSL 64,8 cm zeigt in der äußeren Haarwurzelscheide nur im Bereich zwischen Haarwulst und Epidermis eine positive Reaktion, nicht aber in tieferen Bereichen (Abbildung 41: C2). Ab der SSL 80,5 cm weist wiederum die gesamte äußere Haarwurzelscheide eine positive Reaktion auf. Abgesehen von dieser Schwankung im Expressionsmuster bleibt die Expression in den übrigen Zellpopulationen wie bei der SSL 58,0 cm beschrieben bis zum größten untersuchten Fetus (SSL 95,0 cm), mit der Ausnahme einer nun leichten positiven Reaktion im Stratum granulosum der Epidermis,

erhalten.

### **2.9.3. Expression von Keratin 14 in der Haut von Kälbern**

Die Expression von K14 in der postnatalen Haut ist besonders in den Schweißdrüsenausführungsgängen und dem Stratum basale der Epidermis ausgeprägt. Zellpopulationen mit weniger starken Reaktionen sind das Stratum spinosum der Epidermis und die äußere Haarwurzelscheide. Sehr schwach ist sie in den sekretorischen Zellen der Talgdrüsen und im Stratum granulosum ausgeprägt. Das neun Tage alte Kalb weist als einziges eine deutliche Reaktion in den Basalzellen der Talgdrüsen auf.

### **2.9.4. Expression von Keratin 14 in der Haut adulter Rinder**

Die Haut der adulten Tiere zeigt eine deutlich positive Reaktion im Stratum basale und spinosum. Die innere Haarwurzelscheide lässt eine schwache, die äußere eine starke Expression von K14 erkennen. Schweißdrüsenausführungsgänge reagieren ebenfalls deutlich positiv und die sekretorischen Zellen der Talgdrüse zeigen eine schwache Expression.

**Tabelle 15: Übersicht Expression des Keratins 14 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Sg	Si/Ss	Sb	iHWS	äHWS/W	HM	SD	TD
8,5 cm		-	-					
11,0 cm		-	-					
15,7 cm		-	+	+	+			
23,8 cm		-	++	++	++		+	
29,0 cm		++	+++	+	+		+	
34,0 cm		+++	+++		++		+	
37,3 cm		+++	+	+	++		++	+
41,4 cm		+++	+	-	++		++	+
49,0 cm		+++	+	-	++		++	++
58,0 cm		+	++	-	++	+	++	++
63,0 cm		+	++	-	++	-	++	++
64,8 cm		+	++	++	++	+	++	++
67,8 cm		+	++	-	++	+	+++	+
80,5 cm		+	++	-	++	+	+++	+
94,5 cm	+	++	++	-	++	+	+++	++
95,0 cm	+	++	+	-	++	+	++	+
2 T	+	++	++	-	++	+	++	+
7 T	+	++	++	-	++	-	++	+
9 T	++	++	++	+	+++	-	+++	++
20 Mo	-	++	++	+	+++	-	+++	+
54 Mo	-	++	+++	+	+++	-	+++	+
60 Mo	-	++	+++	+	+++	+	+++	+

äHWS: äußere Haarwurzelscheide/äußere Zellpopulation der Haaranlage, EN: Endo-, Peri-, Epineurium, Endo: Endothel, HM: Haarmark, iHWS: innere Haarwurzelscheide/innere Zellpopulation der Haaranlage, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenanlage, Si/Ss: Stratum intermedium/ Stratum spinosum, TD: Talgdrüsenanlage, W: Haarwulst

## **2.10. Expression von Keratin 8 in der bovinen Haut**

### **2.10.1. Übersicht**

Während der bovinen Hautentwicklung wird Keratin 8 (K8) in der Epidermis, dem Haarwulst, der äußeren und inneren Haarwurzelscheide und in den Schweißdrüsen exprimiert.

### **2.10.2. Expression von Keratin 8 in der Haut boviner Feten**

Bei dem kleinsten untersuchten Fetus mit der SSL 8,5 cm wird K8 im Periderm stark, im Stratum intermedium und Stratum basale schwach exprimiert. Die Expression im Periderm kann ab der SSL 11,0 cm nicht mehr nachgewiesen werden, wobei gleichzeitig eine stärkere Anfärbung im Stratum intermedium und Stratum basale zu beobachten ist (Abbildung 42: A). Ab einer SSL von 23,8 cm beschränkt sich die Expression in der Epidermis weitgehend auf das Stratum basale. Der Haarzapfen exprimiert ebenfalls K8 vor allem in der äußeren Zellpopulation. Dies wird ab der SSL von 23,8 cm sichtbar und dieses Expressionsmuster bleibt auch bei den folgenden Entwicklungsstadien erhalten (Abbildung 42: B). Auch die Schweißdrüsenanlage zeigt ab einer SSL von 23,8 cm eine deutliche positive Reaktion. Der Haarwulst ist während der weiteren Entwicklung der Ort im Haarfollikel mit der stärksten Reaktion (Abbildung 42: B, C, D, E). Besonders die basal lokalisierten Zellen färben sich stark an (Abbildung 42: D). Mit beginnender Haarbildung (ab dem Fetus mit der SSL 63,0 cm) verschiebt sich die Expression in Richtung der äußeren Haarwurzelscheide (Abbildung 42: F). Die positive Reaktion im Stratum basale schwächt sich ab der SSL 80,5 cm ab. Es exprimieren nun nur noch einzelne Zellen K8. Als Ort gleichbleibend starker Expression ist die Schweißdrüse zu nennen. Bei den größten untersuchten Feten (SSL 94,5 cm und 95,0 cm) zeigt sich zusätzlich eine starke Expression im Perineurium dermalen Nervenfasern (Abbildung 43: B) und in nun auftretenden katagenen Haarfollikeln im Bereich der Haarzwiebel und der äußeren Haarwurzelscheide (Abbildung 43: A)

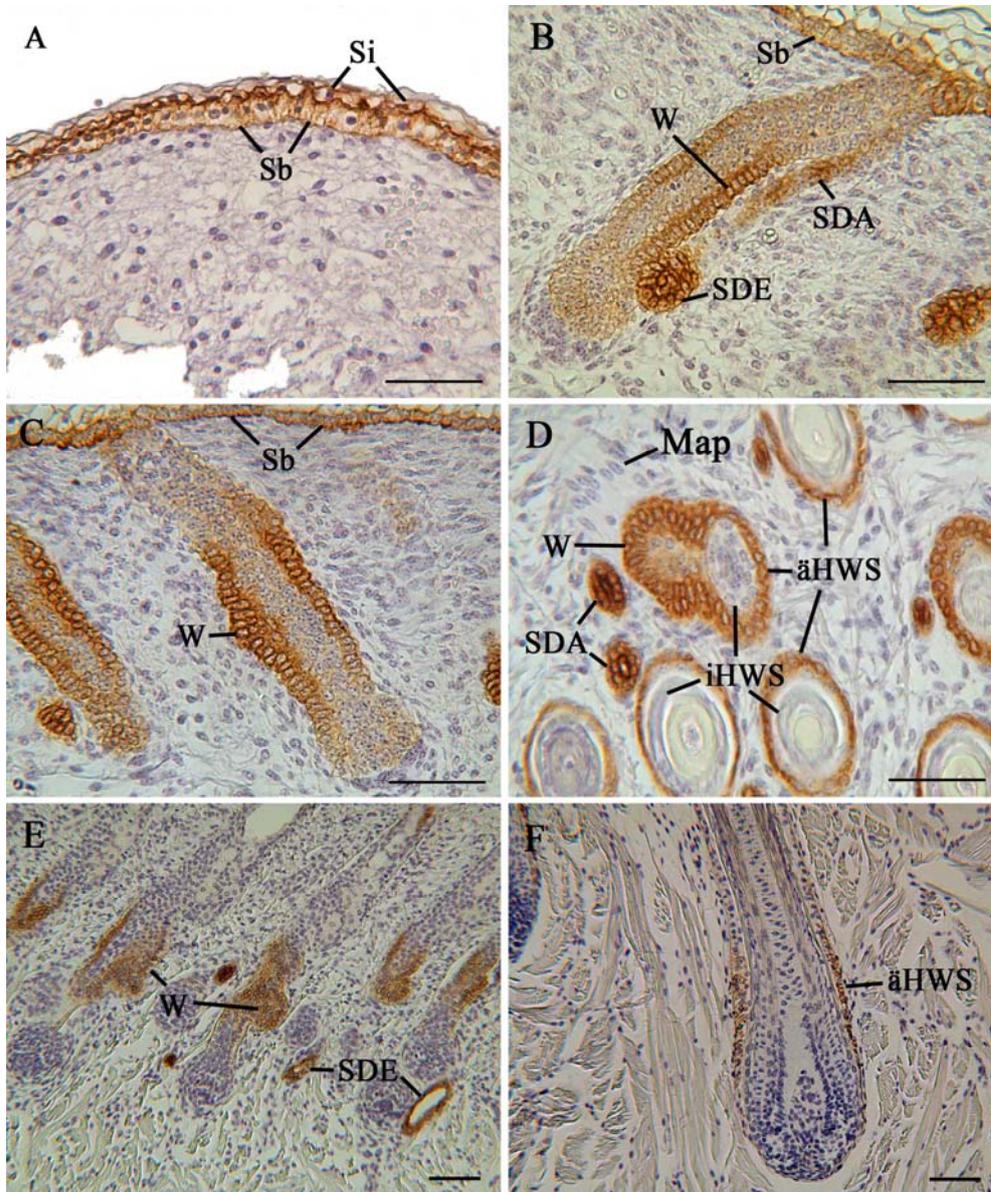
### **2.10.3. Expression von Keratin 8 in der Haut von Kälbern**

In der Haut der Kälber wird K8 im Stratum basale, dem Perineurium, dem suprabulbären Bereich der äußeren Haarwurzelscheide sowie der Schweißdrüse nachgewiesen.

### **2.10.4. Expression von Keratin 8 in der Haut adulter Rinder**

Die Haut der adulten Rinder zeigt lediglich im suprabulbären Bereich der äußeren Haarwurzelscheide, partiell im Bereich des Isthmus, sowie im Perineurium und den Schweißdrüsen eine deutliche Reaktion auf die Untersuchung von K8.

**Abbildung 42: Expression des Keratins 8 in der Haut boviner Feten von einer SSL 11,0 cm bis 64,8 cm**



**A: SSL 11,0 cm, Scheitel**, starke Expression von Keratin 8 im Stratum basale (Sb) und Stratum intermedium (Si) der Epidermis, SB: 50 µm;

**B: SSL 29,0 cm, Scheitel**, Expression von Keratin 8 im Stratum basale (Sb), der äußeren Zellpopulation des Haarzapfens, insbesondere im Bereich des frühen Haarwulstes (W), Expression im Schweißdrüsenendstück (SDE) und im Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), SB: 50 µm;

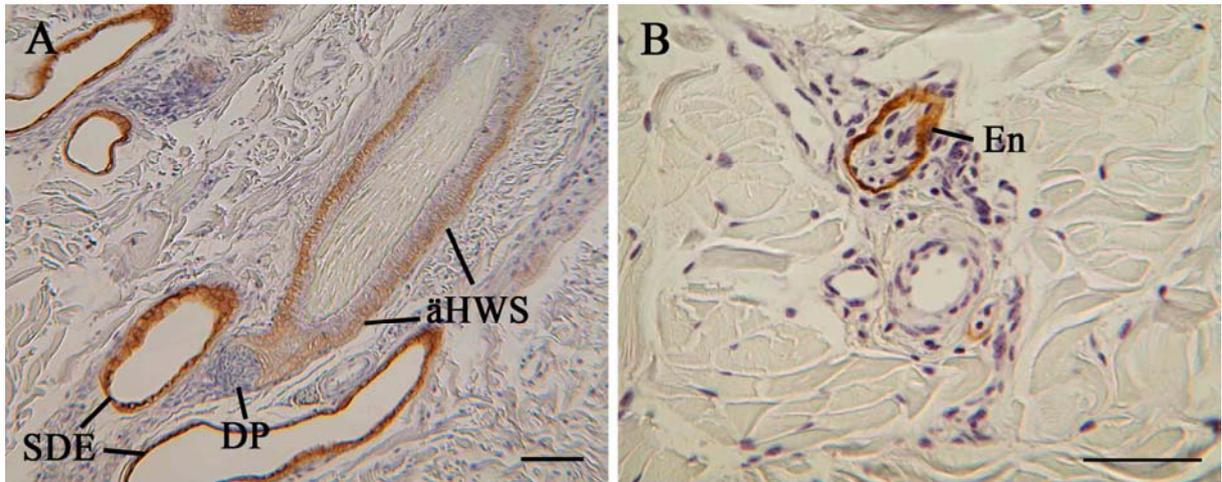
**C: SSL 29,0 cm, Scheitel**, Expression mittlerer Stärke im Stratum basale (Sb) und starke Expression im Haarwulst (W), SB: 50 µm

**D: SSL 58,0 cm, Scheitel**, Haaranlagen und Schweißdrüsen im Querschnitt, starke Expression von Keratin 8 im Haarwulst (W), der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) und den Schweißdrüsenausführungsgängen (SDA), iHWS: innere Haarwurzelscheide, Map: Musculus arrector pili, SB: 50 µm;

**E: SSL 63,0 cm, Scheitel**, starke Expression im Haarwulst (W) und den Schweißdrüsenendstücken (SDE), SB: 50 µm;

**F: SSL 64,8 cm, Scheitel**, Expression von Keratin 8 in der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), SB: 50 µm.

**Abbildung 43: Expression des Keratins 8 in der Haut boviner Feten von einer SSL 94,5 cm bis 95,0 cm**



**A: SSL 94,5 cm, Scheitel,** Expression von Keratin 8 in der äußeren Haarwurzelscheide eines katagenen Haarfollikels (äHWS) und in den Schweißdrüsenendstücken (SDE), DP: Dermale Papille, Sb: 50 µm;

**B: SSL 95,0 cm, Scheitel,** positive Reaktion im Epineurium (En) eines dermalen Nerven, SB: 50 µm.

## **2.11. Expression von Keratin 15 in der bovinen Haut**

### **2.11.1. Übersicht**

Als eine wesentliche Zellpopulation mit positiver Keratin 15 (K15)-Expression ist das Stratum basale anzusprechen (Abbildung 44: A, B, C, E, F). Auch die äußere und innere Haarwurzelscheide zeigen während ihrer verschiedenen Entwicklungsstadien eine regional unterschiedlich starke Expression (Abbildung 44: B, C, D, F). Im besonderen Maße ist hierbei die Wulstregion der äußeren Haarwurzelscheide zu beachten, die sich durch eine besonders starke Reaktion gegenüber den übrigen Anteilen der Haarwurzelscheide abgrenzen lässt (Abbildung 44: C, D, F). Auch die Schweißdrüsen weisen eine deutliche Expression des Keratins auf. Zunächst ist im gesamten Schweißdrüsenepithel eine positive Reaktion zu beobachten (Abbildung 44: C). Im Verlauf der embryonalen Entwicklung ist das Epithel der Drüsenendstücke jedoch von dieser ausgespart (Abbildung 44: F).

### **2.11.2. Expression von Keratin 15 in der Haut boviner Feten**

Der Fetus der SSL 8,5 cm zeigt im Stratum basale eine deutliche Expression von K15. Mit dem Beginn der Haarfollikelentwicklung (SSL 11,0 cm, Scheitel) reagieren die Zellen des Haarzapfens positiv (Abbildung 44: A), das Stratum basale weist partiell positive Reaktionen auf und auch das Stratum intermedium der Epidermis reagiert schwach positiv. Ab einer SSL von 15,7 cm ist in den äußeren Zellen der dermalen Präpapille eine schwache Expression zu beobachten (Abbildung 44: A). Der Fetus der SSL 23,8 cm lässt zusätzlich zu dem bisher beschriebenen Expressionsmuster eine leichte positive Immunfärbung auf K15 in der Schweißdrüsenanlage erkennen. Die positive Reaktion der Zellen der Haaranlage ist ab der SSL 34,0 cm auf die oberen Anteile der Haaranlage bis auf die Höhe der Wulstregion begrenzt. Eine weitere Änderung im Expressionsmuster ist im Bereich der dermalen Präpapille zu beobachten. Hier ist die Immunfärbung nicht mehr nur auf den peripheren Anteil dieser Zellpopulation beschränkt, sondern ist in deren gesamten Bereich zu finden, wobei jedoch die Intensität der Reaktion zwischen den einzelnen Zellen stark differiert. Ein Unterschied zwischen den inneren und äußeren Bereichen der Haaranlage ist erst ab einer SSL von 41,4 cm erkennbar. Hier zeigt die innere Zellpopulation nur in einzelnen Zellen eine schwache Reaktion des Zytoplasmas, während die äußeren Zellschichten ein von der Lokalisation an der Haaranlage abhängiges Muster aufweisen. So ist das obere Drittel der Haaranlage nur als leicht positiv anzusprechen, während ab Höhe des Haarwulstes eine starke Expression des Keratins beobachtet werden kann, wobei die Zellen des eigentlichen Haarwulstes eine sehr starke Anfärbung mit markierten Antikörper zeigen und sich dadurch von den übrigen Anteilen des äußeren Zellpopulation der Haaranlage deutlich abgrenzen (Abbildung 44: C, D). Das untere Drittel der Haaranlage schließlich lässt keine deutliche Markierung erkennen. Dieses Expressionsmuster wird bis zu einer SSL von 63,0 cm beibehalten. Auch das Stratum basale und die basalen Zellreihe des Stratum spinosum zeigen weiterhin eine positive Reaktion. Deutliche Änderungen des immunhistochemischen Musters von K15 sind in der Schweißdrüsenanlage zu finden, die nicht mehr, wie bisher, in allen Zellen eine deutliche Reaktion aufweist, sondern nun nur noch in den Epithelzellen der

Ausführungsgänge eine Expression erkennen lässt (Abbildung 44: F). Die Präpapille ist ab diesem Fetalstadium als negativ einzustufen. Ab der SSL 64,8 cm lässt die nun deutlich ausgebildete innere Haarwurzelscheide eine positive Reaktion ihrer Differenzierungszone in der Haarzwiebel sowie ihrer differenzierten und keratinisierten Zone erkennen. Dies betrifft die Zellkerne und das Zytoplasma dieser Zellpopulation. Die äußere Haarwurzelscheide behält zwar weitestgehend die Region der positiven Reaktion im mittleren Drittel der Haaranlage bei, doch ist keine deutliche Differenzierung zwischen der Stärke der Reaktion im Haarwulst und der übrigen äußeren Haarwurzelscheide mehr erkennbar (Abbildung 44: F). Die Haarrinde mit ihrer Differenzierungszone zeigt eine leicht positive Reaktion des Zytoplasmas ab einer SSL von 64,8 cm. Die positive Reaktion im Stratum basale und Stratum spinosum verschwindet ab der SSL 94,5 cm. Ab dieser SSL weist das Haarmark eine leichte Expression von K15 auf. Während aller Entwicklungsstufen ist eine deutliche Anfärbung von Erythrozyten zu beobachten.

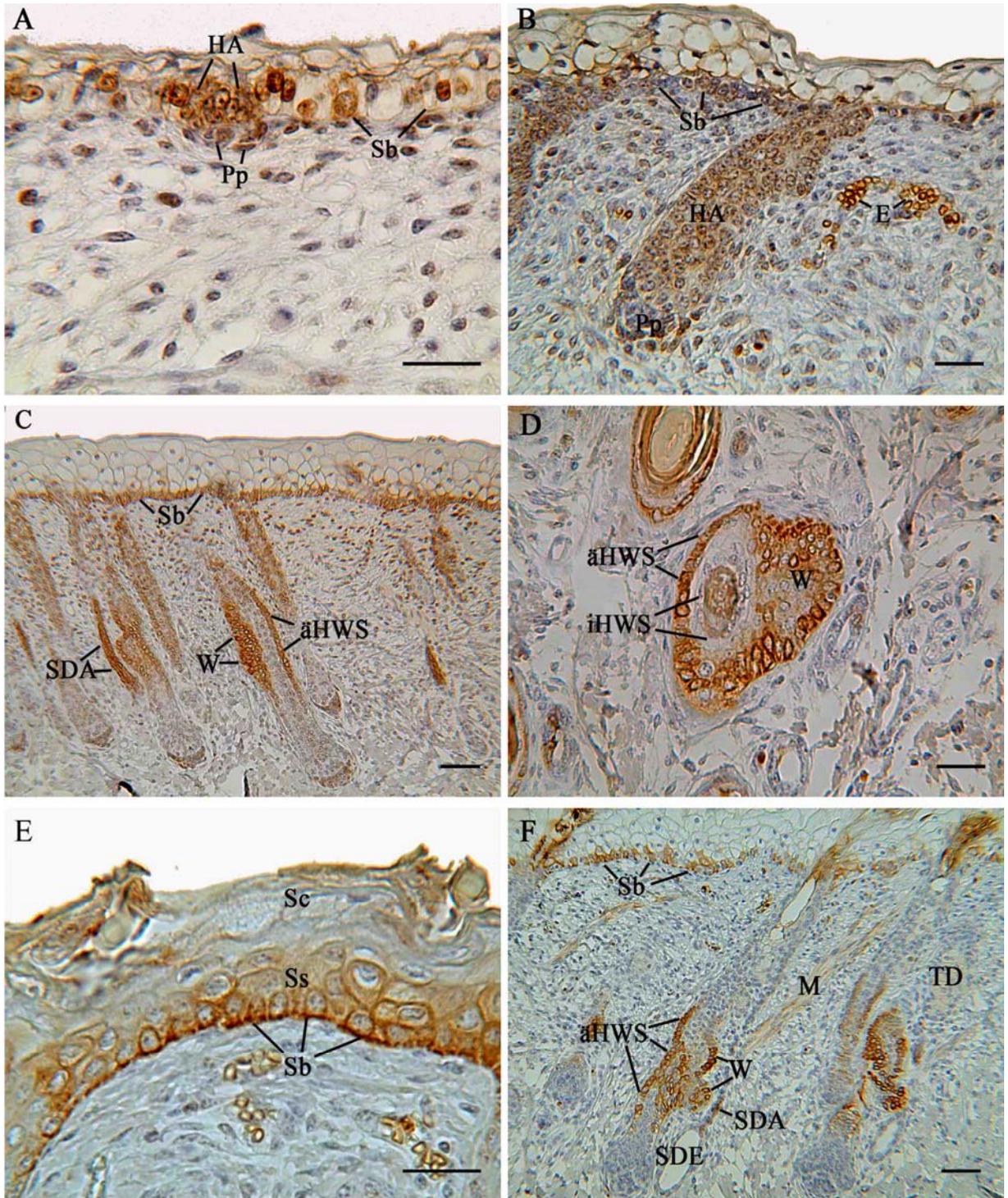
### **2.11.3. Expression von Keratin 15 in der Haut von Kälbern**

In den Proben der Kälberhaut kann eine Expression von K15 lediglich in der inneren Haarwurzelscheide festgestellt werden.

### **2.11.4. Expression von Keratin 15 in der Haut adulter Rinder**

Die adulte bovine Haut zeigt im Stratum corneum eine Anfärbung mittlerer Intensität, während im Stratum spinosum, ebenso wie im Stratum basale lediglich partiell eine leichte positive Reaktion zu verzeichnen ist. Die innere Haarwurzelscheide weist eine Expression von K15 auf und die äußere Haarwurzelscheide zeigt vom suprabulbären Bereich bis einschließlich der Wulstregion eine positive Reaktion. Auch das Haarmark und die Haarrinde inklusive ihrer Differenzierungszone zeigen eine deutliche Expression von K15.

**Abbildung 44: Expression von Keratin 15 in der Haut boviner Feten bei einer SSL von 15,7 cm bis 63,0 cm**



**A: SSL 15,7 cm, Scheitel**, Epidermis mit Haaranlage (HA), deutliche positive Reaktion im Stratum basale (Sb), der Haaranlage (HA) und schwache Reaktion in einzelnen Zellen der dermalen Präpapille (Pp), SB: 25 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Epidermis mit Haaranlage (HA) und Kapillaren, partiell positive Reaktion im Stratum basale (Sb), der Haaranlage (HA) und in der Peripherie der dermalen Präpapille (Pp), deutliche Anfärbung der Erythrozyten (E) in Blutgefäßen, SB: 25 µm ;

**C: SSL 41,4 cm, Scheitel**, Epidermis mit Haaranlage (HA) und Schweißdrüsenanlagen, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), insbesondere des Haarwulstes (W) und deutliche Expression in den Ausführungsgängen (SDA) der Schweißdrüsenanlage, SB: 50 µm;

**D: SSL 58,0 cm, Scheitel**, Querschnitt durch eine Haaranlage auf Höhe des Haarwulstes (W), positive Reaktion in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS), Haarwulst (W) mit besonders deutlicher Reaktion in ihrem äußeren Bereich, sehr schwache Reaktion in der inneren Haarwurzelscheide (iHWS), SB: 25 µm;

**E: 58,0 cm, Scheitel**, Epidermis, starke positive Reaktion im basalen Zytoplasmaanteil der Zellen des Stratum basale (Sb), schwache Reaktion im Stratum spinosum (Ss), partiell sehr schwache Reaktion im Stratum corneum (Sc), SB: 50 µm;

**F: SSL 63,0 cm, Scheitel**, Epidermis, Haaranlage mit Haarwulst (W), Musculus arrector pili (M), Talgdrüsen (TD) und Schweißdrüsen, partiell positive Reaktion im Stratum basale (Sb), deutliche Reaktion der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) auf Höhe des Haarwulstes (W), Expression im Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) bei fehlender Reaktion im Schweißdrüsenendstück (SDE), SB: 50µm.

**Tabelle 16: Expression des Keratins 15 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Si/Ss	Sb	W	iHWS	äHWS	HR	Pp/DP	SD	E
8,5 cm	-	++							+++
11,0 cm	+	+		+	+		-		+++
15,7 cm	+	++		+	+		+		+++
23,8 cm	+	++		+	+		+	+	+++
29,0 cm	+	++		+	++		++	+	+++
34,0 cm	++	++	++	+	++		++	++	+++
37,3 cm	+	++	++	+	++		++	++	+++
41,4 cm	+	++	+++	+	++		++	++	+++
49,0 cm	+	++	+++	+	++		+	++	+++
58,0 cm	++	++	+++	+	++		+	++	+++
63,0 cm	+	++	++	+	++		-	++	+++
64,8 cm	+	++	++	+	++	+	-	++	+++
67,8 cm	-	++	++	+	++	+	-	++	+++
80,5 cm	+	++	++	+	++	+	-	++	+++
94,5 cm	-	+	+	+	++	-	-	+	+++
95,0 cm	-	+	+	+	++	-	-	+	+++
2 T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7 T	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 T	-	-	-	++	-	-	-	-	+++
20 Mo	-	-	-	++	+	-	-	-	+++
54 Mo	+	+	+	++	+	+	-	+	+++
60 Mo	-	-	+	++	+	+	-	-	+++

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, E: Erythrozyten, HR: Haarrinde, HZ: Haarzwiebel, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter in Monaten Pp/DP: Präpapille bzw. Dermale Papille, Sb: Stratum basale, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, W: Wulstregion, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.12. Expression von Keratin 18 in der bovinen Haut**

### **2.12.1. Übersicht**

Die Expression von Keratin 18 (K18) ist im Periderm deutlich erkennbar. Das Stratum intermedium bzw. das bei den älteren Feten bereits ausgebildete Stratum spinosum zeigen ebenfalls eine leichte bis mittlere Anfärbung beim immunhistochemischen Nachweis auf K18. Eine positive Reaktion mittlerer Intensität ist im Stratum basale festzustellen. Die Haaranlage reagiert ebenfalls positiv, wobei während der Haarentwicklung eine deutliche Veränderung des Expressionsmusters zwischen den verschiedenen Zellpopulationen der Haaranlage stattfindet. Auch die Schweiß- und Talgdrüsen zeigen eine Markierung, deren Lokalisation sich im Verlaufe der fetalen Entwicklung deutlich verändert. Das Endothel der Blutgefäße weist stets eine positive Reaktion auf. Expression von K18 in der Haut boviner Feten.

### **2.12.2. Expression von Keratin18 in der Haut boviner Feten**

Der Fetus mit einer SSL von 8,5 cm zeigt im Periderm, dem Stratum intermedium wie auch dem Stratum basale eine deutliche Expression von K18. Auch das Endothel der Blutgefäße ist ab diesem Fetalstadium als K18-positiv (Abbildung 45: B). Ab dem Beginn der Haarentwicklung bei einer SSL von 11,0 cm ist auch in den frühen Haaranlagen eine positive Reaktion erkennbar. Von der SSL 15,7 cm (Abbildung 45: A) bis zur SSL 23,8 cm ist im Stratum basale eine positive Reaktion zu verzeichnen. Die nächste Änderung in diesem Expressionsmuster ist bei der SSL 23,8 cm in Form einer verstärkten Expression von K18 in der inneren Zellpopulation der Haaranlage im Vergleich zu der äußeren Zelllage zu sehen. Auch das Zytoplasma der Zellen der frühen Schweißdrüsenanlage weist ab diesem Fetalstadium eine leichte K18-Expression mit ähnlicher Intensität wie in der äußeren Zellpopulation der Haaranlage, auf. Ab dem Fetus der SSL 29,0 cm färben sich alle Zellen des Stratum basale vorwiegend im basalen Zellbereich an. Im weiteren Entwicklungsverlauf zeigt die sich entwickelnde äußere Haarwurzelscheide bei einer SSL von 34,0 cm oberhalb des Haarwulstes eine Reaktion wesentlich geringerer Intensität als dies ab der Wulstregion abwärts der Fall ist. Ab dieser SSL wird auch erkennbar, dass die Markierung der äußeren Haarwurzelscheide unterhalb des Ursprungs der Schweißdrüse vollständig fehlt (Abbildung 45: C). Die Region ab der Höhe des Wulstes ist gekennzeichnet durch eine positive K18-Reaktion, die sich auf die basalen Bereiche der Zellen konzentriert, während die Expression in den Schweißdrüsenanlagen vorwiegend in den apikalen Zytoplasmaanteilen der Epithelzellen zu finden ist. Ab der SSL 37,3 cm zeigt die innere Zellpopulation der Haaranlage im oberen Bereich bis zum Haarwulst eine stärkere Immunfärbung auf K18 als der untere Bereich. Im Gegensatz hierzu ist die Reaktion in der äußeren Zellpopulation im oberen Haaranlagenbereich nur schwach ausgeprägt, im unteren Bereich hingegen erscheint diese wesentlich stärker, wobei der Bereich unterhalb des Schweißdrüsenursprungs von dieser Reaktion ausgespart bleibt. In der Epidermis zeigt sich ab diesem Fetalstadium eine Begrenzung der positiven Reaktion auf die unteren zwei Zellschichten des Stratum spinosum, was sich bis zu dieser Entwicklungsstufe in seinem gesamten Bereich angefärbt hat. Auch die Talgdrüsenanlage lässt nun

eine Expression von K18 erkennen (Abbildung 45: D). Ab der SSL 41,4 cm wird das Stratum corneum sichtbar, das eine schwache Reaktion aufweist, während das Periderm nicht mehr nachweisbar ist. Das Endo- und Perineurium von dermalen Nervenfasern reagiert ab einer SSL von 63,0 cm positiv. Die Probe der SSL 64,8 cm zeigt eine gleichmäßige positive Reaktion in allen Bereichen der inneren Haarwurzelscheide. Die äußere Haarwurzelscheide zeigt bei dieser Größe im oberen Haaranlagenbereich bis zur Höhe des Haarwulstes eine etwas stärkere Reaktion als im unteren Bereich. Ab der SSL 67,8 cm zeigt die innere Haarwurzelscheide lediglich im unverhornten Bereich eine positive Reaktion. Die äußere Haarwurzelscheide färbt sich an der ganzen Haaranlage in mittlerem Umfang an. Das Haarmark zeigt ab der SSL 67,8 cm eine positive Reaktion mittlerer Stärke. Bei einer SSL von 80,5 cm ist eine deutliche Reaktion der Interzellularbrücken der basalen Zellen zu beobachten. Insbesondere die Zellfortsätze in Richtung der Basalmembran sind hierbei deutlich erkennbar angefärbt (Abbildung 45: E). Ab diesem Fetalstadium reagieren die myoepithelialen Zellen der Schweißdrüse positiv, während die sekretorischen Zellen nur vereinzelt eine Reaktion aufweisen und auch die Basalzellen der Talgdrüsen zeigen eine Expression von K18. Das Expressionsmuster von K18 in den Blutgefäßen verändert sich ab diesem Entwicklungsstadium dahingehend, dass nun eine deutliche Anfärbung des Endothels nicht mehr feststellbar ist, aber die Tunica media eine deutliche Reaktion aufweist. Gegen Ende der Fetalentwicklung, bei einer SSL von 94,0 cm ist zusätzlich zu der Expression im Endo- und Perineurium dermalen Nervenfasern nun auch deren Epineurium angefärbt (Abbildung 45: F).

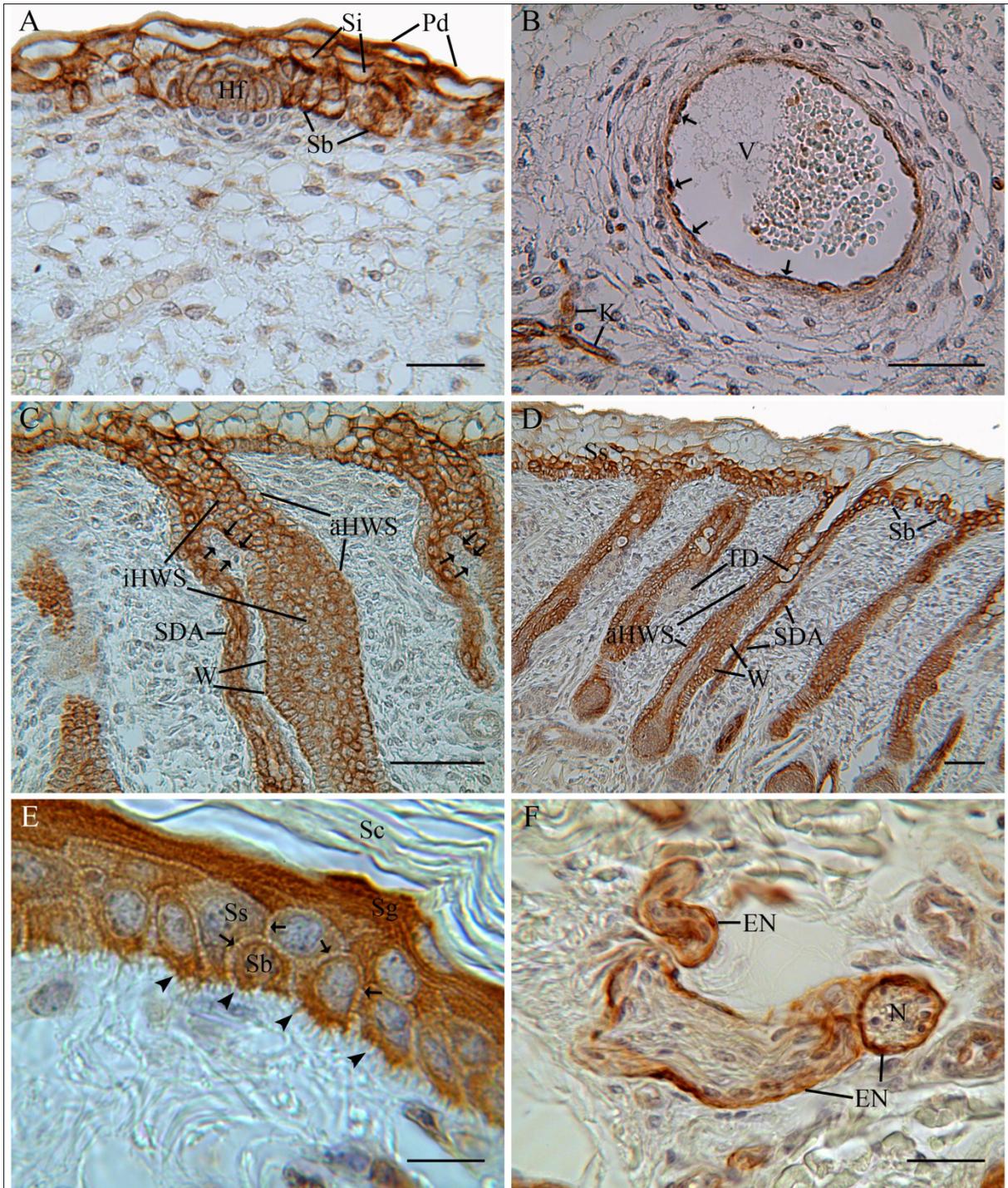
### **2.12.3. Expression von Keratin 18 in der Haut von Kälbern**

Die untersuchte postnatale Haut zeigt eine stark positive Reaktion im Stratum spinosum und Stratum granulosum, während das Stratum basale nur eine schwache Reaktion vorweist. Die Haaranlagen weisen eine starke Expression in den unverhornten Anteilen der inneren Haarwurzelscheide auf und auch die äußere Haarwurzelscheide zeigt in ihrer gesamten Zellpopulation eine starke Anfärbung auf immunreaktives K18. Auch die Haarzwiebel exprimiert K18 in starkem Umfang. Weitere Zellpopulationen mit positiver Reaktion sind die myoepithelialen Zellen der Schweißdrüsen. Die sekretorischen Zellen dieser Hautdrüsen zeigen nur vereinzelt eine Reaktion. Auch die Basalzellen der Talgdrüsen färben sich an. In den Blutgefäßen ist die Tunica media positiv. Schließlich zeigen, ähnlich wie bei den späteren fetalen Hautproben (ab SSL 94,5 cm) auch in der postnatalen Haut die bindegewebigen Anteile von dermalen Nerven (Endo-Peri- und Epineurium) eine Expression von K18.

### **2.13. Expression von Keratin 18 in der Haut adulter Rinder**

In der adulten bovinen Haut kann, ähnlich wie in der postnatalen Haut, eine Expression von K18 im Stratum basale mit geringer Intensität und im Stratum spinosum und granulosum mit starker Intensität festgestellt werden. Auch die innere Haarwurzelscheide weist eine starke Anfärbung in ihrem unverhornten Anteil auf. Die äußere Haarwurzelscheide zeigt in ihrer Gesamtheit eine starke Expression von K18. In Haarzwiebeln, die sich im Katagen des Haarzyklus befinden, ist eine komplette Anfärbung sichtbar, während in Haarzwiebeln in der Anagenphase lediglich eine Expression in der Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide zu finden ist. Talgdrüsen lassen eine positive Reaktion in ihren Basalzellen beobachten. Schweißdrüsen zeigen nur teilweise eine Anfärbung in ihren sekretorischen Zellen, jedoch eine regelmäßige in ihren myoepithelialen Zellen. Auch in der adulten Haut ist eine Expression in den bindegewebigen Anteilen von in der Dermis liegenden nervalen Strukturen zu finden (Endo-, Peri- und Epineurium).

**Abbildung 45: Expression von Keratin 18 in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 95,0 cm**



**A: SSL 15,7 cm, Scheitel**, Epidermis mit früher Haaranlage, positive Reaktion im Stratum basale (Sb), dem Stratum intermedium (Si) und dem Periderm (Pd) ebenso wie in der frühen Haaranlage (HA), SB: 25 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Scheitel**, Vene (V) und Kapillaren (K) in einem tiefen mesenchymalen Bereich, positive Reaktion im Endothel der Kapillaren (K), Pfeile: positive Reaktion im Endothel der Vene (V), SB: 50 µm;

**C: SSL 34,0 cm, Scheitel**, Haaranlagen mit Schweißdrüsenanlagen, stärkere positive Reaktion im epithelnahen Bereich der inneren Zellpopulation der Haaranlage (HA), schwächer im Bereich unterhalb der Schweißdrüsenmündung, schwache positive Reaktion im epithelnahen Bereich der äußeren Zellpopulation (äHWS) der Haaranlage (HA), stärkere unterhalb der Schweißdrüsenmündung mit der Ausnahme der unmittelbar unter der Schweißdrüsenmündung gelegenen Zellen der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS): hier keine Reaktion (Pfeile), positive Reaktion im Haarwulst (W) und in den Ausführungsgängen der Schweißdrüsen (SDA), SB: 50 µm;

**D: SSL 63,0 cm, Scheitel**, Epidermis, Haaranlagen mit Haarwulst (W), Schweißdrüsen und Talgdrüsen (TD), positive Reaktion im Stratum basale (Sb) der Epidermis, im Haarwulst (W), in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) vom Haarwulst (W) abwärts, in den sekretorischen Zellen des Schweißdrüsenausführungsganges (SDA) und leichte Anfärbung der sekretorischen Zellen der Talgdrüse (TD), SB: 50 µm;

**E: SSL 94,5 cm, Scheitel**, Epidermis, stark positive Reaktion im Stratum basale (Sb), Stratum spinosum (Ss) und Stratum granulosum (Sg), Pfeilspitzen: basale Zellausläufer des Stratum basale (Sb) mit deutlicher Reaktion, Pfeile: Interzellularbrücken des Stratum basale (Sb) und des Stratum spinosum (Ss) mit deutlicher Expression von K18, SB: 10 µm;

**F: SSL 95,0 cm, Scheitel**, Nerv in der Dermis, positive Reaktion im Epineurium (EN) und schwache positive Reaktion im Endoneurium zwischen den Nervenfasern, SB: 25 µm.

**Tabelle 17: Expression des Keratins 18 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Sc	Sg	Si/Ss	Sb	W	iHWS	äHWS	HM	SD	TD	EN	Endo
8,5 cm	++			++	+								+
11,0 cm	+++			+++	+		++	++					+
15,7 cm	+++			++	++		++	++					+
23,8 cm	++			++	++		+++	++		++			+
29,0 cm	-			+	+++		++	+		++			+
34,0 cm	++			+	++	++	++	++		+++			+
37,3 cm	+			++	++	+++	+++	+++		+++	+		+
41,4 cm	+			++	++	+++	+++	+++		+++	++		+
49,0 cm	-			++	++	+++	+++	+++		+++	++		+
58,0 cm		-		-	++	+++	+++	+++		+++	++		+
63,0 cm		+		-	++	+++	+++	+++		+++	++	++	+
64,8 cm		+		-	++	++	+++	++	++	+++	++	++	+
67,8 cm		+		-	++	++	+	++	++	+++	++	++	+
80,5 cm		-	+++	++	++		++	++	++	++	++	++	+
94,5 cm		-	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+
95,0 cm		-	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+
9 T		-	+++	+++	+		++	+++	++	+++	++	++	+
20 Mo		-	+++	+++	+		++	+++	++	+++	+	++	+

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, EN: Endo-, Peri- bzw. Epineurium, Endo: Endothel, HZ: Haarzwiebel, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter in Monaten Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Sc: Stratum corneum, SD: Schweißdrüsenanlage, Sg: Stratum granulosum, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, TD: Talgdrüsen, W: Wulstregion, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## **2.14. Expression von Keratin 19**

### **2.14.1. Übersicht**

Wesentliche Zellpopulationen, die eine deutliche Expression von Keratin 19 (K19) während der fetalen Entwicklung der Haut des Rindes zeigen sind das Oberflächenepithel und Anteile der Haaranlagen, welche sich hieraus entwickeln. Auch die Schweiß- und Talgdrüsenanlagen reagieren bei diesem immunhistochemischen Nachweis positiv. Weiterhin zeigt das Epineurium von Nervenfaserbündeln, welche vor allem in subkutanen Bereichen der Haut zu finden sind, ab einer bestimmten fetalen Größe eine Anfärbung, welche auf die Expression von K19 hinweist.

### **2.14.2. Expression von Keratin 19 in der Haut boviner Feten**

Bereits bei der kleinsten untersuchten fetalen Größe (SSL 8,5 cm) ist im Periderm eine starke Expression von K19 nachweisbar. Auch das Stratum intermedium lässt eine leicht positive Reaktion Immunfärbung auf K18 erkennen (Abbildung 46: A). Ab einer SSL von 15,7 cm zeigen auch die frühen Haaranlagen eine positive Reaktion. Mit einer SSL von 23,8 cm wird deutlich, dass die positive Reaktion sich auf den epithelnahen Bereich der Haaranlage und hier vorwiegend auf die innere Zellpopulation beschränkt. Hier zeigt sich auch im Stratum basale eine leichte Expression (Abbildung 46: B). In den Haaranlagen des Fetus der SSL 34,0 cm ist eine leichte Expression von den epithelnahen Bereichen bis inklusive der Wulstregion anzutreffen, die sich auf die innere und äußere Zellpopulation der Haaranlagen erstreckt. Die Schweißdrüsenanlagen zeigen ab diesem Entwicklungsstadium ebenfalls eine deutliche Reaktion in ihren sekretorischen Zellen im apikalen Zellanteil. Ab der SSL von 37,3 cm nimmt die Expression im Stratum basale leicht an Intensität zu, so dass nun das Stratum basale, das sich langsam entwickelnde Stratum spinosum sowie das Periderm eine Anfärbung mittlerer Intensität aufweisen. Auch die Haaranlagen lassen in der beschriebenen Region nun eine Expression mittlerer Stärke gegenüber der vorherigen leichten Anfärbung erkennen. Zu der positiven Reaktion in den sekretorischen Zellen der Schweißdrüse kommt nun auch eine leichte Expression in den sekretorischen Zellen der Talgdrüse (Abbildung 46: C, D). Dieses Expressionsmuster bleibt bis zum Fetus der SSL 58,0 cm erhalten. Ab diesem Entwicklungsstadium kommt eine positive Reaktion in der Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide hinzu (Abbildung 46: E). Das sich bildende Stratum corneum zeigt in diesem Stadium noch keine Reaktion. Es beginnt ab der SSL 63,0 cm eine Expression mittlerer Stärke zu zeigen. Ab der SSL 67,8 cm zeigen die Talgdrüsen keine Reaktion mehr. Die nächste Änderung im Expressionsmuster tritt bei einer SSL 94,5 cm ein. Ab hier sind die äußere wie auch die innere Haarwurzelscheide durchgehend mit mittlerer bis starker Intensität angefärbt. Die Haarzwiebeln befinden sich in diesem Entwicklungsstadium teilweise im Katagen. Diese färben sich in ihrer Gesamtheit in mittlerer Intensität an, während die Haarzwiebeln im Anagen nur eine positive Reaktion in der Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide aufweisen. Ein anderer Gewebeanteil, welcher nun positiv reagiert, ist das Epineurium von Nerven, die in der Dermis verlaufen. Ansonsten ist weiterhin eine positive Reaktion im Stratum basale und Stratum spinosum erkennbar und auch das Stratum corneum weist eine, wenn

auch nur schwache Expression auf. Die Expression in den Schweißdrüsen erscheint stark abgeschwächt und tritt nur noch partiell in einigen sekretorischen Zellen auf. Dieses Expressionsmuster findet sich auch bei dem größten untersuchten Fetus der SSL 95,0 cm wieder.

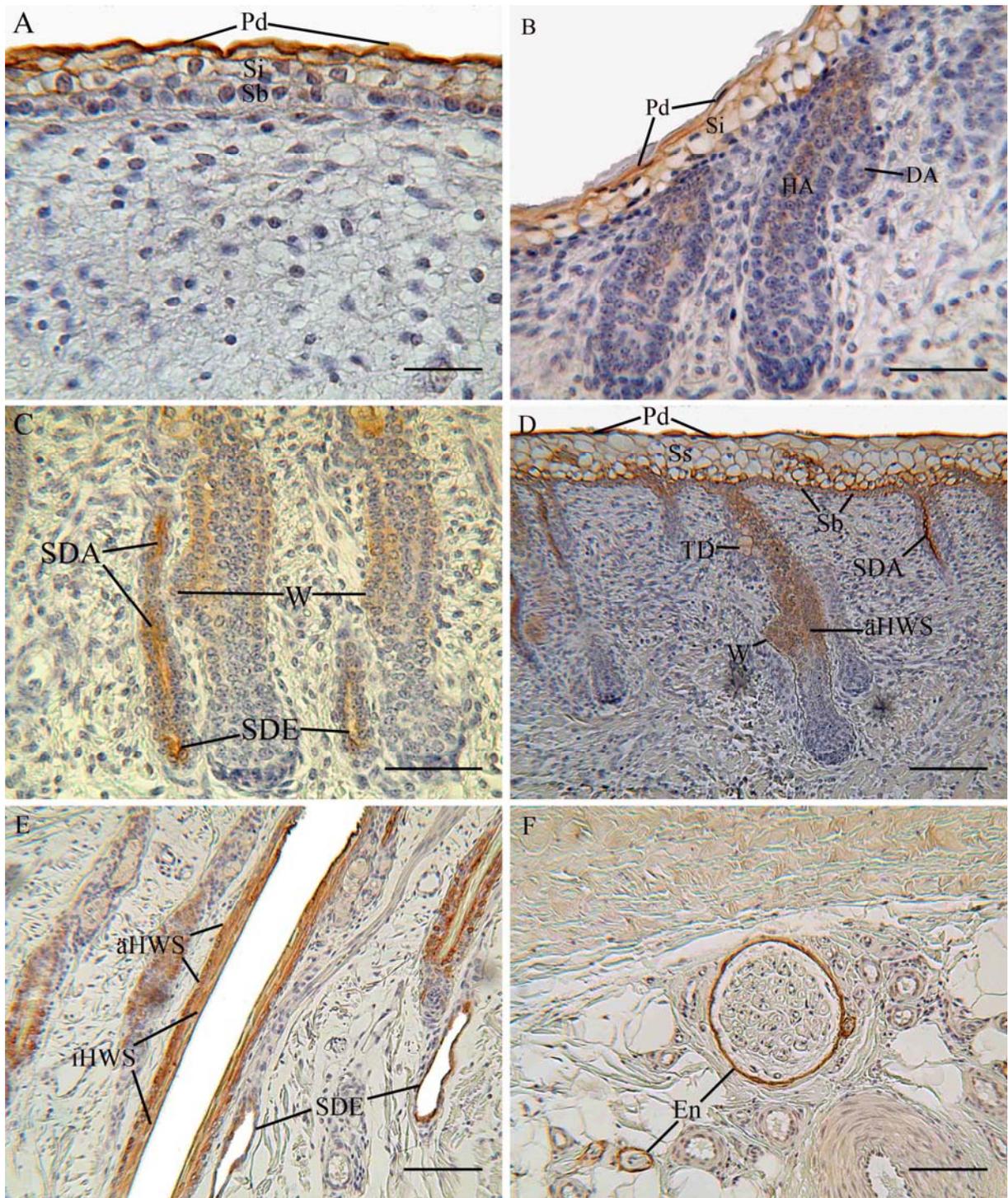
#### **2.14.3. Expression von Keratin 19 in der Haut von Kälbern**

Die postnatale Haut zeigt ebenso, wie die späte fetale Haut (SSL 94,5 und SSL 95,0 cm) eine positive Reaktion im Stratum basale, Stratum spinosum und eine sehr schwache Reaktion im Stratum corneum. Auch bei diesen Hautproben färbt sich die gesamte epitheliale Haarwurzelscheide an. Weitere Gewebeanteile mit Expression von K19 sind in anagenen Haarzwiebeln, die Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide sowie in katagenen Haarzwiebeln die gesamte Haarzwiebel. Die Schweißdrüsen weisen teilweise eine Reaktion in ihren sekretorischen Zellen auf. Ein weiterer Gewebeanteil, der sich auch bereits in der Haut der späten Feten positiv auf K18 darstellt, ist das Epineurium der dermalen Nerven.

#### **2.14.4. Expression von Keratin 19 in der bovinen Haut adulter Tiere**

Die adulte Haut ist gekennzeichnet durch eine sehr schwache Expression von K19 in allen epidermalen Schichten. Die Haaranlagen zeigen teils eine Expression in der gesamten Haarwurzelscheide, teils auch nur im unverhornten Bereich der inneren Haarwurzelscheide und im Bereich des Infundibulum und des Isthmus der äußeren Haarwurzelscheide. Die Haarzwiebeln sind, sofern sie sich im Katagen befinden, in ihrer Gesamtheit K19 positiv, während die anagenen Haarzwiebeln nur eine Expression in der Differenzierungszone der inneren Haarwurzelscheide aufweisen. Ein weiterer Gewebeanteil mit K19-Expression ist die Schweißdrüse, die allerdings nur sehr vereinzelt positive sekretorische Zellen aufweist. Das Epineurium der nervalen Anteile der Dermis zeigt eine starke Reaktion (Abbildung 46: F).

**Abbildung 46: Expression von Keratin 19 in der Haut boviner Fetten mit einer SSL zwischen 11,0 cm und 64,8 cm und in der Haut eines adulten Tieres (Alter 20 Monate)**



**A: SSL 11 cm, Hintergliedmaße,** Oberflächeneithel, Stratum basale (Sb), Stratum intermedium (Si), Periderm (Pd) mit deutlicher positiver Reaktion, Scale bar (SB): 25 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Scheitel,** Oberflächeneithel und Haaranlagen, Stratum intermedium (Si) und Periderm (Pd) mit leichter positiver Reaktion, Haaranlagen (HA) mit positiver Reaktion des inneren Zellkompartimentes, Drüsenanlage (DA), SB: 50 µm,

**C: SSL 37,3 cm, Scheitel,** Haaranlagen und Schweißdrüsenanlagen, Haarwulst (W) der Haaranlagen, Ausführungsgang der Schweißdrüsenanlage (SDA), Endstück der Schweißdrüsenanlage (SDE), SB: 50 µm;

**D: SSL 41,4 cm, Scheitel,** Oberflächeneithel, Drüsenanlagen und Haaranlagen, Periderm (Pd), Stratum spinosum (Ss) und Stratum basale (Sb) des Oberflächeneithels, Schweißdrüsenausführungsgang (SDA), Talgdrüsenanlage (TD), frühe äußere Haarwurzelscheide (ähWS), Haarwulst (W) der Haaranlage, SB: 100 µm;

**E: SSL 64,8 cm, Scheitel,** Haaranlage und Schweißdrüsenendstücke, äußere Haarwurzelscheide (ähWS) und innere Haarwurzelscheide (ihWS) der Haaranlage, Schweißdrüsenendstück (SDE), SB: 100 µm;

**F: adultes Rind, Alter: 20 Monate, Vordergliedmaße,** Nervenfaserbündel in der Subcutis, starke Expression von Keratin 19 im Epineurium (En), SB: 100 µm.

**Tabelle 18: Übersicht Expression des Keratins 19 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Sc	Si/ Ss	Sb	W	ähWS	ihWS	TD	SD	EN
8,5 cm	++		+	-						-
11,0 cm	++		+	+		+	+			-
15,7 cm	++		+	+		+	+			-
23,8 cm	++		+	+		-	+			-
29,0 cm	+		+	+		-	+			-
34,0 cm	+		+	++	+	+	+	+	++	-
37,3 cm	++		++	++	++	++	+	+	++	-
41,4 cm	++		+	++	++	++	+	+	++	-
49,0 cm	+		+	++	++	++	++	+	++	-
58,0 cm		-	++	++	+	+	+	+	++	-
63,0 cm		+	++	++	+	+	+	+	++	-
64,8 cm		++	++	++	++	++	++	+	++	-
67,8 cm		++	++	++	++	++	++	+	+	-
80,5 cm		+	++	+	++	++	++	-	+	+
94,5 cm		+	++	++	++	++	++	-	+	+
95,0 cm		+	++	++	+	+	++	-	++	+
2 T		+	+	++	+	+	++	-	+	+
7 T		+	+	++	+	+	++	-	+	+
9 T		+	+	+	+	+	++	-	+	++
20 Mo		-	++	-	++	++	++	-	-	+++
54 Mo		-	++	-	+	+	++	-	+	+++
60 Mo		+	++	+	++	++	++	-	-	+++

ähWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, EN: Epineurium, ihWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Sc: Stratum corneum, SD: Schweißdrüse, Si/Ss: Stratum intermedium bzw. Stratum spinosum, T: Alter in Tagen, TD: Talgdrüsen, W: Wulstregion, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3. Ergebnisse der glykohochemischen Untersuchungen

Die genauen Verteilungsmuster der Bindungen der unterschiedlichen Lektine während der Hautentwicklung sind in den jeweiligen Tabellen dargestellt. Die im Kapitel Material und Methoden beschriebenen Kontrollen (Positivkontrollen, Negativkontrolle mit fehlendem Lektin und Negativkontrolle über den mit dem jeweiligen Lektin korrespondierenden Hemmzucker) wurden durchgeführt. Dies wurde bei der Auswertung berücksichtigt. Die Hemmung durch die korrespondierenden Zucker, ebenso wie die Positivkontrollen zeigten eine Hemmbarkeit der Lektine. Die Negativkontrollen mit fehlendem Lektin zeigt eine leichte Eigenfluoreszenz im Bereich des Periderms und der Erythrozyten.

#### 3.1. Glucose- bzw. Mannose bindende Lektine pflanzlicher Herkunft

##### 3.1.1. Untersuchung der Bindung von *Canavalia ensiformis* Agglutinin (ConA)

**Tabelle 19: Übersicht über das Bindungsmuster von ConA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Si/Ss	Sb	äHWS	iHWS	SD	TD	DWS	DP
8,5 cm	+++	+++	+++						
11,0 cm	+++	++	+++						
15,7 cm	+++	++	+++	++	++				+
23,8 cm	+++	++	++	++	+				++
29,0 cm	+++	++	++	++	+	+			++
34,0 cm	++	++	++	++	+	++		-	+
37,3 cm	++	++	++	++	+	++	++	++	++
41,4 cm	+++	++	++	++	+	++	++	++	++
49,0 cm	+++	++	+	++	+	+++	+++	++	++
58,0 cm		++	+	+	++	+++	++	++	++
63,0 cm		++	+	++	++	++	++	++	++
64,8 cm		+++	++	++	++	+++	+++	++	++
67,8 cm		++	++	+	++	+++	++	++	++
80,5 cm		++	++	+	++	+++	++	++	++
94,5 cm		+++	+++	+	++	+++	++	++	++
95,0 cm		+++	+++	+	+	++	++	++	++
2 T		+++	+++	++	+	++	++	++	++
7 T		++	+++	++	+	+	+++	++	++
9 T		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
20 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
54 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
60 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

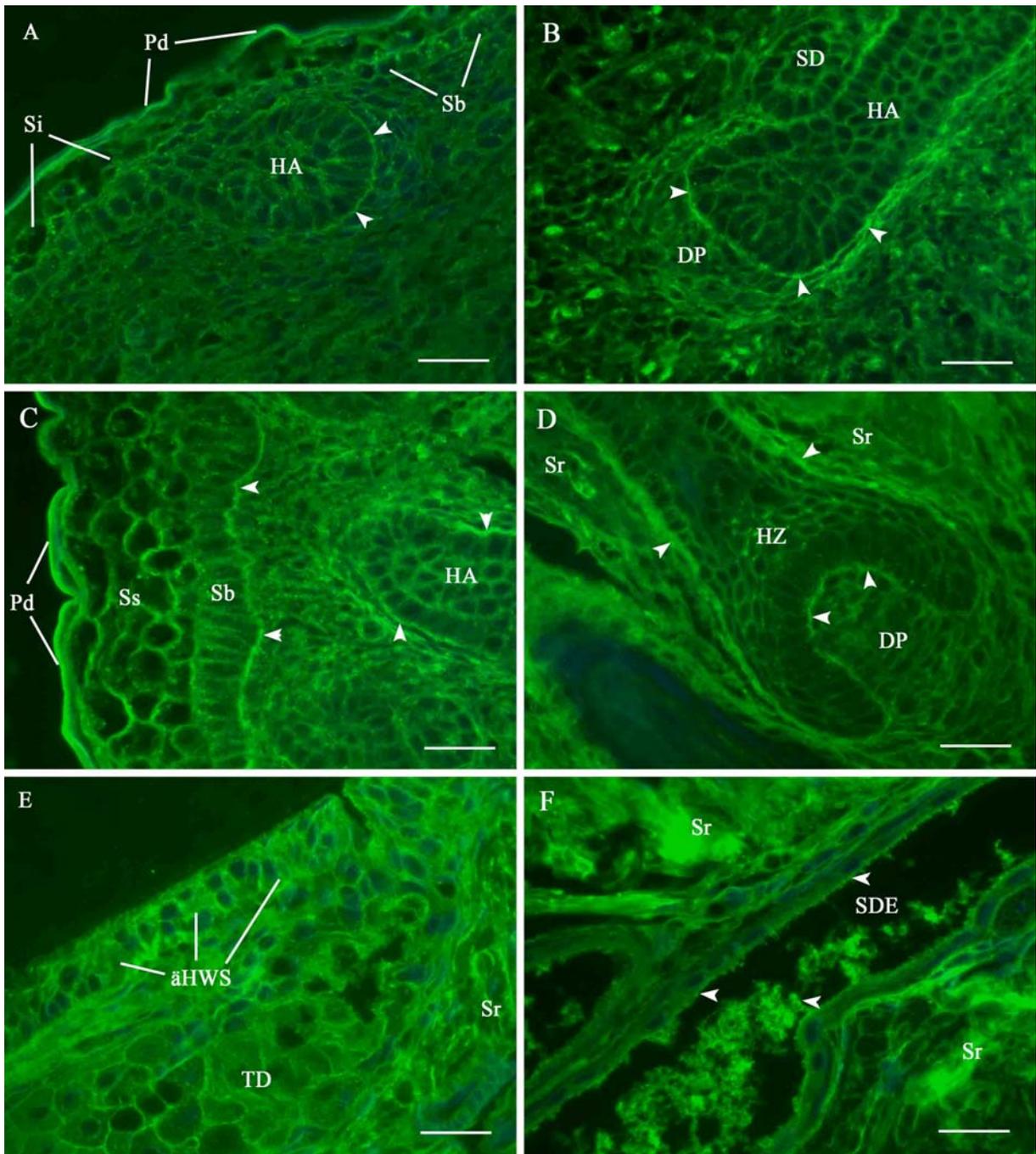
### 3.1.2. Untersuchung der Bindung von *Pisum sativum* Agglutinin (PSA)

**Tabelle 20: Übersicht über das Bindungsmuster von PSA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Si/Ss	Sb	ähWS	iHWS	SD	TD	DWS	DP
8,5 cm	-	+++	+++						
11,0 cm	+++	++	+++						
15,7 cm	+++	++	+++	++	++				+
23,8 cm	+++	++	++	++	+				++
29,0 cm	+++	++	++	++	+	+			++
34,0 cm	++	++	++	++	+	++		-	+
37,3 cm	++	++	++	++	+	++	++	++	++
41,4 cm	++	++	++	++	+	++	++	++	++
49,0 cm	-	++	+	++	+	+++	+++	++	++
58,0 cm		++	+	+	++	+++	++	++	++
63,0 cm		++	+	++	++	++	++	++	++
64,8 cm		+++	++	++	++	+++	+++	++	++
67,8 cm		++	++	+	++	+++	++	++	++
80,5 cm		++	++	+	++	+++	++	++	++
94,5 cm		+++	+++	+	++	+++	++	++	++
95,0 cm		+++	+++	+	+	++	++	++	++
2 T		+++	+++	++	+	++	++	++	++
7 T		++	+++	++	+	+	+++	++	++
9 T		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
20 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
54 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++
60 Mo		+++	+++	++	+	+++	+++	++	++

ähWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

**Abbildung 47: Bindung von *Pisum sativum* Agglutinin (PSA) in der Haut von bovinen Fetten mit einer SSL zwischen 23,8 cm und 94,5 cm**



Grundsätzlich markiert PSA zahlreiche Zellpopulationen in der bovinen Haut. Besonders fällt die Bindung in der Basalmembran der epidermalen Anteile auf.

**A: SSL 23,8 cm, Hintergliedmaße;** PSA bindet an die Basalmembran (Pfeilspitzen) des Haarzapfens (HA), aber auch im Periderm (Pd), im Stratum intermedium (Si), sowie im Stratum basale (Sb) weist das Lektin Glukose, bzw. Mannosereste nach, SB: 30 µm;

**B: SSL 34,0 cm, Hintergliedmaße;** Auch in diesem Fetalstadium bindet PSA an die Basalmembran (Pfeilspitzen) der Haaranlage (HA). Auch die dermale Präpapille (DP) zeigt eine Fluoreszenz mittlerer Stärke, SD: Schweißdrüse, SB: 30 µm;

**C: SSL 34,0 cm, Hintergliedmaße;** Die Pfeilspitzen markieren die positive Reaktion in den Basalmembranen von Stratum basale (Sb) und Haaranlage (HA). Auch in der Haaranlage selbst, sowie in Stratum basale (Sb), Stratum spinosum (Ss) und Periderm (Pd) der Epidermis ist eine Reaktion erkennbar. Die Fibrozyten der Dermis zeigen eine positive Reaktion, SB: 30 µm;

**D: SSL 58,0 cm, Scheitel;** Besonders im suprabulbären Bereich, also von der Haarzwiebel (HZ) aufwärts färbt sich die Basalmembran stark an. Aber auch zwischen Haarzwiebel und dermaler Papille (DP) ist eine Reaktion zu erkennen, auch im Stratum reticulare (Sr) der Dermis findet sich eine deutliche Fluoreszenz, Pfeilspitzen: Basalmembran, SB: 30 µm;

**E: SSL 94,5 cm, Scheitel;** Die äußere Haarwurzelscheide (äHWS), die Talgdrüsenanlage (TD) wie auch das Stratum reticulare (Sr) zeigen eine starke positive Reaktion, SB: 30µm;

**F: SSL 94,5 cm, Scheitel;** Pfeilspitzen: Besonders an die apikalen Zelloberflächen des Schweißdrüsenendstücks (SDE), wie auch das im Lumen befindliche Sekret bindet PSA, Faserbündel im Stratum reticulare (Sr) der Dermis färben sich stark an; SB: 30 µm.

### 3.1.3. Untersuchung der Bindung von *Lens culinaris* Agglutinin (LCA)

Das Bindungsmuster von LCA während der bovinen Hautentwicklung stellt sich schwach und diffus in allen Bereichen der Haut dar.

### 3.2. D-Galactose bindende pflanzliche Lektine

#### 3.2.1. Untersuchung der Bindung von Ricinus communis Agglutinin (RCA)

**Tabelle 21: Übersicht über das Bindungsmuster von RCA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Si/Ss	Sb	ähWS	iHWS	SD	TD	DP
8,5 cm	++	++	++					
11,0 cm	++	++	++					
15,7 cm	++	+	++	++	++			++
23,8 cm	++	+	+	++	++			++
29,0 cm	+	+	+	++	++	+		++
34,0 cm	++	+	+	++	++	++		+
37,3 cm	++	+	+	+	+++	++	-	+
41,4 cm	++	+	+	+	++	++	-	+
49,0 cm	++	+	-	+	++	++	-	+
58,0 cm		-	-	+	++	++	-	+
63,0 cm		+	-	+	++	+	+	+
64,8 cm		-	-	+	++	++	-	+
67,8 cm		-	-	+	++	++	-	+
80,5 cm		-	-	+	++	++	-	+
94,5 cm		-	-	+	++	++	++	+
95,0 cm		-	-	+	++	+	++	+
2 T		-	-	+	++	+	++	+
7 T		-	-	+	++	+	+	+
9 T		-	-	+	++	-	++	+
20 Mo		-	-	+	++	-	++	+
54 Mo		-	-	++	++	-	++	+
60 Mo		+++	-	+	+	-	++	+

ähWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

#### 3.2.2. Untersuchung der Bindung von Viscum album Agglutinin (VAA)

Die Bindung von VAA kann im Endothel der Blutgefäße während des gesamten Entwicklungsverlaufes der bovinen Haut festgestellt werden. Ansonsten ist eine sehr schwache Reaktion der zentralen Zellen des Haarzapfens im oberen Drittel der Haaranlage zu beobachten, die im weiteren Entwicklungsverlauf im oberen Drittel der inneren Haarwurzelscheide zu finden ist. Das Schweißdrüsenepithel zeigt ebenfalls eine leichte Fluoreszenz während seiner gesamten fetalen Entwicklung.

### 3.2.3. Untersuchung der Bindung von Peanut Agglutinin (PNA)

**Tabelle 22: Übersicht über das Bindungsmuster von PNA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd	Si/Ss	Sb	iHWS	SD	TD	HK
8,5 cm	-	+	-				
11,0 cm	-	++	-				
15,7 cm	-	++	-	+			
23,8 cm	+	++	-	++			
29,0 cm	+	++	-	++	-		
34,0 cm	+	++	+	++	-		
37,3 cm	+	++	+	++	-	-	
41,4 cm	-	+	+	++		-	+++
49,0 cm	-	++	+	++	+++	+	+++
58,0 cm		+	-	++	+++	+	+++
63,0 cm		++	+	+	+++	+	+++
64,8 cm		++	+	-	+++	+	+++
67,8 cm		+	+	-	+++	+	+++
80,5 cm		+	-	-	++	+	+++
94,5 cm		+	+	-	++	+	+++
95,0 cm		+	+	-	+	+	+++
2 T		+	+	-	-	-	+++
7 T		+	+	-	-	-	++
9 T		+	+	-	-	-	+++
20 Mo		+	+	-	-	-	+++
54 Mo		+	+	-	-	-	+++
60 Mo		+	+	-	-	-	++

cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, HK: Haarkanal, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.2.4. Untersuchung der Bindung von Griffonia simplicifolia Lektin I (GSL-I)

**Tabelle 23: Übersicht über das Bindungsmuster von GSL-I in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Si/Ss	Sb	SD	TD
8,5 cm	-	-		
11,0 cm	-	-		
15,7 cm	-	-		
23,8 cm	-	+		
29,0 cm	-	+	-	
34,0 cm	+	+	++	
37,3 cm	+	+	++	-
41,4 cm	+	+	+++	-
49,0 cm	+	+	+++	-
58,0 cm	+	+	++	+
63,0 cm	-	-	++	+
64,8 cm	-	-	++	+
67,8 cm	-	-	++	+
80,5 cm	-	-	++	+
94,5 cm	-	-	+	+
95,0 cm	-	-	+	+
2 T	-	-	+	+
7 T	-	-	+	+
9 T	-	-	+	+
20 Mo	-	-	+	+
54 Mo	-	-	+	+
60 Mo	-	-	+	+

cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.3. N-Acetyl-D-Galactosamin/D-Galactosamin bindende Lektine

#### 3.3.1. Untersuchung der Bindung von Dolichos biflorus Agglutinin (DBA)

Die Untersuchung von N-Acetylgalactosamin mit Hilfe von DBA ergibt lediglich eine Reaktion mittlerer Intensität an den Zelloberflächen der Haarkutikula.

#### 3.3.2. Untersuchung der Bindung von Soybean Agglutinin (SBA)

Im Rahmen der Untersuchung mit SBA ist ab einer SSL von 49,0 cm ist eine schwache Fluoreszenz im Bereich der Talgdrüsen zu erkennen. Das Epithel der Schweißdrüsen zeigt eine starke Reaktion ab einer SSL von 29,0 cm und auch der Haarkanal reagiert ab der SSL 49,0 cm mit einer Fluoreszenz mittlerer Stärke.

### 3.3.3. Untersuchung der Bindung von *Sophora japonica* Agglutinin (SJA)

Gewebeanteile mit einer starken positiven Reaktion bei der Untersuchung mit SJA sind der Haarkanal sowie die Haarkutikula ab der SSL 58,0 cm. In der tiefen Dermis zeigen Bindegewebsfasern ab der SSL 34,0 cm eine schwache Fluoreszenz.

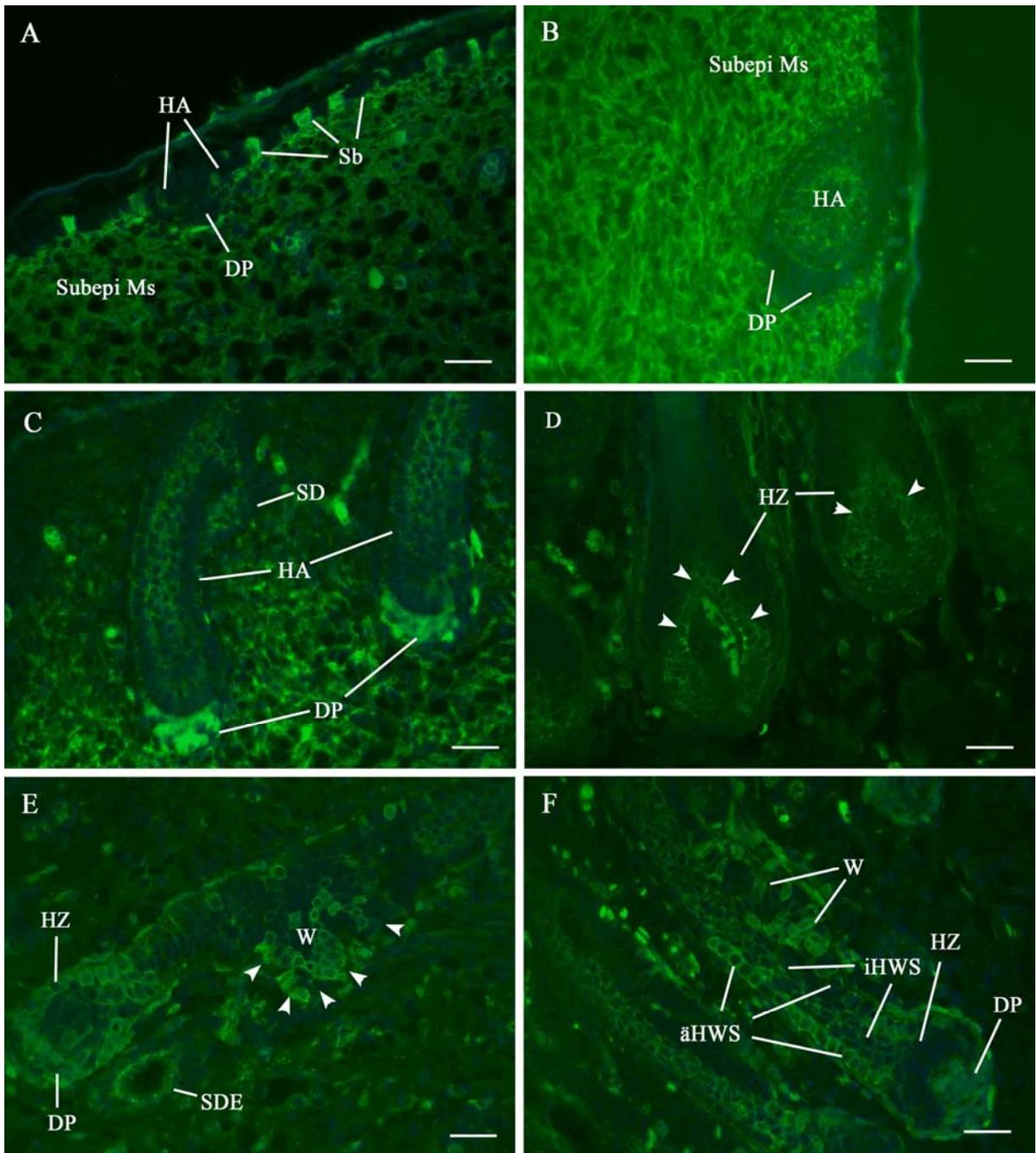
### 3.3.4. Untersuchung der Bindung von *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA)

**Tabelle 24: Übersicht über das Bindungsmuster von SNA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Sb	äHWS	iHWS	SD	TD	DP
8,5 cm	+++					
11,0 cm	+++					
15,7 cm	+++	++	+			+
23,8 cm	++	++	+			+
29,0 cm	-	++	++	+		+
34,0 cm	-	++	++	++		+
37,3 cm	-	+++	++	++	-	+
41,4 cm	-	+	++	+	-	+
49,0 cm	-	+	++	-	-	+
58,0 cm	-	+	++	-	-	+
63,0 cm	-	+	++	-	+	+
64,8 cm	-	+	++	-	-	+
67,8 cm	-	+	+	+	-	+
80,5 cm	-	+	+	+	-	+
94,5 cm	-	+	+	+	+	+
95,0 cm	-	+	+	+	+	+
2 T	-	+	+	+	+	+
7 T	-	+	-	+	+	+
9 T	-	++	-	-	+	+
20 Mo	-	++	-	-		+
54 Mo	-	++	-	-	+	+
60 Mo	-	++	-	-	+	+

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, T: Alter der Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

**Abbildung 48: Bindung von SNA in der Haut von bovinen Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 63,0 cm**



**A: SSL 15,7 cm, Hintergliedmaße**, deutliche Reaktion in einzelnen Zellen des Stratum basale (Sb), leichte Reaktion in der dermalen Präpapille (DP), HA: Haaranlage, subepi Ms: subepitheliales Mesenchym (subepi Ms), SB: 30 µm;

**B: SSL 23,8 cm, Hintergliedmaße**, starke Reaktion im subepithelialen Mesenchym, der Haaranlage (HA), fehlende Reaktion in der dermalen Papille, SB: 30 µm

**C: SSL 23,8 cm, Hintergliedmaße**, starke Reaktion in der dermalen Papille (DP), leichte Reaktion in der Haaranlage (HA), leichte Reaktion in der Schweißdrüsenanlage, SB: 30 µm

**D: SSL 23,8 cm, Scheitel**, deutliche Reaktion im Bereich der Matrixzellen der Haarzwiebel (HZ) (Pfeile), SB: 30 µm

**E: SSL 63,0 cm, Scheitel**, auffallend ist die partielle Reaktion im Haarwulst (W), auch in der Haarzwiebel (HZ) und der dermalen Papille (DP) bindet SNA, SB: 30 µm

**F: SSL 63,0 cm, Hintergliedmaße**, in der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) und im Haarwulst (W) kommt es zu einer Reaktion mit einzelnen Zellen, wobei andere Zellen in denselben Regionen negativ bleiben, die innere Haarwurzelscheide (iHWS) zeigt keine deutliche Reaktion, HZ: Haarzwiebel, DP: dermale Papille, SB: 30 µm.

### 3.4. N-Acetyl-D-Glucosamin bzw. N-Acetyl-Neuraminsäure bindende Lektine

#### 3.4.1. Untersuchung der Bindung von Wheat germ Agglutinin (WGA)

**Tabelle 25: Übersicht über das Bindungsmuster von WGA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd/Sc	Si/Ss	Sb	BM	ähWS	iHWS	SD	TD	DP	DWS	Sr	Et
8,5 cm	+	-	+	+++							++	++
11,0 cm	+	-	++	+++							++	++
15,7 cm	+	-	++	+++	+	++			++	-	++	++
23,8 cm	+	-	++	+++	+	++			+	-	++	+++
29,0 cm	-	+	++	+++	+	++	+		++	+	+	++
34,0 cm	-	++	++	+++	+	++	++		++	+	+	++
37,3 cm	-	++	++	+++	+	++	++	-	++	+	+	++
41,4 cm	+	+	++	+++	+	++	+++	-	++	+	+	+++
49,0 cm	+	+	++	++	+	++	+++	+	++	++	+	++
58,0 cm	+	+	++	+	+	+	+++	+	++	++	+	++
63,0 cm	+	+	++	+	++	++	+++	+	++	++	-	+
64,8 cm	+	+	++	-	++	++	+++	-	+	++	-	+
67,8 cm	+	+	++	-	++	++	+++	+	++	+	-	+
80,5 cm	+	+	++	-	+	+	+++	+	++	+	-	+
94,5 cm	+	+	+	-	++	++	+++	+	++	+	-	+
95,0 cm	+	+	+	-	+	++	+++	+	++	+	-	+
2 T	+	+	++	-	++	++	+++	+	++	+	-	+
7 T	+	+	+	-	+	++	+++	+	+	+	-	-
9 T	+	+	++	-	+	++	+++	+	++	+	-	-
20 Mo	+	+	++	-	+	++	+++	+	++	+	-	-
54 Mo	+	+	++	-	++	++	+++	+	+	+	-	-
60 Mo	+	+	++	-	+	+	+++	+	+	+	-	-

ähWS: äußere Haarwurzelscheide, BM: Basalmembran der epidermalen Anteile, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel der Blutgefäße, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd/Sc: Periderm bzw. Stratum corneum, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, Sr: Stratum reticulare der Dermis, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.4.2. Untersuchung der Bindung von succinyliertem Wheat germ Agglutinin (s-WGA)

**Tabelle 26: Übersicht über das Bindungsmuster von s-WGA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd/Sc	Si/Ss	Sb	BM	äHWS	iHWS	SD	TD	DP	DWS	Sr	Et
8,5 cm	++	-	+	++							++	++
11,0 cm	++	-	++	++							++	++
15,7 cm	+	-	++	+++	+	+			++	-	++	++
23,8 cm	++	-	++	++	+	+			+	-	++	+++
29,0 cm	++	+	++	+++	+	++	+		++	+	++	++
34,0 cm	++	++	++	++	+	++	++		++	+	++	++
37,3 cm	++	++	++	++	+	++	++	-	++	++	+	++
41,4 cm	++	++	++	++	+	++	+++	-	++	++	+	+++
49,0 cm	+	+	++	++	+	++	+++	++	+	++	+	+
58,0 cm	+	+	++	+	+	+	+++	++	+	+	+	+
63,0 cm	++	+	++	+	++	++	+++	++	+	+	-	+
64,8 cm	+++	+	++	-	++	++	++	++	+	+	-	+
67,8 cm	++	+	++	-	++	++	++	+	+	+	-	+
80,5 cm	+++	+	++	-	+	+	+++	++	+	+	-	+
94,5 cm	++	+	+	-	+	+	++	++	+	+	-	+
95,0 cm	++	+	+	-	+	++	+++	+	+	+	-	+
2 T	++	+	++	-	+	+	+++	+	+	+	-	+
7 T	++	+	+	-	+	++	+++	+	+	+	-	-
9 T	++	+	++	-	-	++	+++	++	+	+	-	-
20 Mo	+++	+	++	-	-	++	+++	++	+	+	-	-
54 Mo	++	+	++	-	-	++	+++	+	+	+	-	-
60 Mo	+++	+	++	-	-	+	+++	+	+	+	-	-

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, BM: Basalmembran der epidermalen Anteile, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel der Blutgefäße, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd/Sc: Periderm bzw. Stratum corneum, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, Sr: Stratum reticulare der Dermis, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.5. L-Fukose bindende Lektine

#### 3.5.1. Untersuchung der Bindung von Ulex europaeus Agglutinin I (UEA-I)

L-Fukose kann mit Hilfe von UEA-I im Epithel des Schweißdrüsenausführungsganges von der SSL 29,0 cm bis zu einer SSL von 63,0 cm in Form einer schwachen bis mittleren Fluoreszenzintensität nachgewiesen werden. Ansonsten ist lediglich im Bereich des Haarkanals ab einer SSL von 34,0 cm eine starke Reaktion zu beobachten.

### 3.6. Lektine mit Oligosaccharidbindungsstellen

#### 3.6.1. Untersuchung der Bindung von Maackia amurensis Agglutinin I (MAA-I)

**Tabelle 27: Übersicht über das Bindungsmuster von MAA-I in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	äHWS	iHWS	SD	TD	DWS	DP	Sr	Et
8,5 cm							+	-
11,0 cm							+	-
15,7 cm	-	-			-	+	+	-
23,8 cm	-	-			-	+	+	++
29,0 cm	-	+	+		-	+	+	++
34,0 cm	+	+	++		+	+	+	++
37,3 cm	++	++	++	+	+	+	+	++
41,4 cm	+	++	++	+	+	+	+	++
49,0 cm	+	+	++	++	+	+	+	+
58,0 cm	-	+	+++	++	+	+	+	+
63,0 cm	-	++	+++	++	++	+	++	++
64,8 cm	-	++	+++	+	++	-	+	++
67,8 cm	-	-	+++	++	++	-	+	+
80,5 cm	-	-	+++	++	+	-	+	+
94,5 cm	-	-	++	++	-	-	+	++
95,0 cm	-	-	+++	++	-	-	-	++
2 T	-	-	+++	++	-	-	-	++
7 T	-	-	+++	++	-	-	-	+
9 T	-	-	+++	++	-	-	-	+
20 Mo	-	-	+++	++	-	-	-	+
54 Mo	-	-	+++	++	-	-	-	+
60 Mo	-	-	+++	++	-	-	-	+

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel der Blutgefäße, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd/Sc: Periderm bzw. Stratum corneum, SD: Schweißdrüsenepithel, Sr: Stratum reticulare der Dermis, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.6.2. Untersuchung der Bindung von Phaseolus vulgaris Erythroagglutinin (PHA-E)

**Tabelle 28: Übersicht über das Bindungsmuster von PHA-E in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Sb	äHWS	iHWS	SD	DP	DWS	Sr	Et
8,5 cm	+						++	-
11,0 cm	++						++	-
15,7 cm	++	+	+		+	-	++	-
23,8 cm	++	+	+		+	-	+++	-
29,0 cm	++	+	+	+	++	+	++	+
34,0 cm	++	-	+	+	+	+	++	+
37,3 cm	++	+	+	+	+	++	+	+
41,4 cm	+	-	-	+	+	++	+	+
49,0 cm	+	+	+	+	+	++	++	+
58,0 cm	++	+	+	+	+	+	+	+
63,0 cm	+	++	+	+	++	+	+	+
64,8 cm	++	++	+	+	+	+	-	-
67,8 cm	+	++	+	+	+	+	-	+
80,5 cm	+	+	+	+	+	+	-	+
94,5 cm	+	+	+	+	+	+	-	+
95,0 cm	+	+	+	+	+	+	-	+
2 T	+	+	+	+	+	+	-	+
7 T	+	+	-	+	+	+	-	-
9 T	+	-	-	++	+	+	-	-
20 Mo	+	-	-	+	+	+	-	-
54 Mo	+	-	-	+	+	+	-	-
60 Mo	+	-	-	+	+	+	-	+

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, Sb: Stratum basale, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel der Blutgefäße, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Sr: Stratum reticulare der Dermis, T: Alter der Kälber in Tagen, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

### 3.6.3. Untersuchung der Bindung von Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin (PHA-L)

**Tabelle 29: Übersicht über das Bindungsmuster von PHA-L in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere**

	Pd/Sc	Si/Ss	Sb	äHWS	iHWS	SD	TD	DP	DWS	Sr	Et
8,5 cm	+	+	+							+	+
11,0 cm	++	+	+							+	+
15,7 cm	++	++	+	-	+			++	-	+	+
23,8 cm	+++	++	+	-	++			+	++	++	+
29,0 cm	++	+++	+	+	++	+		++	+	++	+
34,0 cm	+++	+	++	+	++	++		++	+	++	++
37,3 cm	+++	+	+++	+	++	++	++	++	++	+	++
41,4 cm	++	+	++	+	++	+++	++	++	+	+	+++
49,0 cm	++	+	++	+	++	++	+++	++	+	+	++
58,0 cm	+	+	+	+	+	++	++	+++	+	++	+
63,0 cm	-	+	++	+	+	++	++	++	+	++	+
64,8 cm	-	+	++	+	+	+	++	++	+	++	-
67,8 cm	-	+	+	+	++	+	+	++	+	++	-
80,5 cm	-	++	++	+	+	+	+	++	+	+	-
94,5 cm	-	++	+	-	+	+	++	+	++	++	-
95,0 cm	-	+	+	+	+	+	+++	++	++	+	-
2 T	-	+	++	-	+	+	++	++	+	+	-
7 T	-	+	+	+	++	+	+	+	++	+	-
9 T	-	+	++	+	+	+	+	+	++	+	-
20 Mo	-	+	+	+	++	+	++	++	+	+	-
54 Mo	-	+	+	+	++	+	+	+	++	+	-
60 Mo	-	+	++	+	+	+	+	+	+	+	-

äHWS: äußere Haarwurzelscheide, cm: Scheitel-Steiß-Länge in Zentimetern, DP: Dermale Papille, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, Et: Endothel der Blutgefäße, iHWS: innere Haarwurzelscheide, Mo: Alter der adulten Tiere in Monaten, Pd/Sc: Periderm bzw. Stratum corneum, Sb: Stratum basale, SD: Schweißdrüsenepithel, Si/Ss: Stratum intermedium/Stratum spinosum, Sr: Stratum reticulare der Dermis, T: Alter der Kälber in Tagen, TD: Talgdrüsenepithel, -: keine Expression erkennbar, +: Expression schwacher Intensität, ++: Expression mittlerer Intensität, +++: Expression starker Intensität, grau unterlegt: Struktur in diesem Entwicklungsstadium nicht vorhanden

## 4. Ergebnisse der ultrastrukturellen Untersuchungen

### 4.1. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 10,5 cm

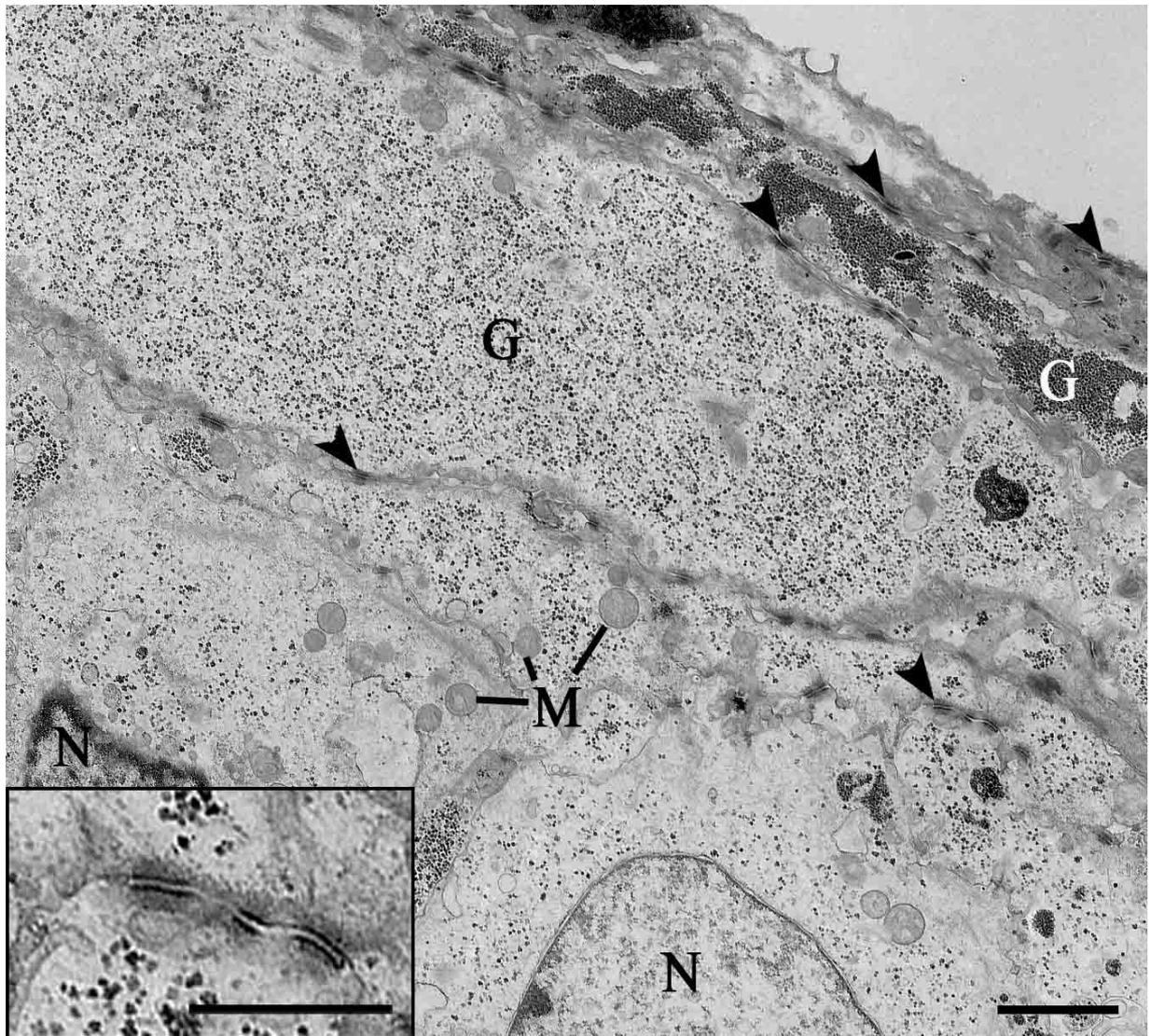
Als charakteristisches Beispiel für die Entwicklung der Haut vor dem Einsetzen der Haarbildung wurden Hautproben eines Fetus mit einer SSL von 10,5 cm untersucht. Die Epidermis besteht hier aus einem isoprismatischen Stratum basale, einem ein- bis zweischichtigen Stratum intermedium und dem Periderm. Die Zellen des Stratum basale haben runden bis leicht ovale Zellkerne, die vorwiegend Euchromatin und zwei bis vier Nukleoli enthalten. Vereinzelt treten auch Zellkerne mit einem größeren Heterochromatinanteil auf. Das Zytoplasma beinhaltet wenig Glykogen. Raus endoplasmatisches Retikulum (rER) und Mitochondrien sind gleichmäßig im Zytoplasma verteilt. Die Zellen des Stratum intermedium enthalten eine deutlich höherer Menge an Glykogen als die des Stratum basale. Zudem nimmt hier der Glykogengehalt von den basalen Zellschichten zu den apikalen hin zu. Die Zellkerne sind, wie auch die Zellen an sich, unregelmäßiger geformt und enthalten wesentlich mehr Heterochromatin als die meisten Zellkerne des Stratum basale. Eine genaue Beurteilung der Zellorganellen wird durch den relativ hohen Glykogengehalt etwas erschwert. Die flachen Zellen des Periderms besitzen schmale heterochromatinreichen Zellkerne. Glykogen lässt sich hier im Zytoplasma, das insgesamt recht homogen und zellorganellenarm erscheint, kaum finden. Die apikale Zelloberfläche zeigt vereinzelt Mikrovilli. Zwischen den Zellen der Epidermis sind zahlreiche Desmosomen zu sehen, besonders zwischen Zellen verschiedener Schichten des Stratum intermedium, die intrazellulär mit feinen Tonofilamenten assoziiert sind. Zwischen den Desmosomen treten vereinzelt leicht vergrößerte interzelluläre Räume auf, in denen sich gelegentlich Glykogen ansammelt. Das Stratum basale zeigt zusätzlich Verbindungen zur Basalmembran in Form von Hemidesmosomen. Im subepidermalen Bindegewebe sind spindelförmige Fibroblasten zu beobachten, die zahlreiche Mitochondrien besitzen. Die extrazelluläre Matrix besteht vorwiegend aus amorpher Substanz und beinhaltet nur wenige kollagene Fasern (Abbildung 49, Abbildung 50).

**Abbildung 49: Epidermis eines bovinen Fetus mit der SSL 10,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Die Epidermis ist durch eine deutliche Zunahme des Glykogengehaltes von den basalen zu den apikalen Zellschichten hin gekennzeichnet. Im Periderm als oberster Zellschicht ist kaum Glykogen feststellbar, wodurch es stark elektronendurchlässig (hell) erscheint. Die verschiedenen Zellschichten sind über Desmosomen miteinander verbunden. Das subepidermale Bindegewebe enthält in diesem frühen Fetalstadium kaum kollagene Fasern. Fb: Fibroblast, Pd: Periderm, Sb: Stratum basale, Si: Stratum intermedium, SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 50: Ausschnitt aus den apikalen Schichten der Epidermis eines bovinen Fetus mit der SSL 10,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Gut erkennbar ist die Zunahme des Glykogengehaltes von einer sehr niedrigen Menge im Stratum basale (ganz unten), über die untere Schicht des zweischichtigen Stratum intermedium mit einem moderaten Gehalt bis zur oberen Zellschicht des Stratum intermedium. Das Periderm als oberste Schicht der Epidermis ist weitgehend frei von Glykogeneinlagerungen. Desmosomale Verbindungen lassen sich zwischen allen Zellschichten beobachten (Pfeilspitzen). Das Inset zeigt deutlich die Haftplatten der Desmosomen und die von ihnen in das Zytoplasma einstrahlenden feine Tonofilamente. Besonders in den stark glykogenhaltigen Zellen ist die Beurteilung der Zellorganellen schwierig. N: Nukleus; M: Mitochondrien; SB (Übersicht): 2  $\mu$ m, SB (Detail): 1  $\mu$ m

#### 4.2. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm

Die Epidermis besteht bei diesem fetalen Entwicklungsstadium aus einem leicht hochprismatisches Stratum basale, einem vier- bis fünfschichtigen Stratum spinosum und einem abgeflachten Periderm. Die Zellen des Stratum basale enthalten runde bis ovale Zellkerne, die zwei bis vier Nukleoli und wenig Heterochromatin enthalten. Im Zytoplasma finden sich geringe Mengen Glykogen und feine Bündel von Tonofilamenten sowie einige zytoplasmatische Vesikel. In Richtung der Basalmembran stehen die Zellen des Stratum basale über Hemidesmosomen mit der Basalmembran in Kontakt. Die Zellen untereinander stehen vereinzelt über Desmosomen in Verbindung, teilweise sind auch Nexus

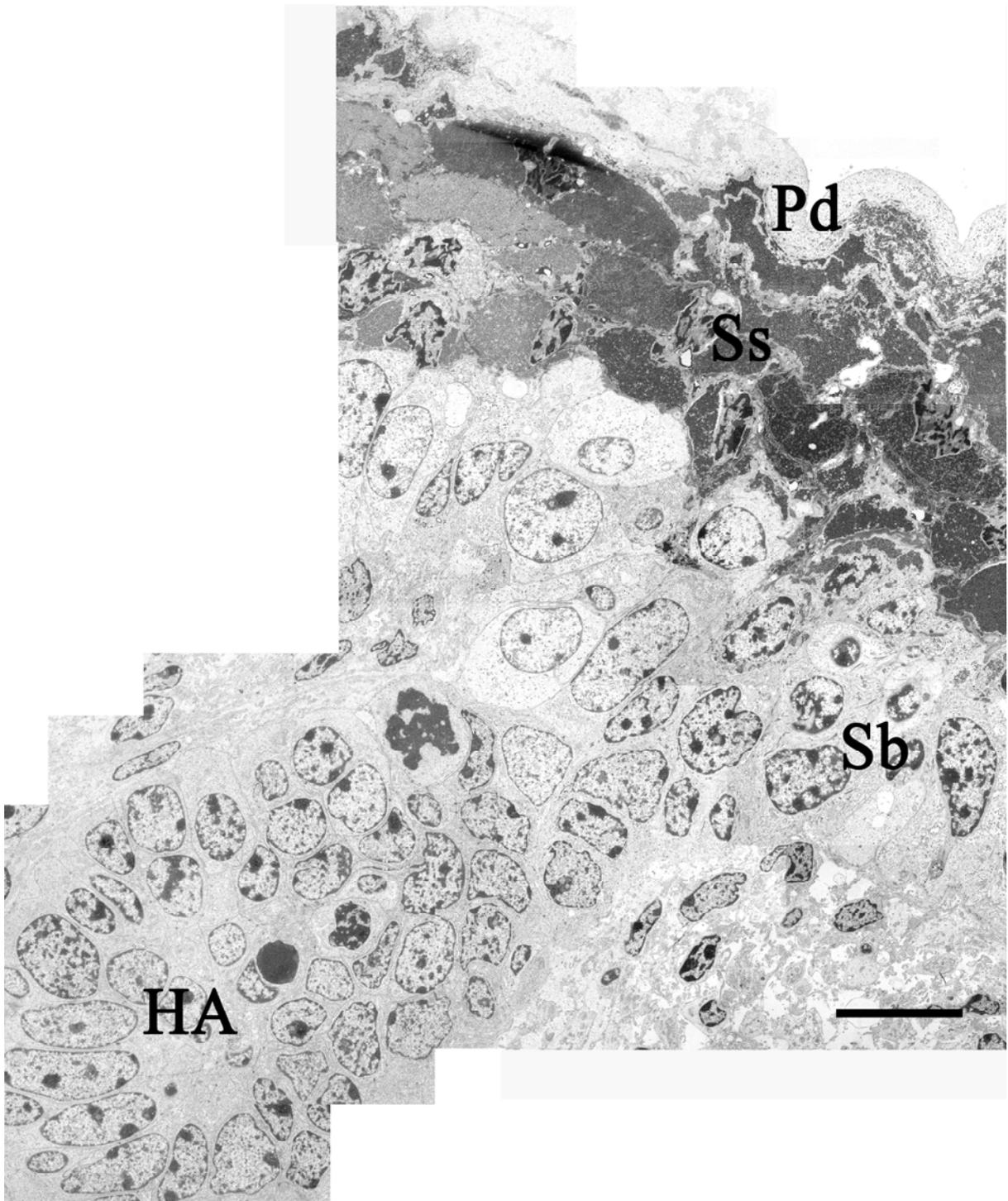
(Gap junctions) zu beobachten. Das Stratum spinosum ist durch seinen auffällig hohen Glykogengehalt gekennzeichnet. Seine Zellkerne zeigen in den apikalen Zellschichten in zunehmendem Maße Zeichen einer Kernpyknose. Sie haben eine unregelmäßige Form und weisen vor allem in den peripheren Bereichen stark verdichtetes Heterochromatin auf. In den basalen Zelllagen des Stratum spinosum, die nur moderate Mengen an Glykogen enthalten, sind sehr deutlich Tonofilamentbündel zu sehen, die vor allem von Desmosomen ausgehend ins Zellinnere ziehen. In den weiter apikal gelegenen Zelllagen sind diese ins Zellinnere ziehenden Strukturen aufgrund der hohen Glykogendichte nicht zu beurteilen. Allerdings fällt auf, dass es hier nahezu generalisiert zu starken Verdichtungen von Tonofilamenten in unmittelbarer Nähe zur Zellmembran kommt. Zahlreiche Desmosomen verbinden die Zellschichten und auch die Zellen derselben Zellschicht des Stratum spinosum miteinander. Das Periderm setzt sich wiederum optisch deutlich vom Stratum spinosum ab, da es im Gegensatz zu diesem kein besonders elektronendichtes Zytoplasma aufweist. Dies hängt mit dem nur spärlich vorhandenen Glykogen zusammen. Auch sind hier keine Tonofilamentbündel feststellbar. Die Zellen haben ebenfalls über zahlreiche Desmosomen zu der apikalen Zellschicht des Stratum spinosum Kontakt. Partiiell können verbreiterte Interzellularräume zwischen diesen Anheftungspunkten beobachtet werden. Dies scheint besonders dann der Fall zu sein, wenn in den Zellen des Stratum spinosum die Verdichtung von Tonofilamenten unmittelbar an der Zellmembran sehr stark ist. Auch zwischen Zellen des Periderms selbst bestehen desmosomale Verbindungen. Dies wird an den Arealen deutlich, an denen sich Zellausläufer dieser flachen Epithelzellen teilweise überlagern. (Abbildung 51, Abbildung 52, Abbildung 53, Abbildung 54, Abbildung 55, Abbildung 56)

Im Bereich des Haarzapfens sind Zellen unterschiedlicher Größe und Form anzutreffen. Während in den inneren Bereichen der Haaranlage meist kleinere, annähernd runde bis ovale Zellen vorkommen, sind in den äußeren Bereichen die Zellen größer und meist hochprimatisch. Vor allem im unteren Anteil des Haarzapfens, welcher der dermalen Präpapille zugewendet ist, sind die Zellen relativ groß und deutlich hochprismatisch. Die Zellkerne dieser Zellen enthalten nur wenig Heterochromatin und lassen zwei bis vier deutlich abgrenzbare Nucleoli erkennen, die meist in der Peripherie des Zellkerns liegen. In den übrigen Bereichen der Haaranlage enthält der Zellkern etwas mehr Heterochromatin. Gemeinsam ist den Zellkernen der Haaranlage eine recht gleichmäßige Form ohne starke Einbuchtungen. In den äußeren Zellreihen der Haaranlage ist teilweise erkennbar welche Zellen durch eine Mitose auseinander hervorgegangen sind (Abbildung 57). Die Zellmembranen sind zwischen den betreffenden zwei Zellen nur undeutlich ausgebildet und die Zellen haben morphologisch ein ähnliches Erscheinungsbild. Das Zytoplasma der Zellen der Haaranlage enthält keine Glykogengranula. Es lässt sich der Golgi-Apparat, das ER sowie Vesikel im Zytoplasma erkennen. Die Zellorganellen zeigen keine besondere Position in der Zelle, nur in den hochprismatischen Zellen beschränkt sich ihre Lokalisation auf die Bereiche ober- und unterhalb des Zellkerns. Innerhalb der Haaranlage lassen sich nur sehr wenige desmosomale Zellverbindungen erkennen. Besonders deutlich sind hier jedoch die Interdigitationen zwischen den Zellen zu sehen. Der interzelluläre Raum ist

---

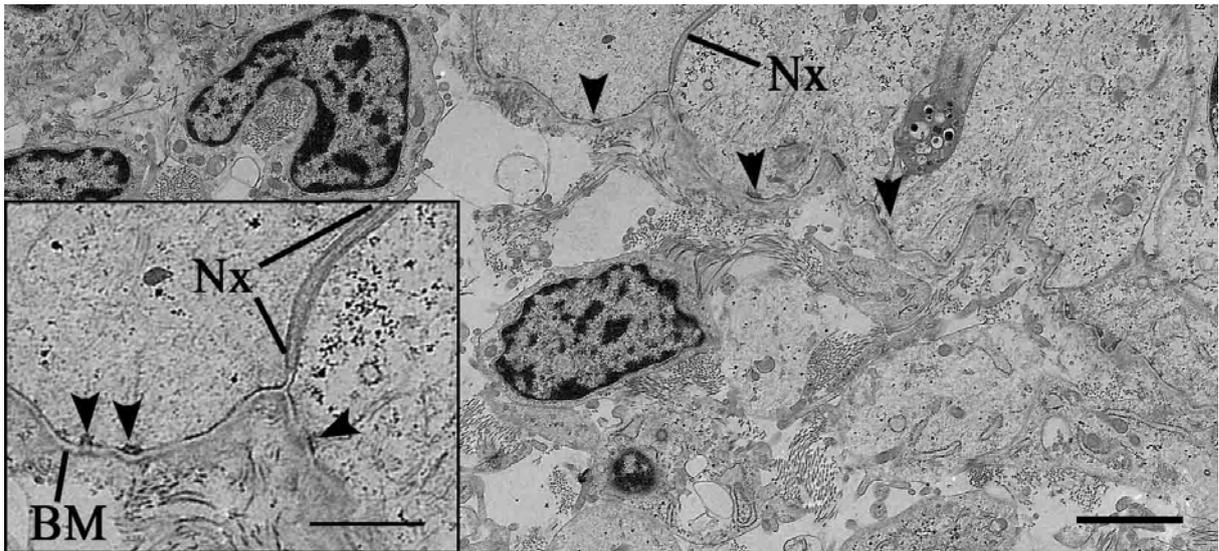
partiell erweitert. Kontakt zur Basalmembran besteht bei der äußeren Zellreihe der Haaranlage nur über wenige Hemidesmosomen. Ihre Anzahl ist im Vergleich zu den Zellen des Stratum basale geringer.

**Abbildung 51: Epidermis und Haarzapfen eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



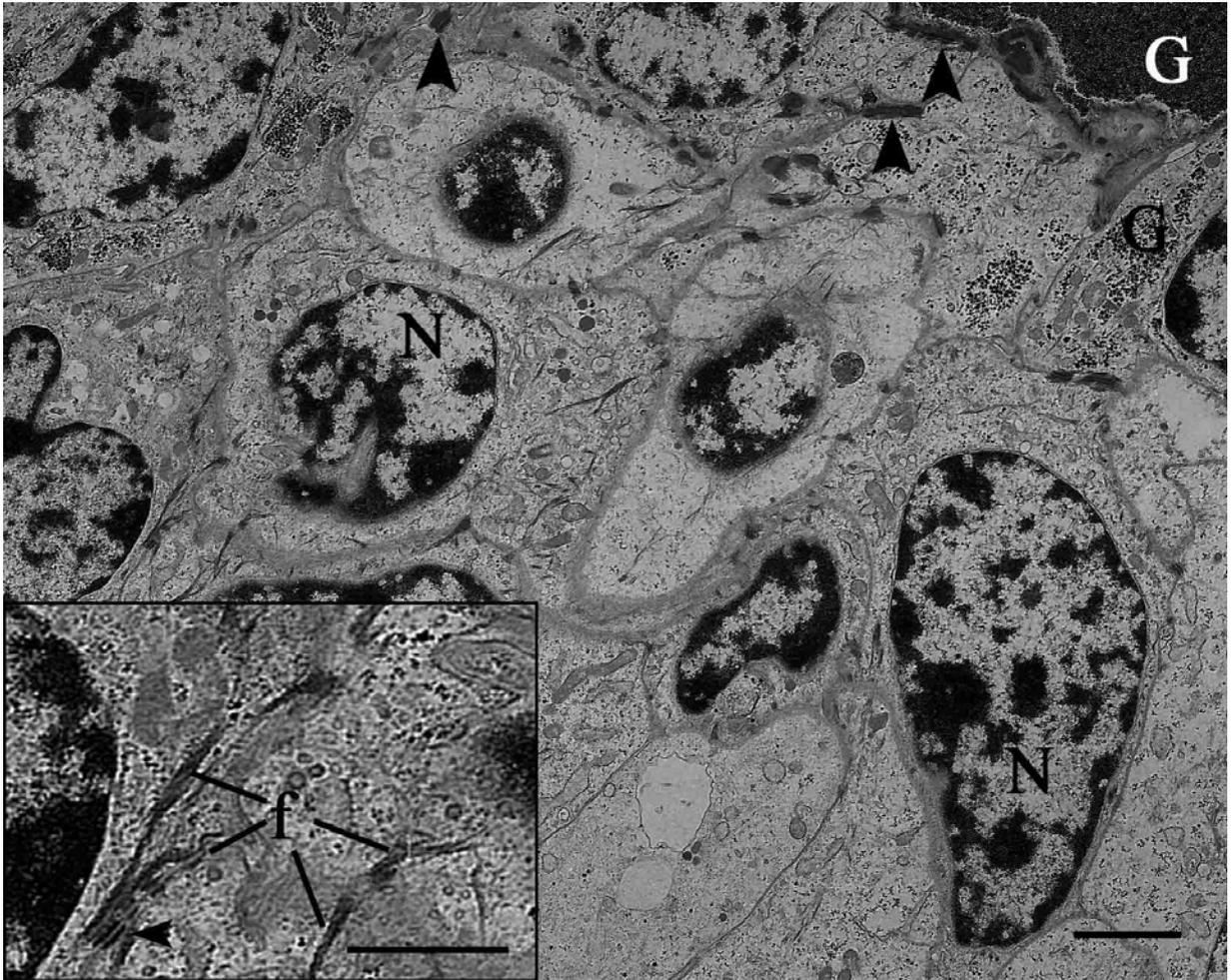
Die Übersicht über die Epidermis zeigt bei diesem Entwicklungsstadium im Vergleich zur Epidermis des Fetus mit einer SSL von 10,5 cm ein mehrschichtiges Stratum spinosum (Ss) mit deutlichen Keratinisierungsanzeichen (Kernpyknose, starke Glykogenansammlungen, Verdichtung von Tonofilamenten in der Zellperipherie) in seinen apikalen Zellschichten bei erhaltenem Periderm (Pd). Das Stratum basale (Sb) lässt sich in diesem suprafollikulären Bereich der Epidermis partiell nur schwer von den basalen Schichten des Stratum spinosum abgrenzen. In der Haaranlage (HA) sind Zellen mit ähnlicher Morphologie wie die Zellen des Stratum basale zu erkennen. SB: 10  $\mu$ m

**Abbildung 52: Ausschnitt aus dem Stratum basale der Epidermis und subepidermalem Bindegewebe eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



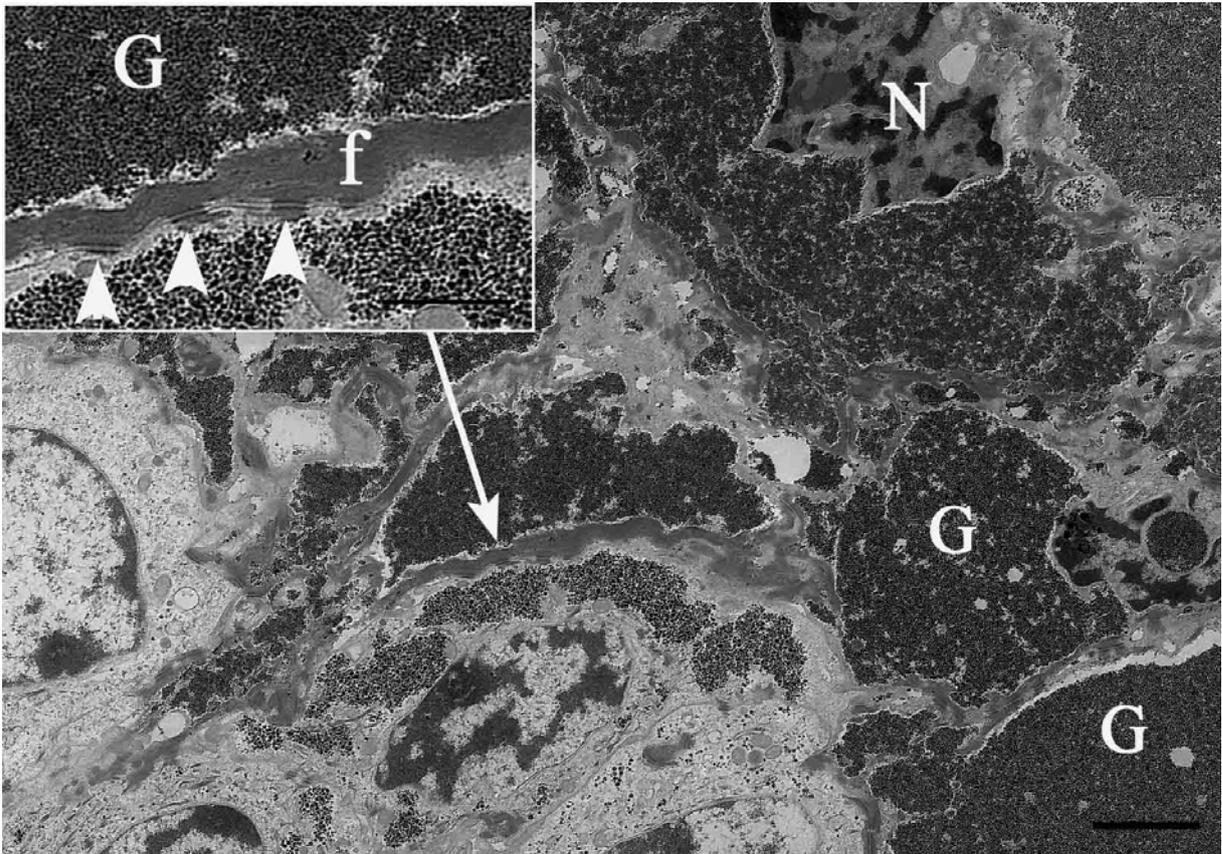
Zwischen den Zellen des Stratum basale sind vereinzelt Gap junctions (Nexus (Nx)) nachweisbar, durch die ein Stoffaustausch zwischen den Zellen über kanalbildende Proteinkomplexe ermöglicht wird. Die Anzahl der Hemidesmosomen (Pfeilspitzen) als Verbindungen zur Basalmembran (BM) ist im Vergleich zu denen des Fetus mit der SSL 10,5 cm deutlich erhöht. SB (Übersicht): 2  $\mu\text{m}$ , SB (Detail): 1  $\mu\text{m}$

**Abbildung 53: Ausschnitt aus dem Übergang zwischen Stratum basale und Stratum spinosum der Epidermis im Bereich einer Haaranlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



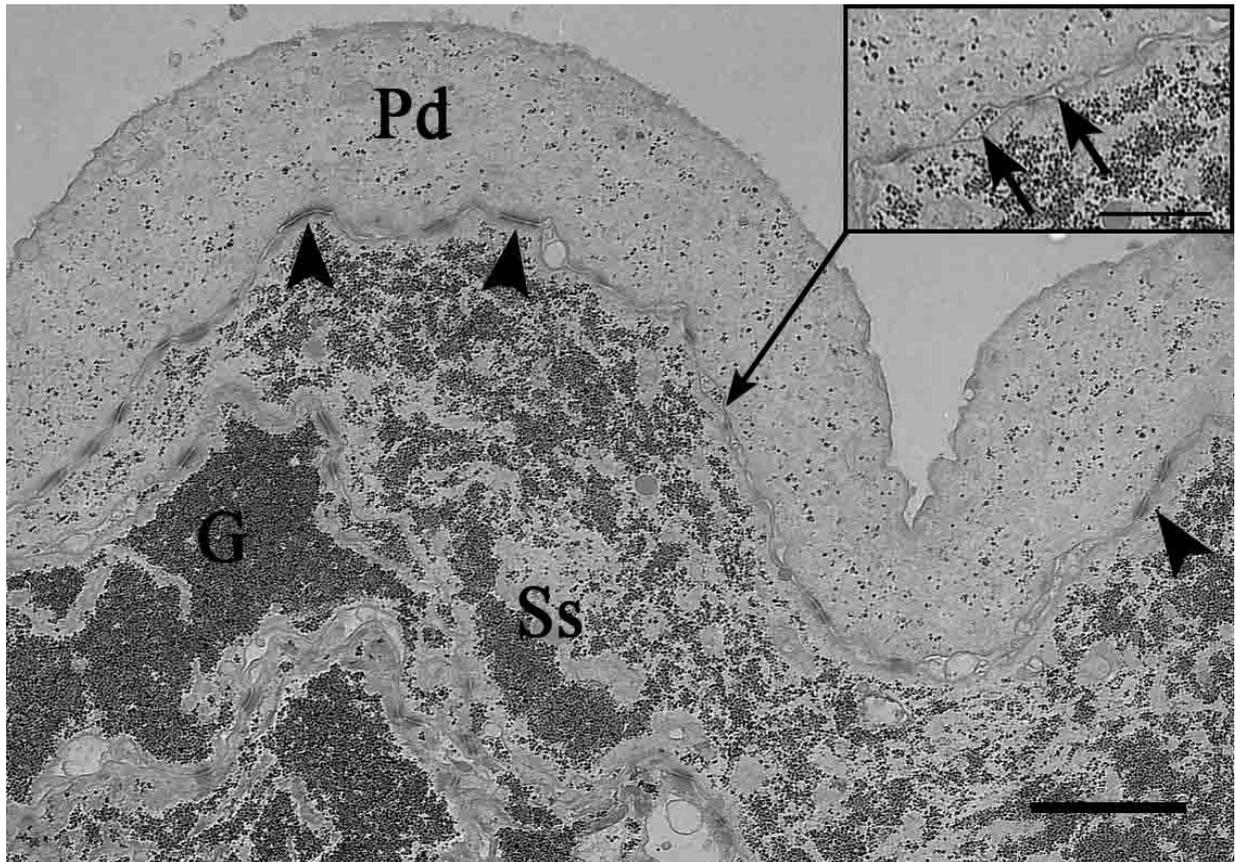
Am Übergang zwischen Stratum basale und Stratum spinosum oberhalb eines Haarzapfens fallen zahlreiche Bündel von Tonofilamenten (f) auf, die von desmosomalen Haftplatten (Pfeilspitze Detail) ausgehend ins Innere der Zellen ziehen. Im Bereich der apikalen Zellschichten dieses Bereiches ordnen sich die mit den Desmosomen (Pfeilspitzen Übersicht) assoziierten Tonofilamente parallel zu den Zellgrenzen an. G: Glykogen, N: Nukleus, SB (Übersicht): 2  $\mu$ m, SB (Detail): 1  $\mu$ m

**Abbildung 54: Ausschnitt aus dem Stratum spinosum der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



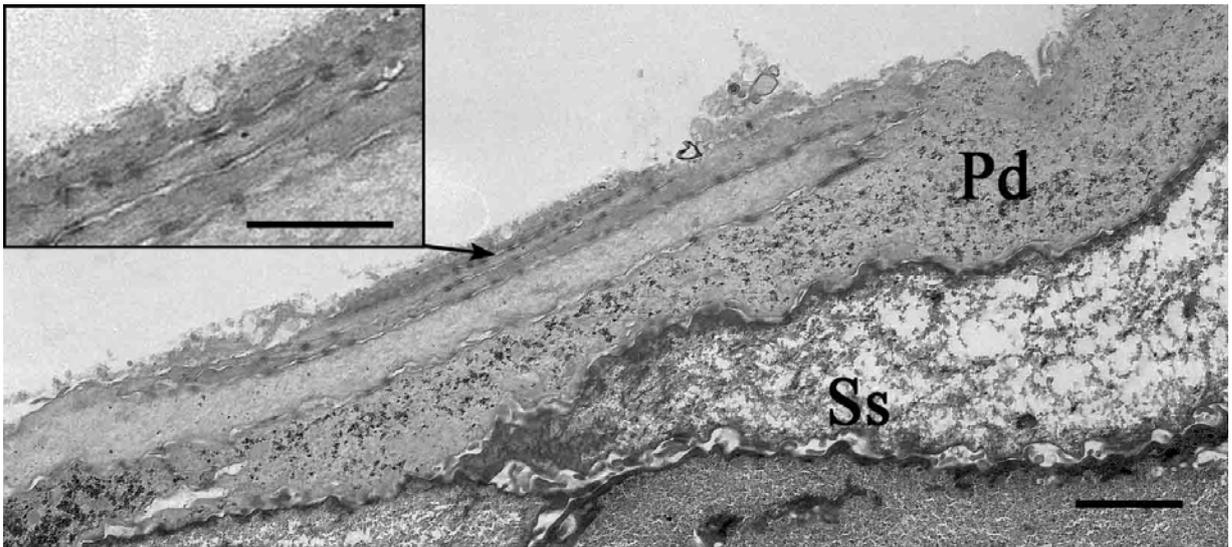
Die Zellen des Stratum spinosum zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an Glykogen (G) aus. Die Zellkerne (N) weisen Anzeichen einer Kernpyknose auf. Sie zeigen einen erhöhten Heterochromatingehalt und haben ihre gleichmäßige ovale Form verloren. Euchromatin ist nicht mehr zu beobachten. Die desmosomale Verbindungen zwischen den Zellen des Stratum spinosum sind mit verdichteten Tonofilamentbündeln (f), die parallel zur Zellmembran verlaufen, assoziiert. SB (Übersicht): 2  $\mu\text{m}$ , SB (Detail): 1  $\mu\text{m}$

**Abbildung 55: Ausschnitt aus den apikalen Zellschichten des Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



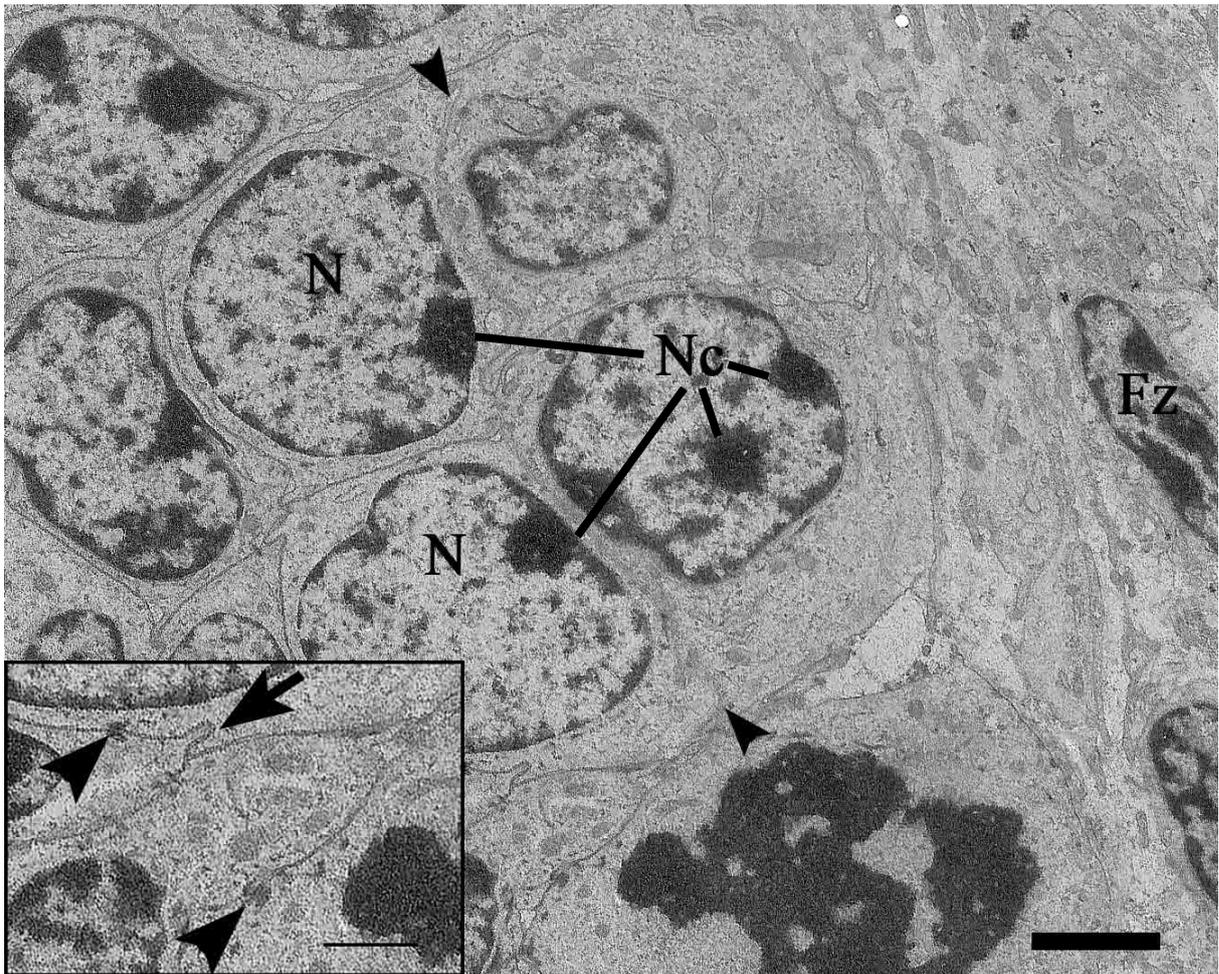
Während Glykogen (G) im Periderm (Pd) nur in geringer Menge vorhanden ist, weisen die Zellen des Stratum spinosum (Ss) große Aggregate von Glykogengranula auf. Die Zellschichten besitzen zahlreiche desmosomale Verbindungen (Pfeilspitzen Übersicht), zwischen denen der interzelluläre Raum meist erweitert ist (Pfeile Detail). Im Periderm finden sich keine prominenten Filamentbündel und auch die Zellen des Stratum spinosum, die mit dem Periderm assoziiert sind lassen nur wenige Filamente im Bereich der Desmosomen erkennen. SB (Übersicht): 2  $\mu\text{m}$ , SB (Detail): 1  $\mu\text{m}$

**Abbildung 56: Ausschnitt aus den apikalen Zelllagen des Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Desmosomen zwischen den Zellmembranen innerhalb des Periderms (Pd) weisen partiell auf eine Mehrschichtigkeit hin, bzw. auf ein Überlappen verschiedener Zellen des Periderms. Ss: Stratum spinosum, SB (Übersicht): 2µm, SB (Inset): 1 µm

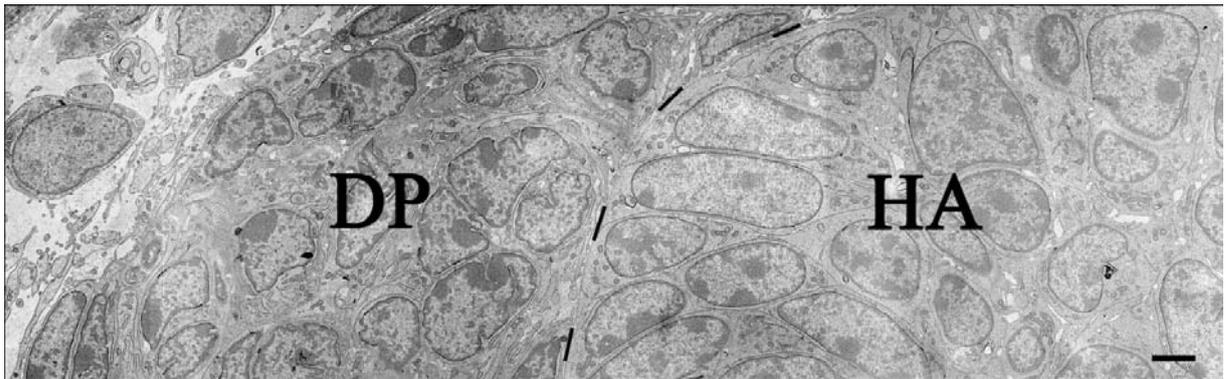
**Abbildung 57: Ausschnitt aus den äußeren Zellreihen eines Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



An den äußeren Zellreihen des Haarzapfens kann nachvollzogen werden, welche Zellen durch mitotische Teilung hervorgegangen sind. Die Pfeilspitzen markieren die Teilungsebene. Die Zellkerne (N) dieser Zellen enthalten ein bis drei Nucleoli (Nc), wenig Heterochromatin und haben eine gleichmäßige runde bis ovale Form. An den Zellgrenzen lassen sich vereinzelt Desmosomen (Pfeilspitzen Detail) und Interdigitationen (Pfeil Detail) erkennen, Fz: Fibrozyt, SB (Übersicht): 2  $\mu\text{m}$ , SB (Detail): 1  $\mu\text{m}$

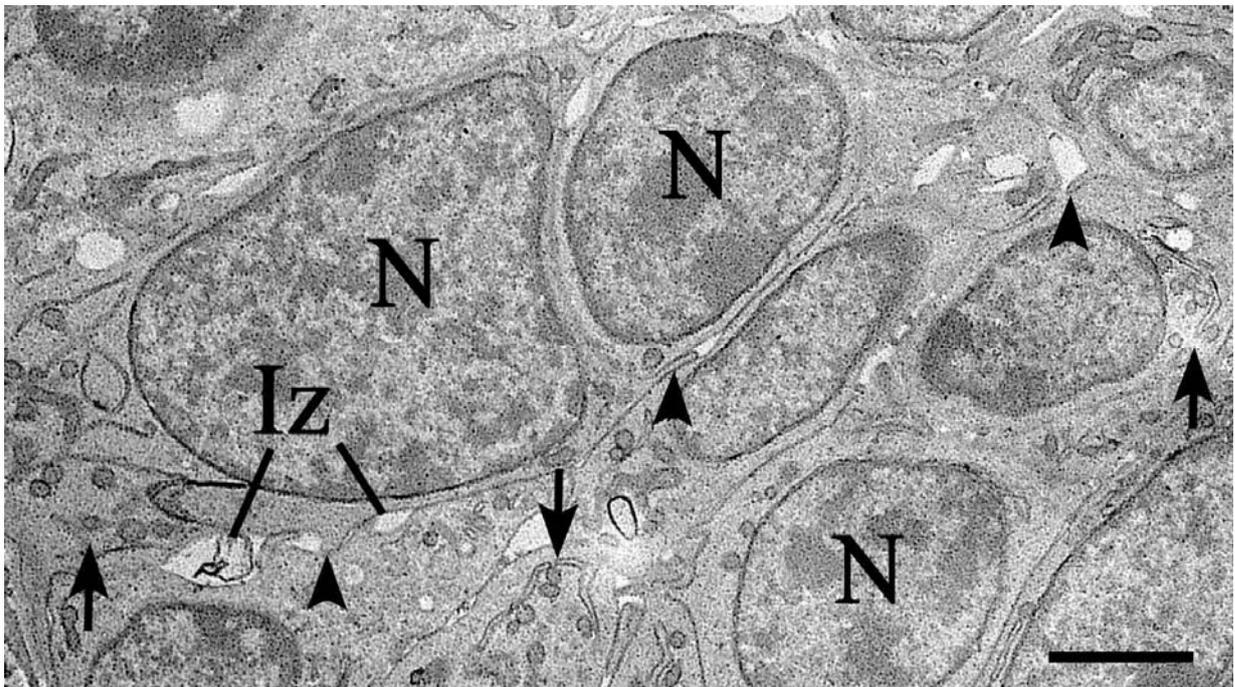
Die dermale Präpapille ist ein sehr zellreicher Bereich. Die Zellen sind polymorph und besitzen einen Zellkern mit ein bis zwei Einziehungen, zwei bis vier Nucleoli und einem größeren Anteil an Heterochromatin als die Zellen der Haaranlage. Golgi-Apparat und ER sind meist gut ausgebildet. Auch in diesem Gewebeanteil findet man Interdigitationen, die die Oberfläche der Zellen vergrößern (Abbildung 58, Abbildung 59, Abbildung 60).

**Abbildung 58: Übersicht über eine dermale Präpapille mit zugehörigem Haarzapfen eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel)**



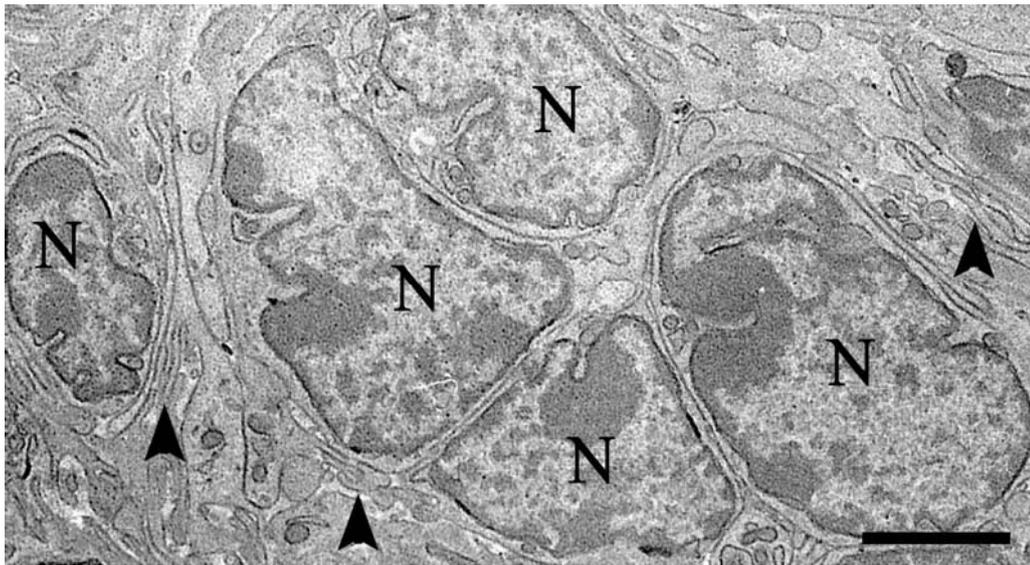
Die Abbildung zeigt den unteren Anteil einer Haaranlage (HA) im Stadium des Haarzapfens und die zugehörige dermale Präpapille (DP). Es ist gut zu erkennen, dass die Zellkerne des Haarzapfens eine gleichmäßige runde bis ovale Form aufweisen und wenig Heterochromatin besitzen, während die Zellen der dermalen Präpapille polymorphe Zellkerne zeigen, die partiell tiefe Einbuchtungen aufweisen. Die dermale Präpapille setzt sich durch ihre hohe Zelldichte deutlich vom sie umgebenden lockeren Bindegewebe ab. Die gestrichelte Hilfslinie zeigt die Grenze zwischen Haaranlage und dermalen Präpapille auf. SB: 2  $\mu\text{m}$ ,

**Abbildung 59: Ausschnitt aus dem unteren Anteil eines Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel)**



Gut erkennbar ist die regelmäßige Kontur der Zellkerne (N). Die Pfeile markieren das raue Endoplasmatische Retikulum und zytoplasmatische Vesikel. In diesem Bereich des Haarzapfens lassen sich kaum Desmosomen finden, wohl aber zahlreiche Interdigitationen (Pfeilspitzen) und partiell verbreiterte Interzellularspalten (Iz). SB: 2  $\mu\text{m}$

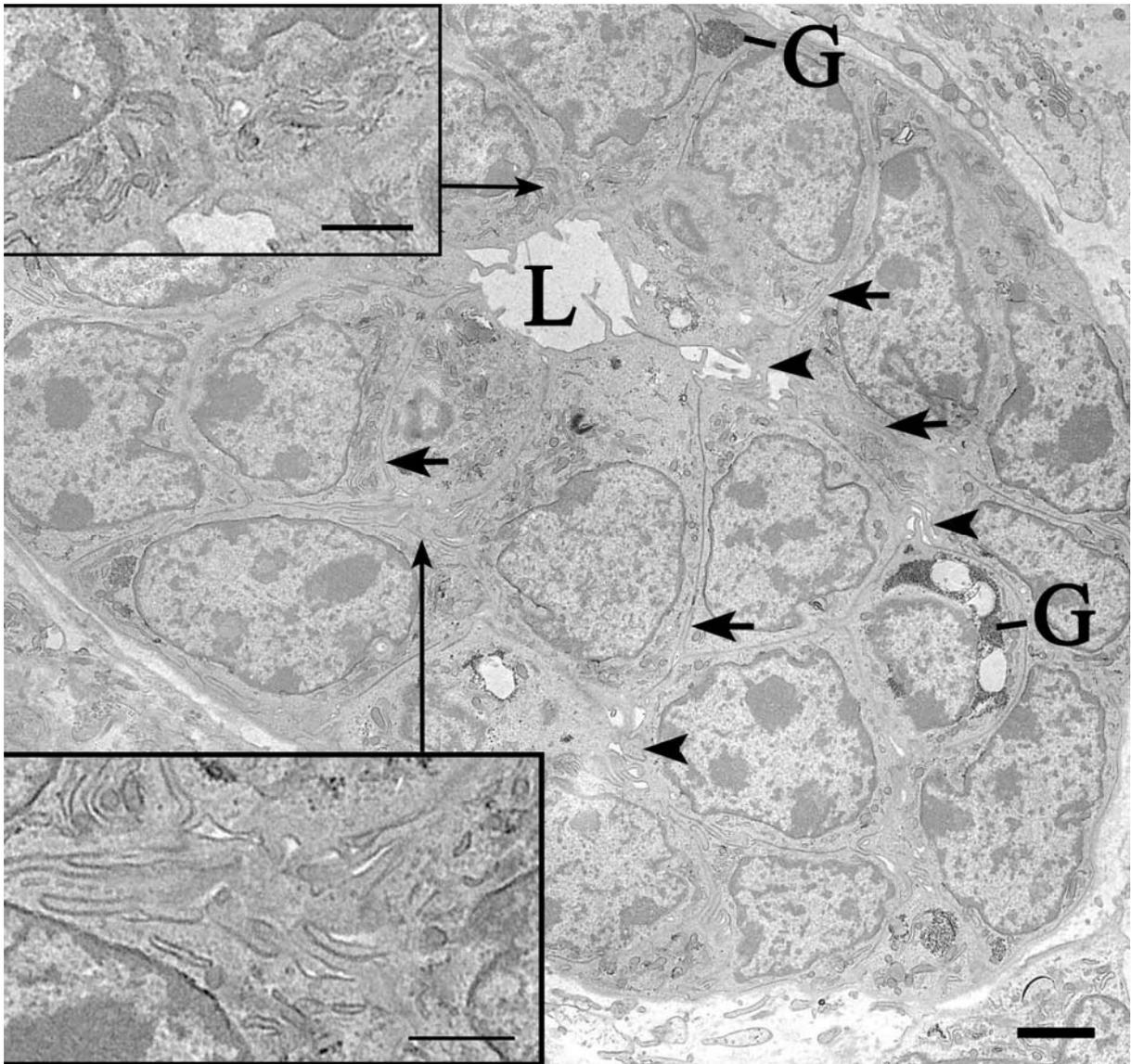
**Abbildung 60: Ausschnitt aus der dermalen Präpapille eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel)**



Die Zellkerne (N) sind in diesem Gewebeanteil polymorph geformt und weisen meist ein bis zwei tiefe Einbuchtungen auf, die häufig mit einem Nukleolus assoziiert sind. Die Kern-Plasma-Relation und die Zelldichte sind sehr hoch. Es sind starke Interdigitationen der Zellmembranen erkennbar. SB: 2  $\mu$ m

Die nun deutlich erkennbare Schweißdrüsenanlage ist durch Zellen mit Zellkernen charakterisiert, die wesentlich stärkere Unterschiede in ihrer Form als die der Haaranlage aufweisen. Auch hier sind zwei bis vier Nukleoli pro Zellkern erkennbar. Wie in der Haaranlage haben die Zellen zahlreiche Interdigitationen ausgebildet, zwischen denen der Interzellularraum partiell erweitert ist. Eine relativ große Erweiterung im Zentrum der Schweißdrüsenanlage lässt auf eine beginnende Lumenbildung schließen. Die Zellen, die direkt an diese Erweiterung des interzellulären Raumes angrenzen, lassen eine Ausrichtung des Golgi-Apparates, des ER und von Vesikeln in Richtung dieses Lumens erkennen. Teilweise ist das rER sehr stark ausgeprägt (Abbildung 61).

**Abbildung 61: Übersicht über die Schweißdrüsenanlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel)**



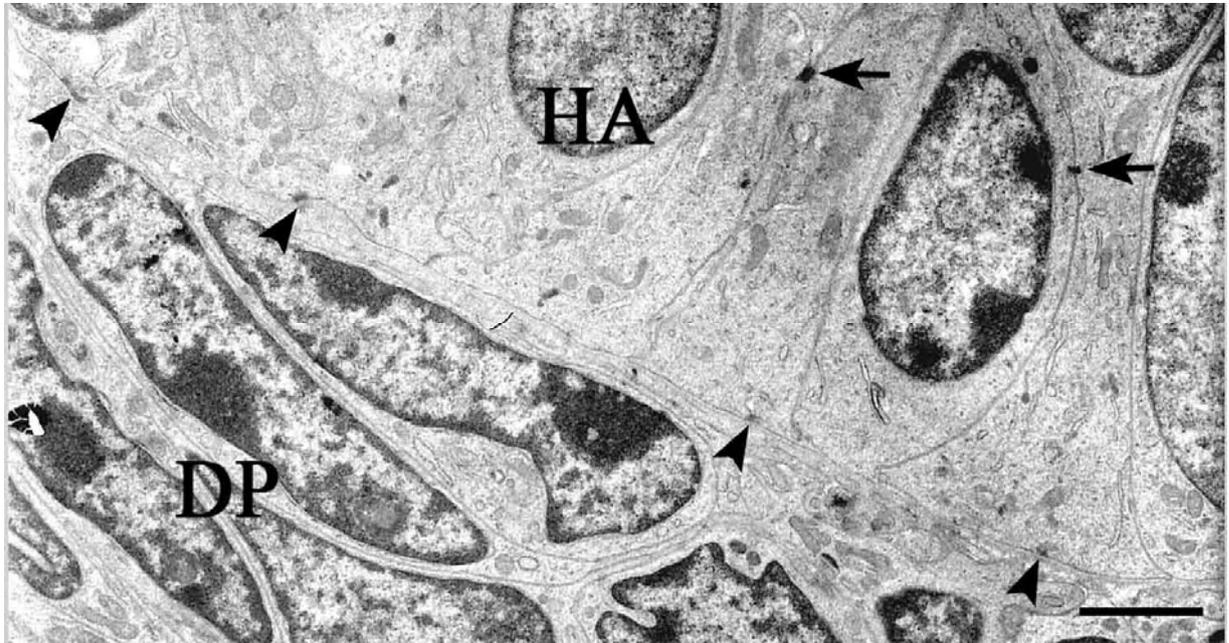
Die Schweißdrüsenanlage ist durch Zellen polymorpher Gestalt und ebensolchen Zellkernen gekennzeichnet. Golgi-Apparat und Raues Endoplasmatisches Retikulum sind bei den zentral gelegenen Zellen in Richtung Lumen (L) ausgerichtet (oberes Detail). Vereinzelt sind Glykogenansammlungen (G) zu sehen. Es sind zahlreiche Interdigitationen der Zellmembranen feststellbar (unteres Detail und Pfeilspitzen Übersicht) zwischen denen der Interzellularspalt oft erweitert ist. Das Lumen kann stellen ebenfalls eine solche Erweiterung dar. Pfeile markieren regelmäßig auftretende Gap junctions zwischen den Zellen. SB (Übersicht): 2µm, SB (Details): 1 µm

#### **4.3. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm**

Die Epidermis des Fetus mit einer SSL von 31,5 cm lässt im Vergleich zur Haut des Fetus mit der SSL 25,5 cm keine nennenswerten ultrastrukturellen Veränderungen erkennen. Die Haaranlage enthält nun mehr desmosomale Zellverbindungen und besonders die an die dermale Präpapille angrenzenden Zellen lassen in ihrem Zytoplasma ein stärker ausgeprägtes Raues Endoplasmatisches Retikulum und mehr Vesikel erkennen. Auch die Anzahl der Hemidesmosomen, die eine Verbindung dieser Zellen zur Basalmembran herstellen ist erhöht. Im Bereich der dermalen Präpapille ist zu erkennen, dass die Zellen sich in diesem Entwicklungsstadium relativ flach dem unteren Ende der Haaranlage anlegen. Auch die Zellkerne haben eine flache, langgezogene Form und besitzen meist zwei Nukleoli.

(Abbildung 62)

**Abbildung 62: Ausschnitt aus dem Bereich der dermalen Präpapille und des zugehörigen Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf)**



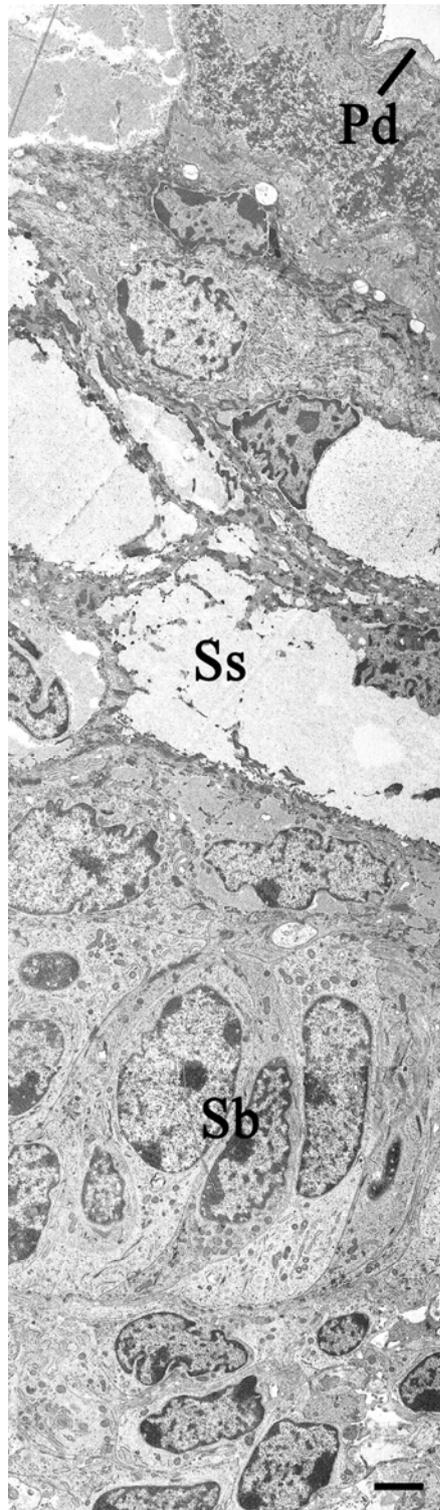
Bei diesem Entwicklungsstadium ist als Veränderung gegenüber dem Fetus mit der SSL 25,5 cm das Auftreten von Desmosomen zwischen den hochprismatischen Zellen im unteren Bereich des Haarzapfens (HA) (Pfeile), sowie das Auftreten von Hemidesmosomen zwischen diesen Zellen und der Basalmembran zu nennen (Pfeilspitzen). DP: Dermale Präpapille, SB: 2 µm

#### 4.4. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm

Die Epidermis hat sich bei dem Entwicklungsstadium mit der SSL 44,0 cm im Vergleich zur SSL 25,5 cm deutlich weiterentwickelt. Das Stratum basale ist hochprismatisch und besitzt dementsprechend längsovale Zellkerne mit zwei bis vier Nukleoli und einem unterschiedlichen Gehalt an Heterochromatin. Partiiell zeigen die Zellkerne leichte Einbuchtungen der Karyotheka. Im Zytoplasma sind die Zellorganellen nun, ähnlich wie bei den an die dermale Präpapille angrenzenden Zellen der Haaranlage der SSL 31,5 cm, vorwiegend basal und apikal des Zellkerns angesiedelt. Es handelt sich hierbei vorwiegend um das rER, zytoplasmatische Vesikel und relativ kleine, ovale Mitochondrien. Auffallend ist bei diesem Entwicklungsstadium, dass die basale Zellmembran geschlängelt verläuft und über zahlreiche Hemidesmosomen mit der sich ihr anlegenden Basalmembran verbunden ist. Desmosomen verbinden die Zellen untereinander und mit den sich apikal anschließenden Zellen des Stratum spinosum. In der apikalen Hälfte der Zellmembranen des Stratum spinosum sind vereinzelt Interdigitationen zu beobachten. Die Zellen des Stratum spinosum stellen sich nun recht heterogen dar. Die basale Zellschicht des Stratum spinosum enthält Zellen mit polymorphen, eingebuchteten Zellkernen, die ein bis zwei Nucleoli enthalten. Die Elektronendichte ihres Zytoplasmas entspricht in etwa der des Stratum basale. Auch hier sind zytoplasmatische Vesikel, Raues Endoplasmatisches Retikulum und kleine Mitochondrien zu erkennen. Der Glykogengehalt ist etwas höher, als im Stratum

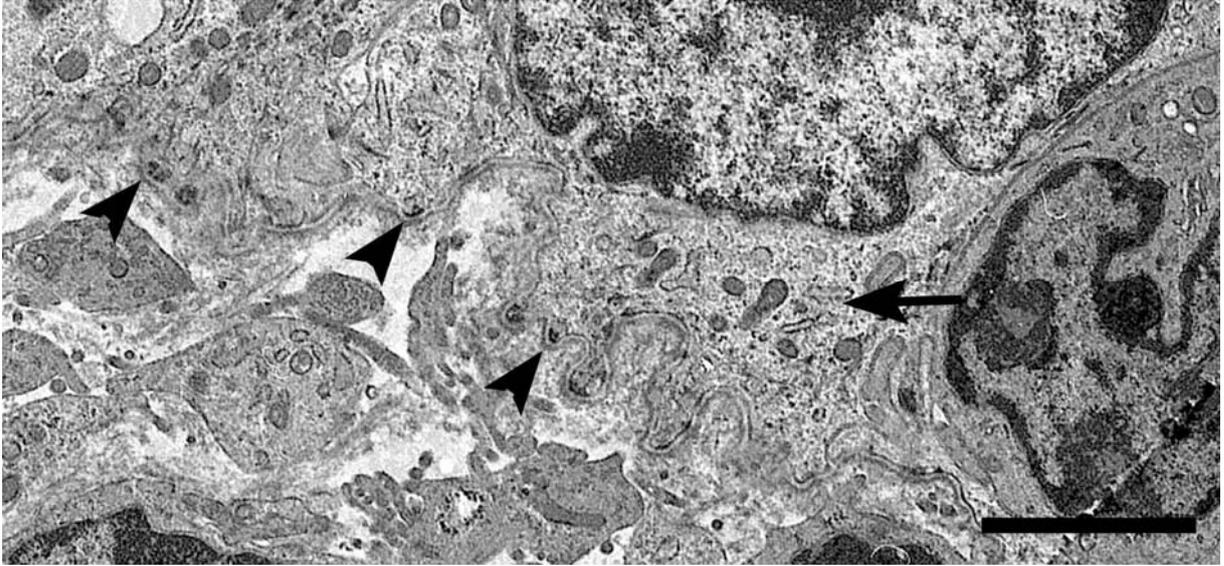
basale. Partuell sind große Mengen an Filamenten zu beobachten, die dem Zytoplasma, abgesehen von den genannten Zellorganellen, ein relativ homogenes Aussehen verleihen. Auch in diesem epidermalen Anteil kommen viele Desmosomen und Interdigitationen vor. Im Gegensatz zu den Interzellularräumen des Stratum basale, sind diese besonders zwischen den Interdigitationen deutlich verbreitert. Im mittleren Anteil des Stratum spinosum erscheint das Zytoplasma der Zellen regelrecht „leer“. Auch hier haben die Zellkerne eine polymorphe Form mit zahlreichen kleinen Einbuchtungen. Häufig erscheinen sie an den Rand der Zelle gedrängt und ihr Gehalt an Heterochromatin, welches hier meist eine hohe Elektronendichte besitzt, ist erhöht. Desmosomen kommen ebenfalls zahlreicher vor und die mit den Haftplatten assoziierten Tonofilamente nehmen an Dichte zu. Vereinzelt liegen elektronendichte Keratohyalin granula im Zytoplasma, das ansonsten nur vereinzelt Anteile von rER und feine Filamente erkennen lässt. Die apikalen Schichten des Stratum spinosum zeigen einen hohen Glykogengehalt, sowie partiell viele freie Ribosomen und Keratohyalin granula. Sie stellen somit den elektronendichtesten Teil des Stratum spinosum dar. Auch hier sind zahlreiche, mit verdichteten Tonofilamenten in Zusammenhang stehende, Desmosomen zu erkennen. Die Interzellularräume sind oft zwischen den verschiedenen Zelllagen im desmosomenfreien Bereich stark erweitert. Weiterhin findet man ein Periderm, was gegenüber dem der SSL 25,5 cm (ca. 2-3  $\mu\text{m}$ ) wesentlich flacher erscheint (ca. 1  $\mu\text{m}$ ). Es setzt sich durch seine geringe Elektronendichte deutlich gegenüber dem Stratum spinosum ab (Abbildung 63, Abbildung 64, Abbildung 65, Abbildung 66).

**Abbildung 63: Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf)**



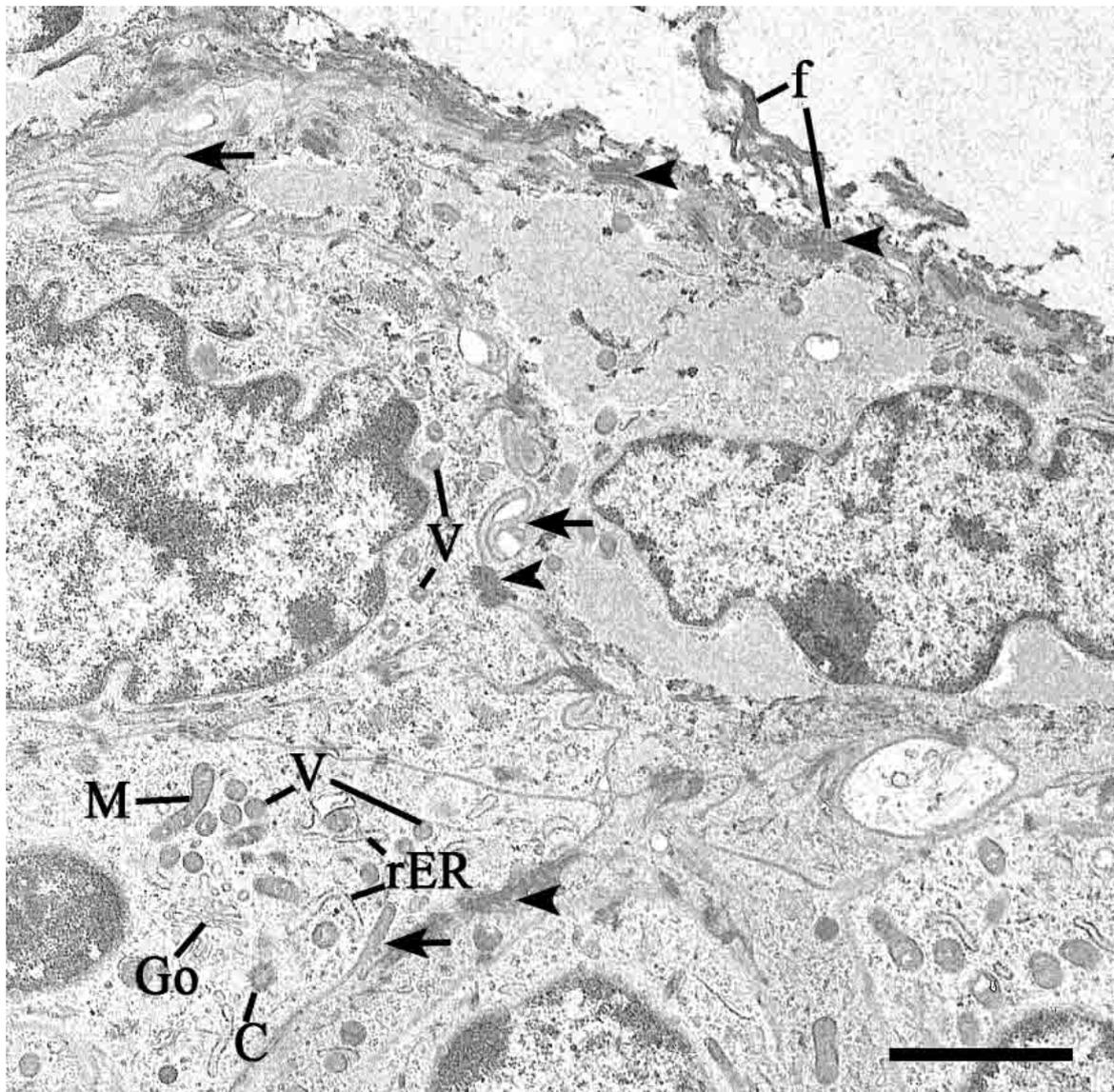
Dieser Überblick über die Epidermis zeigt ein hochprismatisches Stratum basale (Sb), ein Stratum spinosum (Ss) dessen polymorphe Zellen sich zum Teil recht elektronendicht darstellen, zum Teil aber auch ein regelrecht „leer“ erscheinendes Zytoplasma aufweisen und ein Periderm (Pd), das aus einer Schicht flacher und wenig opaker Zellen besteht. Das subepitheliale Bindegewebe erscheint zell dicht und lässt nun zahlreiche kollagene Fasern in der extrazellulären Matrix erkennen. SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 64: Ausschnitt aus dem Stratum basale der Epidermis und subepidermalem Bindegewebe eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf)**



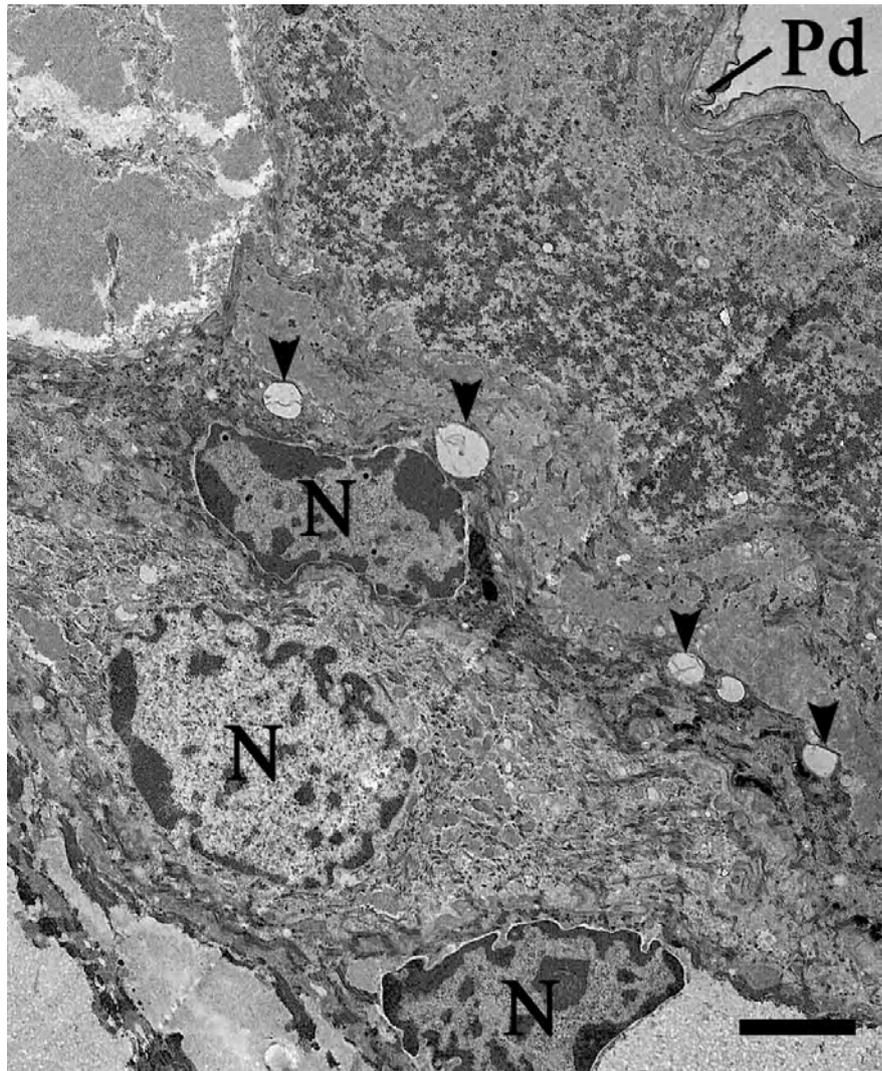
Das Stratum basale zeigt in diesem Entwicklungsstadium tendenziell eine Verlagerung von Zellorganellen wie dem Rauen Endoplasmatischen Retikulum und zytoplasmatischen Vesikel nach basal (Pfeil) und apikal (Abbildung 65). Die basale Zellmembran zeigt nun starke Einbuchtungen bzw. Vorwölbungen wodurch auch die Basalmembran, die über zahlreiche Halbdesmosen (Pfeilspitzen) mit der Zellmembran in Verbindung steht, einen girlandenförmigen Verlauf annimmt. SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 65: Ausschnitt aus dem Stratum basale und spinosum der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf)**



Die drei unteren Zellanschnitte im Bild gehören zum Stratum basale. In den apikalen Zytoplasmaanteilen der Zellschicht lassen sich sehr gut die verschiedenen Zellorganellen, wie raues Endoplasmatisches Retikulum (rER), Mitochondrien (M), der Golgi-Apparat (Go), zytoplasmatische Vesikel (V) und ein Centriol (C) differenzieren. Die Zellen sind über Desmosomen miteinander verbunden (Pfeilspitze) und auch vereinzelte Interdigitationen (Pfeil) sind zu beobachten. Im Stratum spinosum kommen unterschiedlich aussehende Zellen vor. Ein Teil der Zellen zeigt eine deutliche Ausbildung aller Zellorganellen (Mitte links). Daneben kommen Zellen mit zahlreichen Tonofilamenten im Zytoplasma (Mitte rechts), und zum Teil auch Zellen mit „leer“ erscheinendem Zytoplasma (oben rechts) vor. Auch hier sind Desmosomen (Pfeilspitzen) und Interdigitationen (Pfeile) zwischen den Zellen zu beobachten. SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 66: Ausschnitt aus dem Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf)**

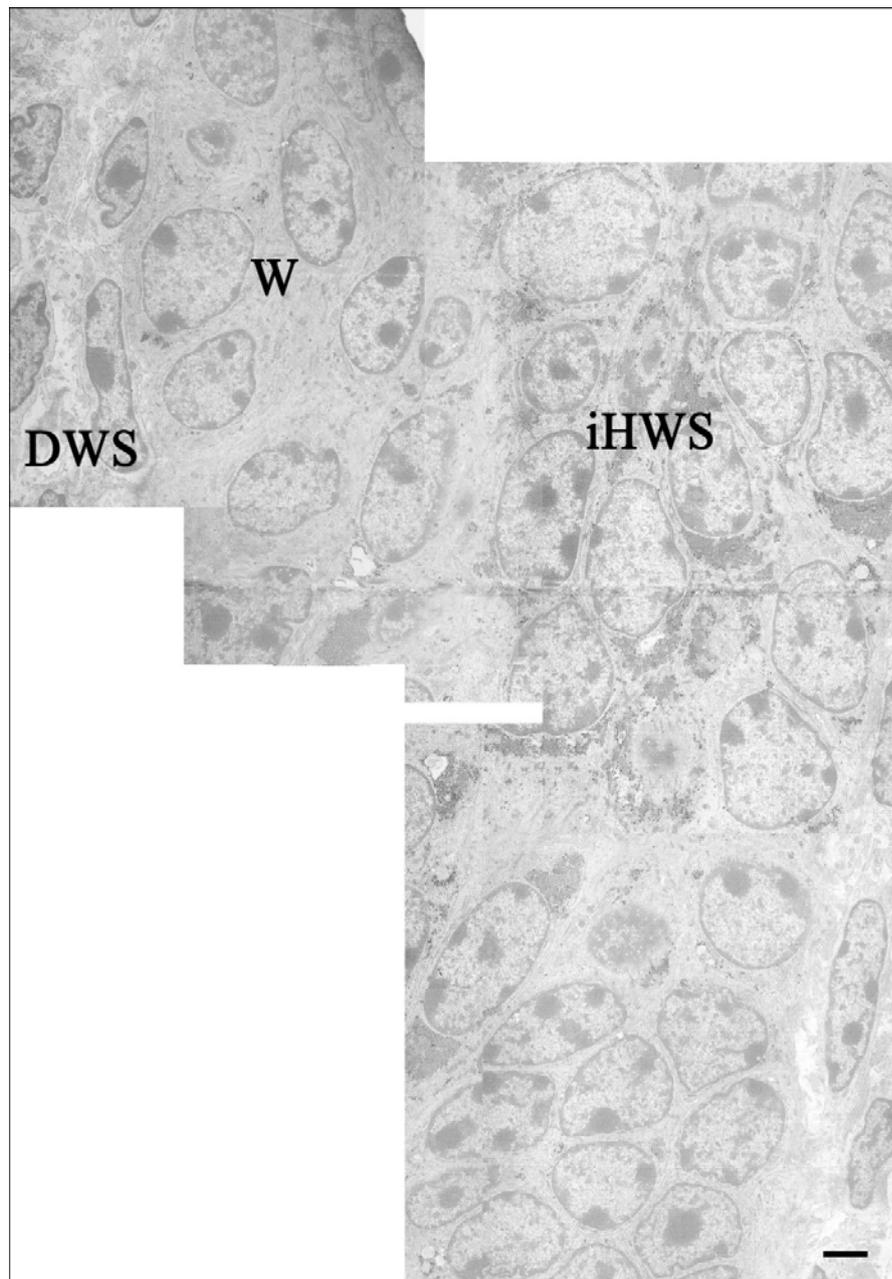


Die Zellen des Stratum spinosum erscheinen polymorph. Meist zeigen die Zellkerne (N) Anzeichen einer Pyknose (viel Heterochromatin, unregelmäßige Form mit zahlreichen Einbuchtungen). Sonstige ultrastrukturelle Beschreibungen des Stratum spinosum sind bei Abbildung 65 zu finden. Es fallen zwischen den apikalen Zellschichten große Interzellularspalten zwischen den desmosomalen Zellverbindungen auf (Pfeilspitzen). Das Periderm (Pd) erscheint durch fehlende Keratinisierungsvorgänge weniger opak. SB: 2  $\mu$ m

Im Bereich der Haaranlage kann nun der Haarwulst beobachtet werden. Seine Zellen sind rund bis oval geformt ebenso wie die Zellkerne. Die Kernhülle umschließt den Zellkern, der zwei bis drei Nucleoli enthält ohne größere Einbuchtungen oder Ausstülpungen. Der Heterochromatingehalt ist gering. Im Zytoplasma finden sich alle Zellorganellen ohne dass es Auffälligkeiten in Quantität oder Qualität gibt. Es kommen einige Ansammlungen von Glykogengranula vor. Die Zellen sind untereinander mit Desmosomen verbunden und die äußere Zellschicht lässt einzelne Hemidesmosomen mit der Basalmembran erkennen. Von den Haftplatten der Desmosomen gehen feine Tonofilamente aus. Die Zellgrenzen lassen sich meist nur anhand der Lage der Desmosomen gut erkennen. Dies weist auf einen besonders schmalen Interzellularraum hin (Abbildung 67, Abbildung 68).

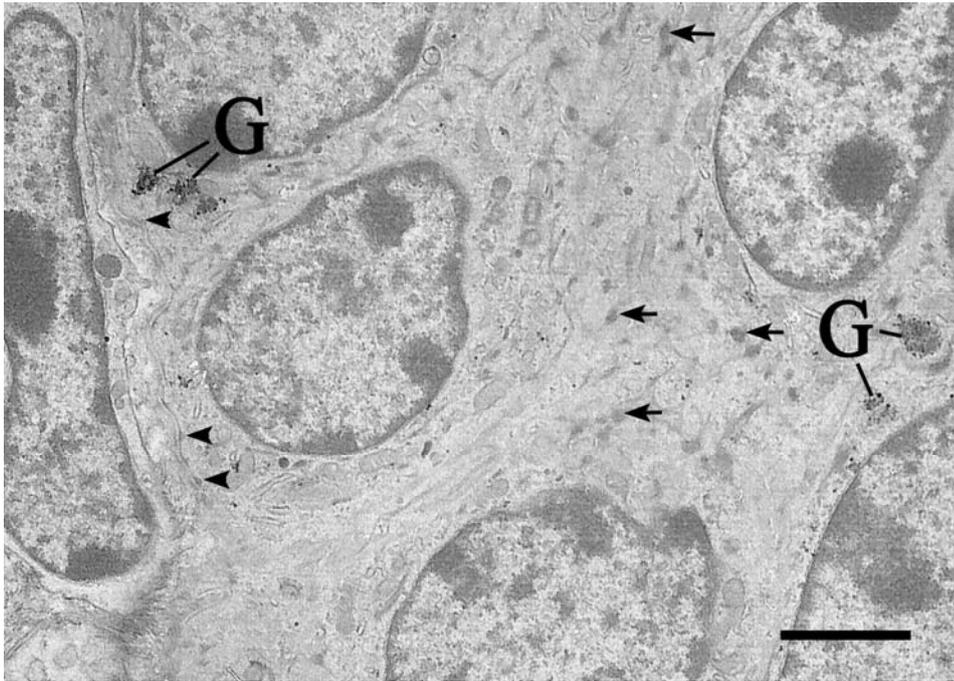
Der Haarwulst unterscheidet sich ultrastrukturell von den inneren Bereichen der Haaranlage vor allem durch seinen recht niedrigen Glykogengehalt. Außerdem weist das Vorkommen von Trichohyalingranula, in diesem Bereich der späteren Haarkegelbildung, auf eine beginnende Keratinisierung hin. Auch die von den desmosomalen Haftplatten ausstrahlenden Tonofilamente zeigen sich elektronendichter als im Bereich des Haarwulstes. Es sind vereinzelt Interdigitationen zwischen den Zellen erkennbar. Die Zellen liegen hier dichter gedrängt aneinander und es ist eine Ausrichtung der Zellen parallel zur Haarachse zu erkennen (Abbildung 67, Abbildung 69).

**Abbildung 67: Haaranlage mit Haarwulst eines bovinen Fetus einer der SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**



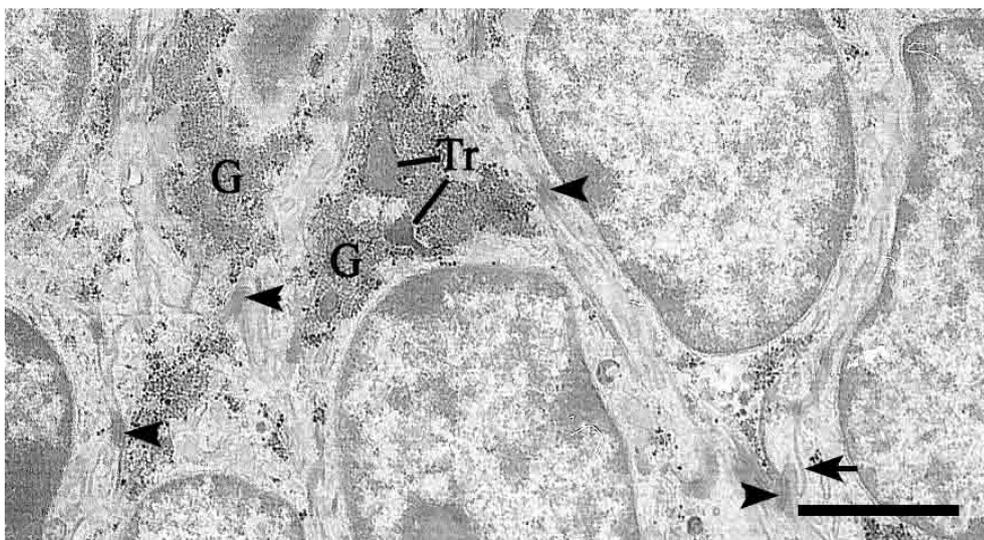
Diese Übersicht über eine Haaranlage mit zugehörigem Haarwulst (W) zeigt deutlich den höheren Glykogengehalt in den zentralen Zellen der Haaranlage, die im weiteren Entwicklungsverlauf die innere Haarwurzelscheide (iHWS) bilden werden. DWS: Dermale Haarwurzelscheide, SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 68: Ausschnitt aus dem Haarwulst eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**



Die Zellen des Haarwulstes zeichnen sich durch gleichmäßig geformte runde bis ovale Zellkerne aus, die zwei bis drei Nukleoli und mäßig Heterochromatin enthalten. Glykogenansammlungen (G) sind nur gelegentlich und in geringem Umfang zu beobachten. Das Vorkommen der verschiedenen Zellorganellen zeigt keine Auffälligkeiten. Einerseits sind die Zellen untereinander über Desmosomen verbunden (Pfeile), andererseits bestehen zwischen Basalmembran und den äußeren Zellen des Haarwulstes Verbindungen über Hemidesmosomen (Pfeilspitzen). SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 69: Ausschnitt aus den zentralen Zellen der Haaranlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**

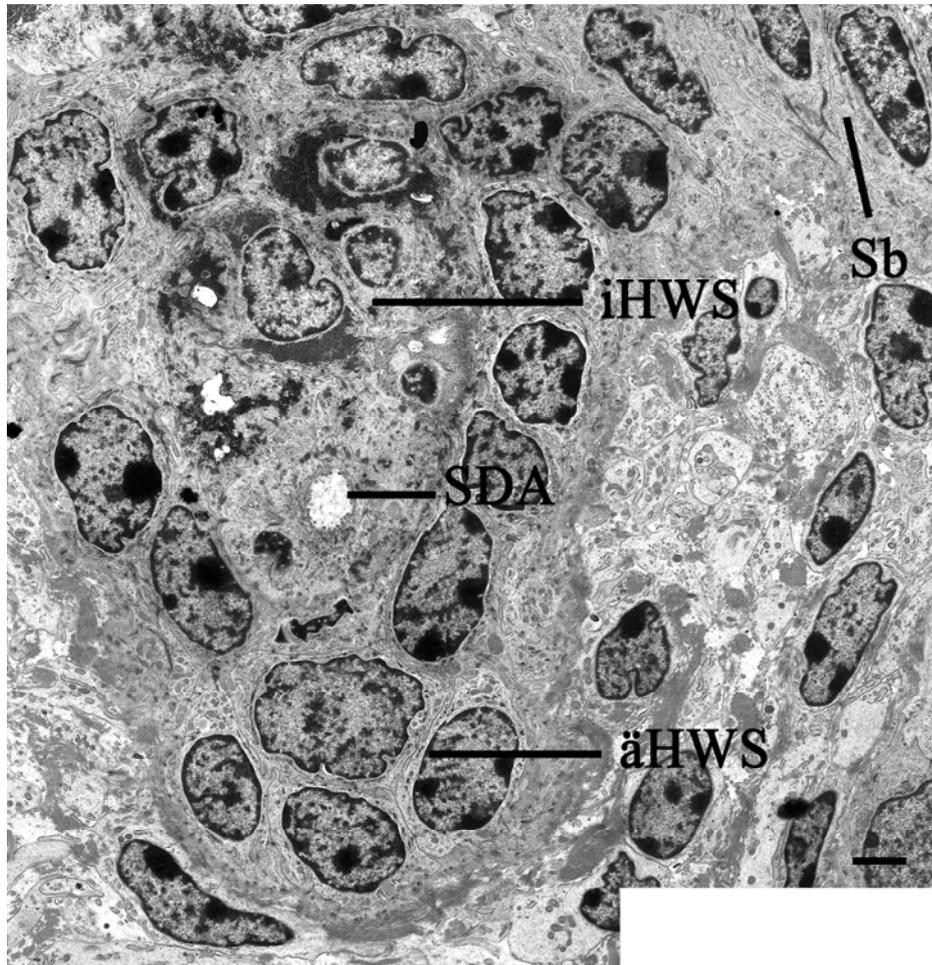


Im Gegensatz zu den Zellen des Haarwulstes (Abbildung 68) sind in den zentralen Zellen der Haaranlage große Glykogenansammlungen (G) anzutreffen. In einigen Zellen sind auch Trichohyalin granula (Tr) zu beobachten. Diese ultrastrukturellen Veränderungen geben einen ersten Hinweis auf die einsetzende Keratinisierung der späteren inneren Haarwurzelscheide. Auch hier verbinden zahlreiche Desmosomen die Zellen (Pfeilspitzen). Partiiell sind die Zellen auch über Interdigitationen miteinander verzahnt (Pfeil). SB: 2  $\mu$ m

Betrachtet man die Anteile der Haaranlage knapp unterhalb der Epidermis, also im Bereich des Haartrichters, so fällt auf, dass die Anzeichen einer Keratinisierung im zentralen Bereich, weiter fortgeschritten sind als auf Höhe des Haarwulstes. Die Zellen enthalten wesentlich mehr Glykogen und es sind häufiger Trichohyalin granula zu beobachten. Innerhalb der Glykogenansammlungen befinden sich oft Vakuolen mit elektronendurchlässigem Inhalt. Die Oberfläche der Zellkerne weist vereinzelt Einbuchtungen auf und das in der Peripherie des Zellkerns gelegene Heterochromatin zeigt kleine runde Bereiche mit geringerer Opazität, die augenscheinlich mit den Kernporen assoziiert sind. Ansonsten sind keine Auffälligkeiten in der Ausprägung von Zellorganellen erkennbar. An den Zellgrenzen sind zahlreiche Interdigitationen und Desmosomen anzutreffen (Abbildung 70, Abbildung 72).

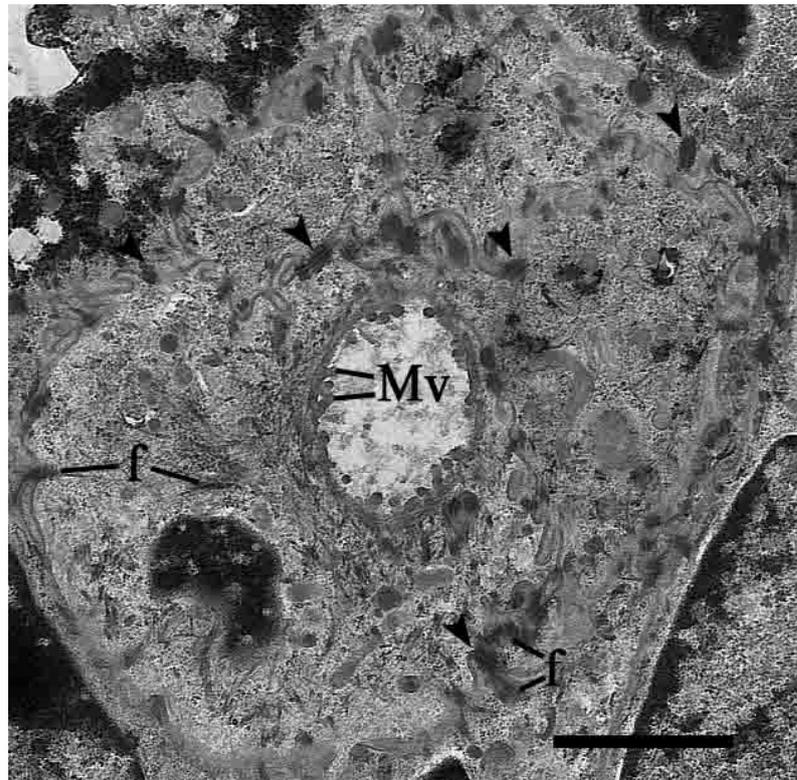
In derselben Querschnittsebene wird deutlich, dass die mit der Haaranlage assoziierte Schweißdrüsenanlage hier mit ihrem Ausführungsgang innerhalb des Haaranlagenquerschnitts verläuft und somit von Zellen der äußeren Haarwurzelscheide umgeben wird. Die Zellkerne enthalten viel Heterochromatin und es setzen sich runde, weniger elektronendichte Bereiche hiervon ab. Auch das ein- bis zweischichtige Epithel des Schweißdrüsenausführungsganges enthält Glykogenansammlungen, vereinzelte Trichohyalin granula, zytoplasmatische Vesikel und Tonofilamente, die meist in Verbindung mit Desmosomen stehen. Die Zellgrenzen zeichnen sich durch eine große Anzahl an Interdigitationen und Desmosomen, besonders zwischen den an das Lumen angrenzenden Zellen aus. Die apikale Zellmembran dieser Zellen zeigt zahlreiche Mikrovilli, die in das Lumen hineinragen (Abbildung 70, Abbildung 71).

**Abbildung 70: Übersicht über einen Querschnitt von Haaranlage und Schweißdrüsenausführungsgang eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene**



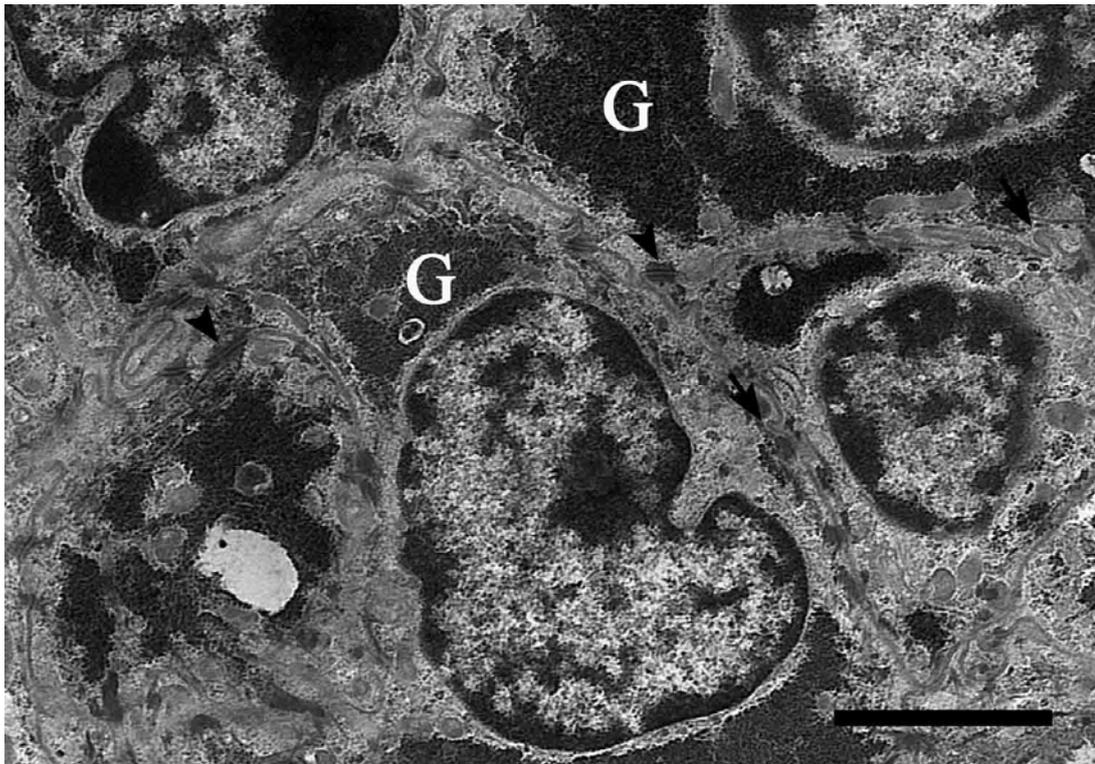
Bereits in der Übersicht ist deutlich zu erkennen, dass in dieser Querschnittsebene, nahe dem Stratum basale (Sb), die Keratinisierungsvorgänge in den zentralen Zellen der Haaranlage, die nun beginnen sich zur inneren Haarwurzelscheide (iHWS) zu differenzieren, bereits weiter fortgeschritten sind. (Näheres siehe Abbildung 72). Der Schweißdrüsenausführungsgang (SDA) verläuft in diese Ebene bereits innerhalb des Haarfollikels (Näheres siehe Abbildung 71), wird also von Zellen der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) umgeben. SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 71: Querschnitt des Schweißdrüsenausführungsganges eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene**



Die Zellen, die den Schweißdrüsenausführungsgang bilden, weisen in dieser Querschnittsebene moderate Ansammlungen von Glykogengranula auf. Die Zellkerne enthalten große Mengen an Heterochromatin. Von zahlreichen Desmosomen (Pfeilspitzen), die sowohl die Epithelzellen der Schweißdrüse selbst miteinander, als auch mit den angrenzenden Zellen der äußeren und inneren Haarwurzelscheide verbinden, strahlen Tonofilamentbündel (f) in das Zytoplasma ein. Die apikale Zelloberfläche lässt einen Mikrovillibesatz (Mv) erkennen. SB: 2  $\mu$ m

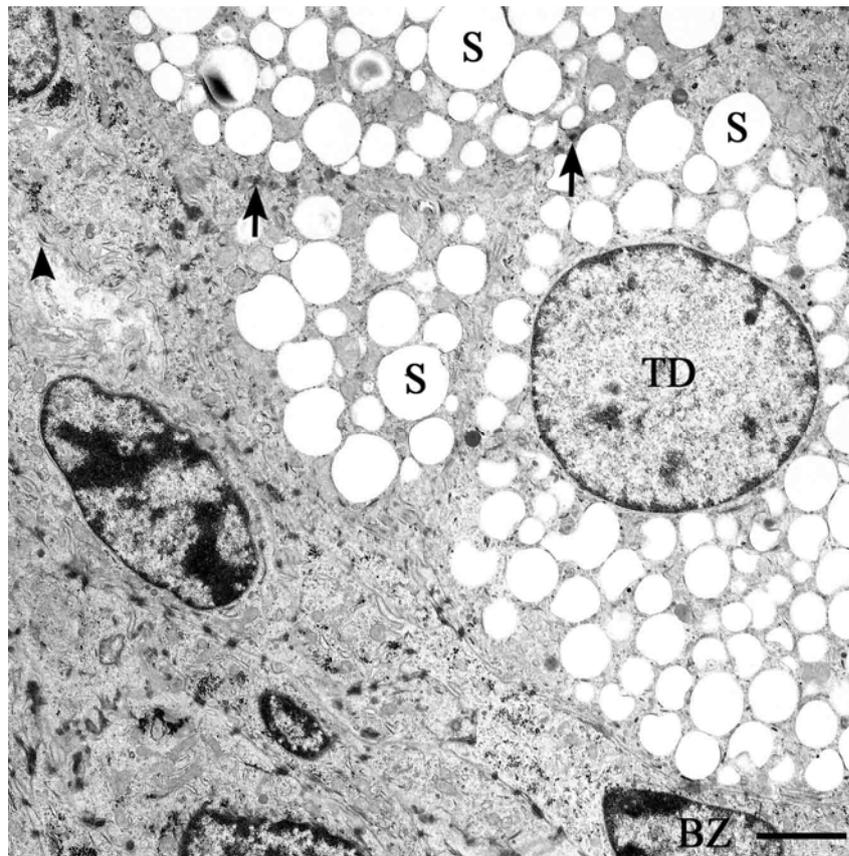
**Abbildung 72: Querschnitt des Schweißdrüsenausführungsganges eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene**



Die zentralen Zellen der Haaranlage, die sich nun zur inneren Haarwurzelscheide differenzieren, sind mit Glykogen (G) gefüllt. Partiiell sind in diesen Glykogenansammlungen Trichohyalin granula und elektronendurchlässige Vesikel zu beobachten. Die Pfeilspitzen markieren Desmosomen, die Pfeile weisen auf Interdigitationen der Zellmembranen. Die Zellkerne weisen häufig Einbuchtungen der Karyotheka auf. SB: 2  $\mu$ m

Bei dieser SSL von 44,0 cm lassen sich auch Zellen der Talgdrüsenanlagen beurteilen. In den sekretorischen Zellen der Talgdrüsenanlage sind zahlreiche sekret gefüllte Vakuolen erkennbar. Sie stellen die quantitativ am stärksten vertretene Zellorganelle dar. Die Zellkerne sind nahezu rund und enthalten nur wenig Heterochromatin. Die Zellen sind untereinander über Desmosomen verbunden. Zum Teil finden sich auch Interdigitationen der Zellmembranen. Basalzellen, die als Reservezellen der Talgzellen dienen, haben dagegen einen ovalen Zellkern mit wesentlich mehr Heterochromatin. Sie enthalten keine sekret gefüllten Vakuolen und bis auf ein partiell prominent ausgebildetes rER sind keine Auffälligkeiten in der Ausprägung der Zellorganellen zu beobachten. Die spindelförmigen Zellen sind untereinander und mit den sekretorischen Zellen über Desmosomen verbunden. Eine Verbindung zur Basalmembran, die die Talgdrüse umgibt, ist über Halbdesmosomen gewährleistet. Die Zellmembranen der sekretorischen Zellen lassen ebenso wie die der Basalzellen zahlreiche Interdigitationen erkennen (Abbildung 73).

**Abbildung 73: Talgdrüsenanlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: Hintergliedmaße)**



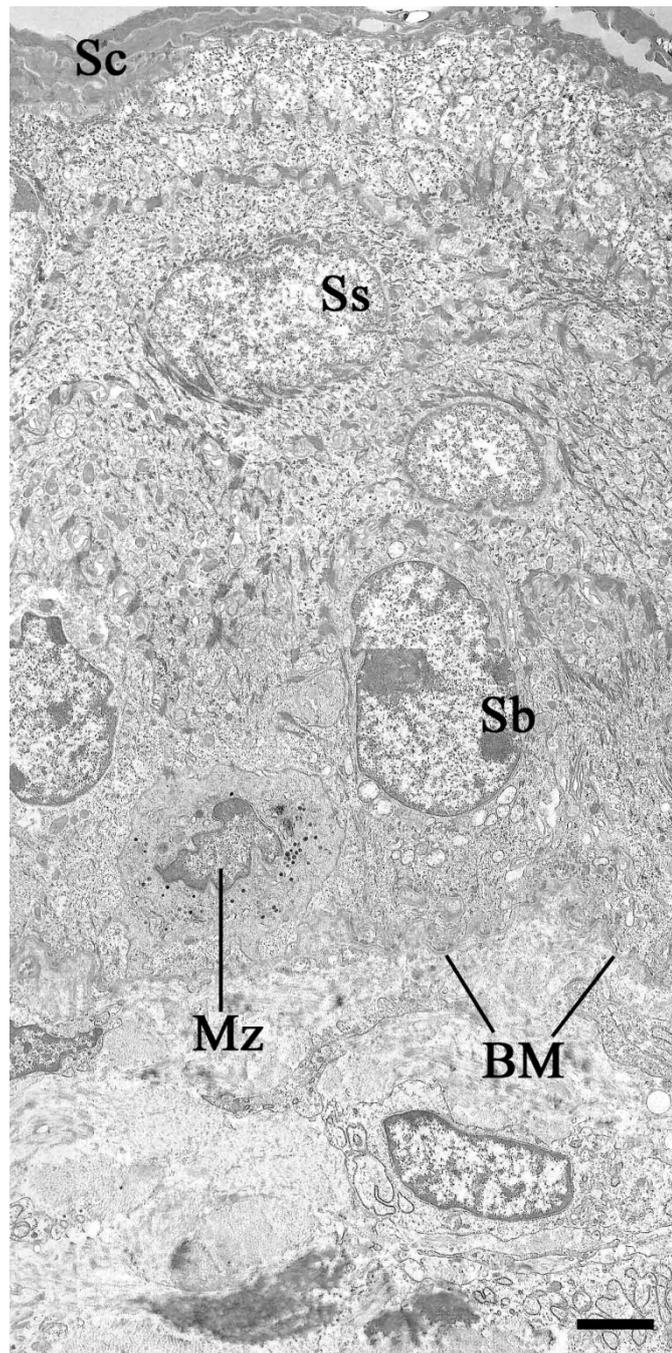
Die sekretorischen Zellen der Talgdrüsenanlage (TD) besitzen einen runden Zellkern mit sehr wenig Heterochromatin. Sie enthalten in ihrem Zytoplasma zahlreiche Lipidtropfen (S). Diese verdrängen zum Teil die anderen Zellorganellen. Desmosomen (Pfeile) verbinden die sekretorischen Zellen untereinander und mit den in der Peripherie liegenden Basalzellen (BZ). Die Basalzellen haben einen ovalen Zellkern, enthalten keine Lipidtropfen und stehen über Hemidesmosomen (Pfeilspitze) mit der Basalmembran in Kontakt. SB: 2  $\mu$ m

#### 4.5. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 67,8 cm

Bei dem Fetus mit einer SSL von 67,8 cm ist die Epidermis durch die Ausbildung eines Stratum corneum und das Auftreten von Melanozyten gekennzeichnet. Diese lassen sich im Bereich des Stratum basale beobachten. Sie enthalten stark eingebuchtete Zellkerne mit einem mäßigen Anteil an Heterochromatin. Das Zytoplasma enthält, zusätzlich zu den üblichen Zellorganellen, mit Pigment angefüllte Melanosomen und zytoplasmatische Vesikel. Die Zellen besitzen Ausläufer, die sich in Richtung der Basalmembran erstrecken. Es bestehen Zellverbindungen (Desmosomen) zwischen den intraepidermalen Melanozyten und den Zellen des Stratum basale. Das Stratum basale besteht in diesem Entwicklungsstadium aus hochprismatischen Zellen mit einem ovalen Zellkern, der zwei bis drei Nukleoli enthält und an seiner Oberfläche vereinzelt kleine Einbuchtungen aufweist. Der Heterochromatingehalt ist gering. Das Zytoplasma des Stratum basale enthält zytoplasmatische Vesikel mit schwach opakem Inhalt. Ansonsten sind keine prominenten Auffälligkeiten in der Ausprägung von Zellorganellen zu erkennen. Die Zellgrenzen des Stratum basale stehen ebenfalls über desmosomale Verbindungen miteinander und mit den basal gelegenen Zellen des Stratum spinosum in Kontakt. Die Basalmembran der Epidermis zeigt aufgrund der geschlängelt verlaufenden

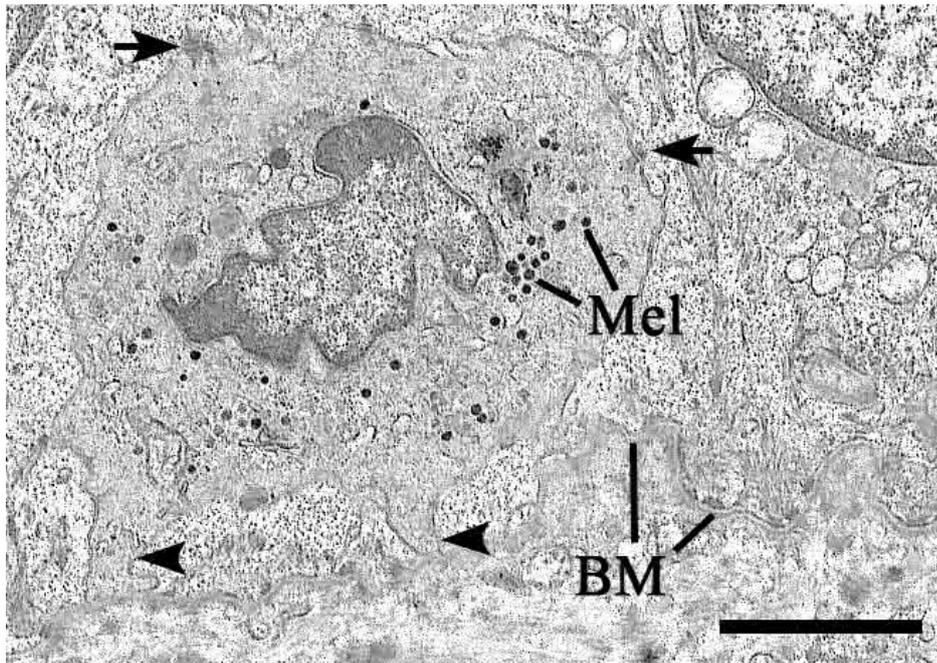
basalen Zellmembranen des Stratum basale ebenfalls einen girlandenförmigen Verlauf und steht über zahlreiche Hemidesmosomen mit diesen in Verbindung. Im Stratum spinosum sind wesentliche Veränderungen zu den vorher beschriebenen Entwicklungsstadien zu beobachten. Es sind nun wesentlich geringere Glykogenmengen im Zytoplasma zu finden. Die Zellkerne weisen nur selten Anzeichen von Pyknose auf, enthalten dementsprechend wenig Heterochromatin und haben eine gleichmäßige ovale Form. Partiiell sind Einbuchtungen der Karyotheka zu erkennen. Das Zytoplasma enthält deutliche Tonofilamentbündel, die einerseits von den Desmosomen ausgehen und andererseits vermehrt im perinukleären Bereich anzutreffen sind. Es sind keine Keratohyalin granula zu erkennen. In diesem Entwicklungsstadium findet man ein deutlich ausgebildetes Stratum corneum, welches aus drei bis vier Schichten vollständig keratinisierter Zellen besteht. Diese Zellschichten sind durch ihre unregelmäßigen Oberflächen miteinander verzahnt. Ein Stratum granulosum kann ultrastrukturell nicht von den apikalen Zellen des Stratum spinosum differenziert werden. Partiiell sind an den Zellgrenzen des Stratum corneum noch Desmosomen zu sehen (Abbildung 74).

**Abbildung 74: Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**



Wesentliches Merkmal dieses Entwicklungsstadiums ist die Ausbildung eines Stratum corneum (Sc). Gleichzeitig sind wesentliche Veränderungen im Stratum spinosum (Ss) zu erkennen, in dem nun weder die Anzeichen einer von basal nach apikal durch die Zellschichten fortschreitenden Keratinisierung (Abbildung 51), noch wesentlich ultrastrukturelle Unterschiede zwischen den Zellen des Stratum spinosum (Abbildung 63) zu beobachten sind. Es ist nun charakterisiert durch intakte Zellkerne, zahlreiche Desmosomen und feine Bündel von Tonofilamenten, die sich um den Zellkern konzentrieren sowie moderate Glykogenmengen. In das leicht hochprismatische Stratum basale (Sb) liegen vereinzelt Melanozyten (Mz) eingebettet. BM: Basalmembran, SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 75: Ausschnitt aus dem Stratum basale eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**

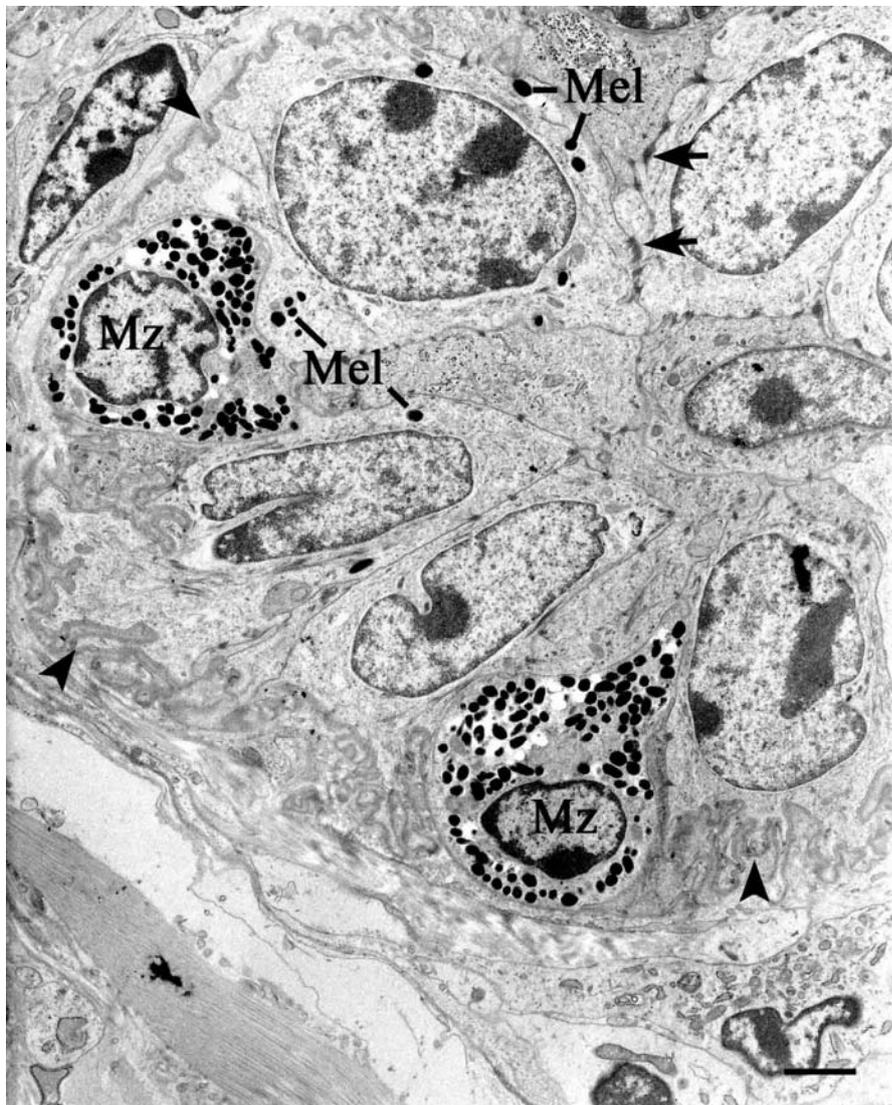


Der in das Stratum basale eingebettete Melanozyt enthält einen polymorphen Zellkern, geringe Mengen an Melanosomen (Mel), Zellfortsätze, die in Richtung Basalmembran ausgerichtet sind (Pfeilspitzen) und Desmosomen zu Zellen des Stratum basale (Pfeile). Die Basalmembran (BM) verläuft entsprechend des unregelmäßigen Verlaufes der basalen Zellgrenzen des Stratum basale geschlängelt. SB: 2 µm

Auch im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide der Haaranlagen befinden sich Melanozyten. Ihre ultrastrukturellen Merkmale entsprechen weitgehend den Melanozyten der Epidermis. In der hier untersuchten Hautprobe enthalten die Melanozyten der Haaranlagen jedoch mehr Melanosomen und die einzelnen Melanosomen sind wesentlich elektronendichter und größer als die der epidermalen Melanozyten. Zusammen mit der Beobachtung, dass in der Epidermis keine Melanosomen in den umliegenden Epithelzellen beobachtet werden können, was in den Haaranlagen sehr wohl der Fall ist, kann angenommen werden, dass es sich bei den Melanozyten der Epidermis um Zellen handelt, die ihre Pigmentproduktion noch nicht in vollem Umfang aufgenommen haben. Wie nun bereits erwähnt, enthalten die benachbarten Zellen der Melanozyten in der äußeren Haarwurzelscheide nur wenige Melanosomen. Die Zellen der äußeren Haarwurzelscheide lassen Unterschiede zwischen primär und sekundär gebildeten Haarfollikeln erkennen (Abbildung 76, Abbildung 77). In den sekundär gebildeten Haarfollikeln haben die Zellen der äußeren Haarwurzelscheide eine hochprismatische Form, einen ovalen Zellkern mit meist einer tieferen Einbuchtung, zwei bis drei Nucleoli und einem geringem Heterochromatingehalt. Das Zytoplasma enthält außer den immer vorkommenden Zellorganellen, wie Mitochondrien, Endoplasmatischen Reticulum und Golgi-Apparat, geringe Mengen an Glykogen und feine Filamentbündel. Der interzelluläre Kontakt wird über Desmosomen hergestellt. Wie bereits in obigem Abschnitt beschrieben, enthält das Zytoplasma vereinzelt Melanosomen, die von benachbarten Melanozyten gebildet werden. Besonders auffällig sind die extrem starken Einstülpungen der basalen Zellmembran. Eine innere Haarwurzelscheide im eigentlichen Sinne ist hier noch nicht ausgebildet. Es handelt sich um zentral liegende Zellen, die bis

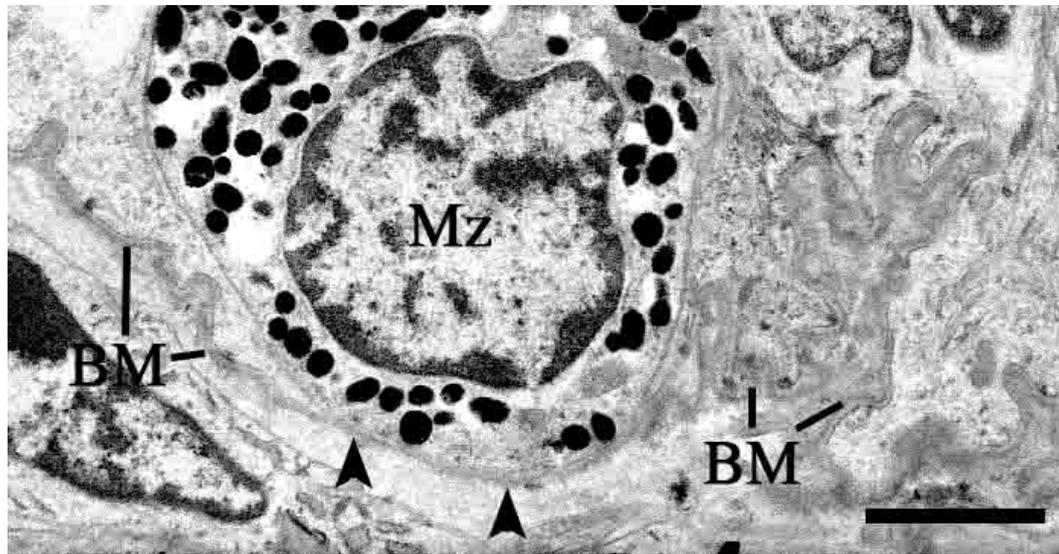
auf ihre geringere Größe keine nennenswerten Unterschiede zu den Zellen der äußeren Haarwurzelscheide aufweisen (Abbildung 76, Abbildung 77, Abbildung 78).

**Abbildung 76: Querschnitt durch einen sekundär gebildeten Haarfollikel eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



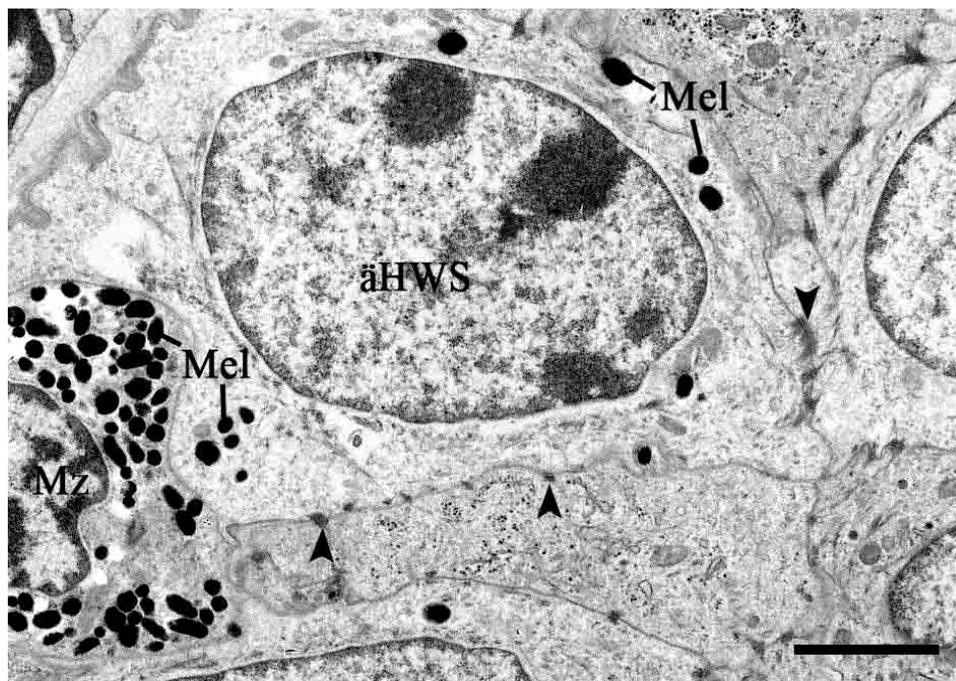
In der äußeren Haarwurzelscheide dieses sekundär gebildeten Haarfollikels lassen sich zwei zahlreiche Melanosomen (Mel) enthaltende Melanozyten (Mz) erkennen. Eine Abgabe von Melanosomen an die umliegenden Zellen hat bereits stattgefunden. Zwischen den hochprismatischen Zellen der äußeren Haarwurzelscheide sind zahlreiche Desmosomen zu erkennen (Pfeile). Die umgebende Basalmembran vereinfacht das Nachverfolgen der basalen Zellgrenzen, die durch ausgesprochen starken Einziehungen charakterisiert sind (Pfeilspitzen). SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 77: Ausschnitt eines Melanozyten in einem sekundär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Der Melanozyt (Mz) enthält einen polymorphen Zellkern mit peripher liegenden Heterochromatin. Es sind zahlreiche Melanosomen erkennbar, die eine Beurteilung der übrigen Zellorganellen erschweren. Die Basalmembran (BM) umgibt die stark eingebuchteten basalen Zellgrenzen der Zellen der äußeren Haarwurzelscheide mit Kontakt über Hemidesmosomen. In dem an den Melanozyten angrenzenden Abschnitt ist die Basalmembran nur undeutlich ausgebildet (Pfeilspitzen). SB: 2 µm

**Abbildung 78: Ausschnitt eines Melanozyten mit angrenzenden Zellen der äußeren Haarwurzelscheide in einem sekundär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Deutlich erkennbar ist die erfolgte Übertragung von Melanosomen (Mel) aus dem Melanozyten (Mz) an Zellen der äußeren Haarwurzelscheide. Zahlreiche Desmosomen (Pfeilspitzen) verbinden die Zellen der äußeren Haarwurzelscheide (āHWS) miteinander, nicht aber mit dem Melanozyten. SB: 2µm

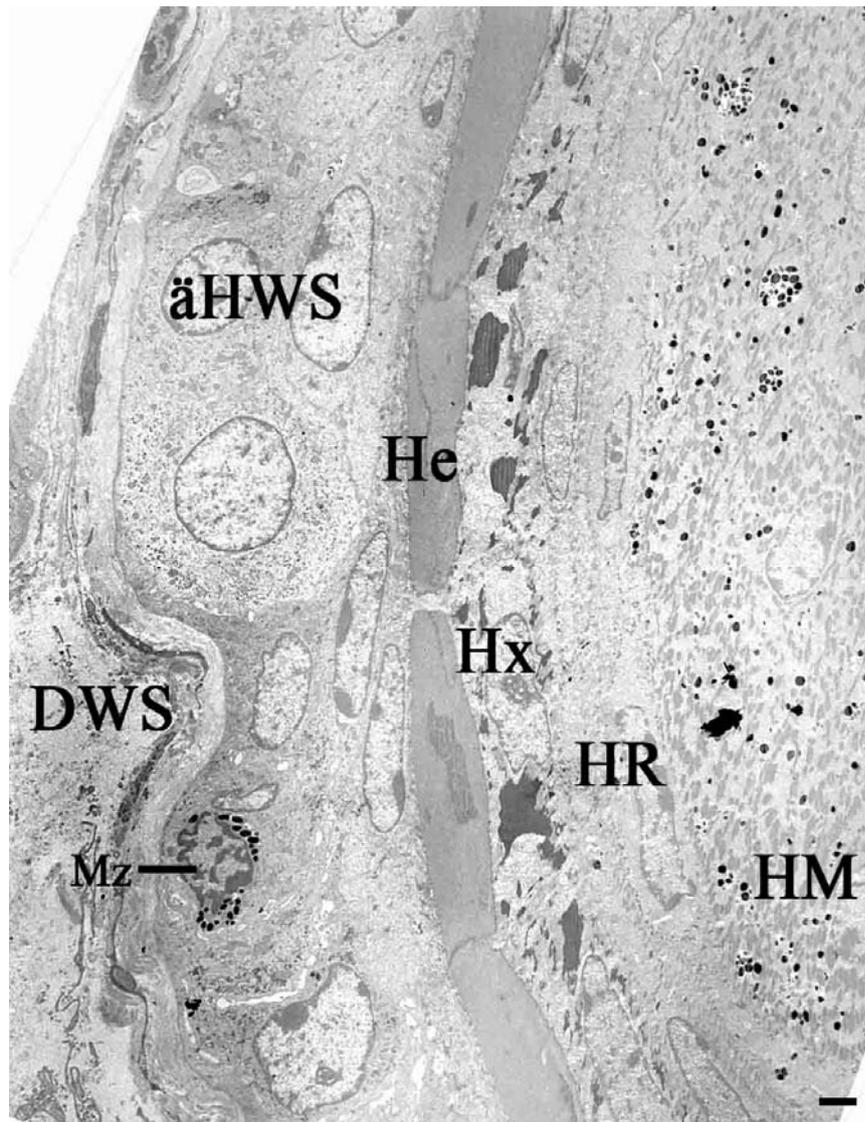
In den primär gebildeten Haarfollikeln ergeben sich nun abhängig von der Höhe der Schnittebene wesentliche ultrastrukturelle Unterschiede. Im suprabulbären Bereich (Abbildung 79) lässt sich die äußere Haarwurzelscheide in eine äußere, isoprimitische Zellschicht und eine innere Schicht flacher Zellen differenzieren. Die Zellkerne sind in der äußeren Zellschicht rund bis oval, in der inneren Zellschicht, entsprechend der Zellform spindelförmig. In der äußeren Zellschicht findet sich etwas Glykogen, während die innere praktisch keine Glykogenansammlungen enthält. Vereinzelt sind vergrößerte Interzellularspalten (Abbildung 80) und Interdigitationen der Zellmembranen erkennbar. Die basale Zellschicht hat außerdem über Hemidesmosomen Kontakt zur Basalmembran (Abbildung 80).

Es schließt sich die innere Haarwurzelscheide mit der Henle- und Huxley-Schicht an. Die länglichen Zellen der Henle-Schicht sind mit Trichohyalin nahezu ausgefüllt. Ihre Zellkerne sind nur noch als homogene, elektronendichte Strukturen im Zentrum der Zellen erkennbar. In der Huxley-Schicht finden sich ebenfalls längliche Zellen, die einzelne Trichohyalingranula enthalten. Die erhöhte Elektronendichte dieser Granula weist auf eine andere Zusammensetzung hin, als dies beim Trichohyalin der Henle-Schicht der Fall ist. Ein weiterer Unterschied ist die Struktur der Zellkerne, die in der Huxley-Schicht weitgehend intakt erscheint.

Eine Unterscheidung der Haarcuticula von der Haarrinde aufgrund der Ultrastruktur ist in diesem Entwicklungsstadium nicht möglich. Die Haarrinde ist durch spindelförmige Zellen mit ebenso geformten Zellen charakterisiert. Es lassen sich keine Anzeichen einer Keratinisierung in Form von Trichohyalingranula, hohem Glykogengehalt oder Kernpyknose erkennen. Auch hier bestehen desmosomale Verbindungen zwischen den Zellen. Es fallen keine besonderen Ausprägungen einzelner Zellorganellen auf.

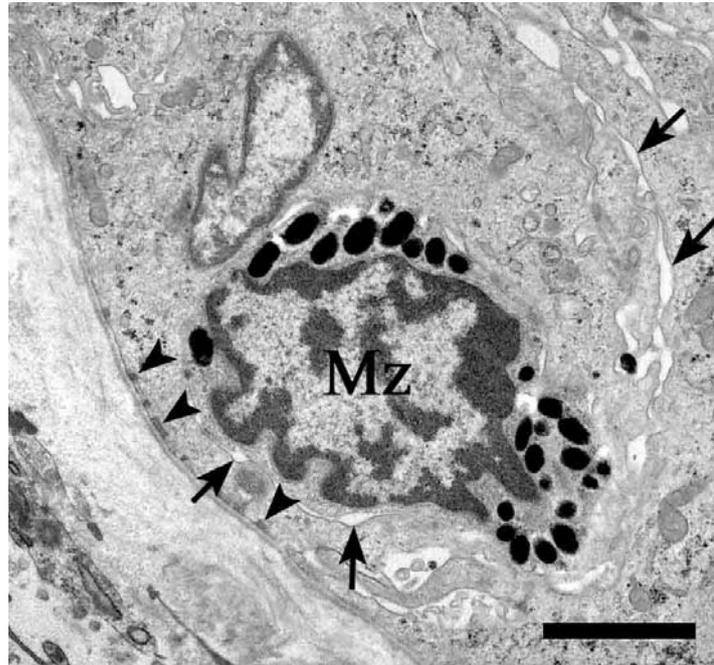
Die Zellen des Haarmarks enthalten zahlreiche Melanosomen und Trichohyalingranula. Wie die Zellen selbst, so zeigen auch die länglichen Granula eine Ausrichtung längs zur Achse des Haarfollikels. Auch hier ist die Elektronendichte der Trichohyalingranula deutlich geringer als in den Zellen der inneren Haarwurzelscheide. Die Zellkerne sind weniger heterochromatinreich und enthalten zwei bis drei Nucleoli.

**Abbildung 79: Querschnitt durch einen primär gebildeten Haarfollikel eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich**



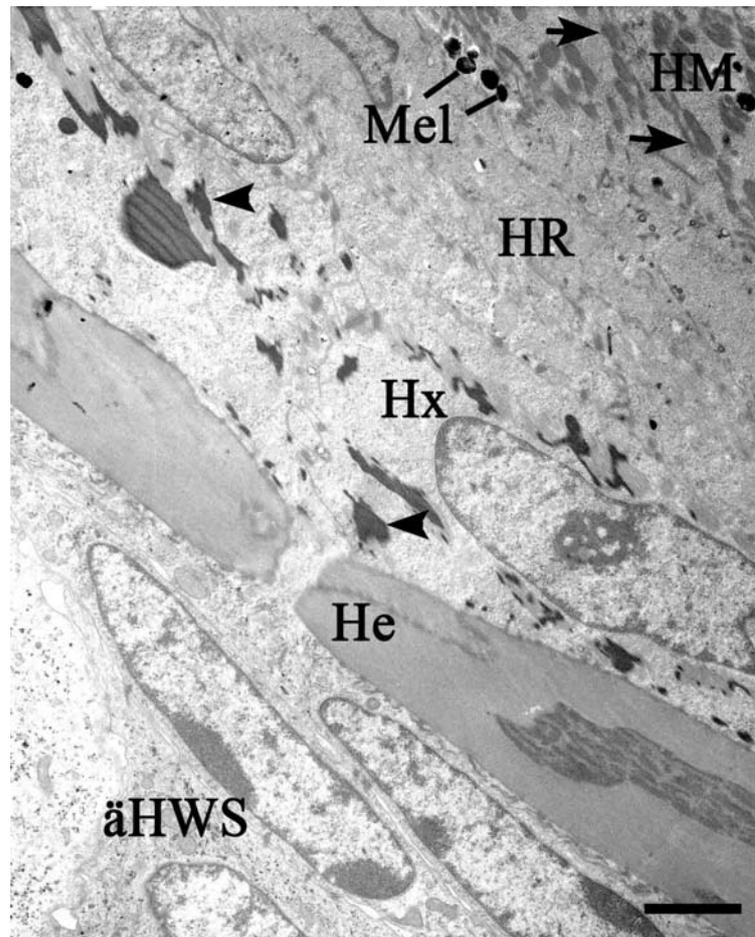
Die Haaranlage im Stadium des Bulbuszapfens lässt eine zweischichtige äußere Haarwurzelscheide (äHWS), eine aus Henle- (He) und Huxley- (Hx) Schicht bestehende innere Haarwurzelscheide mit deutlichem Keratinisierungsprozess, die noch weitgehend von Keratinisierung freie Haarrinde (HR), sowie das Melanosomen und Trichohyalin granula enthaltende Haarmark (HM). Mz: Melanozyt, DWS: Dermale Haarwurzelscheide, SB: 2  $\mu$ m

**Abbildung 80: Ausschnitt aus der äußeren Haarwurzelscheide eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich**



Zwischen die Zellen der äußeren Haarwurzelscheide ist ein Melanozyt (Mz) eingelagert. Die Basalmembran, die den Haarfollikel umgibt, ist hier durchgehend ausgebildet und über zahlreiche Hemidesmosomen mit der basalen Zellmembran verbunden (Pfeilspitzen). Zwischen den Zellen der äußeren Haarwurzelscheide, wie auch zwischen diesen und dem Melanozyten, sind deutliche Erweiterungen des Interzellularspaltes (Pfeile) zu erkennen. SB: 2  $\mu\text{m}$

**Abbildung 81: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich**

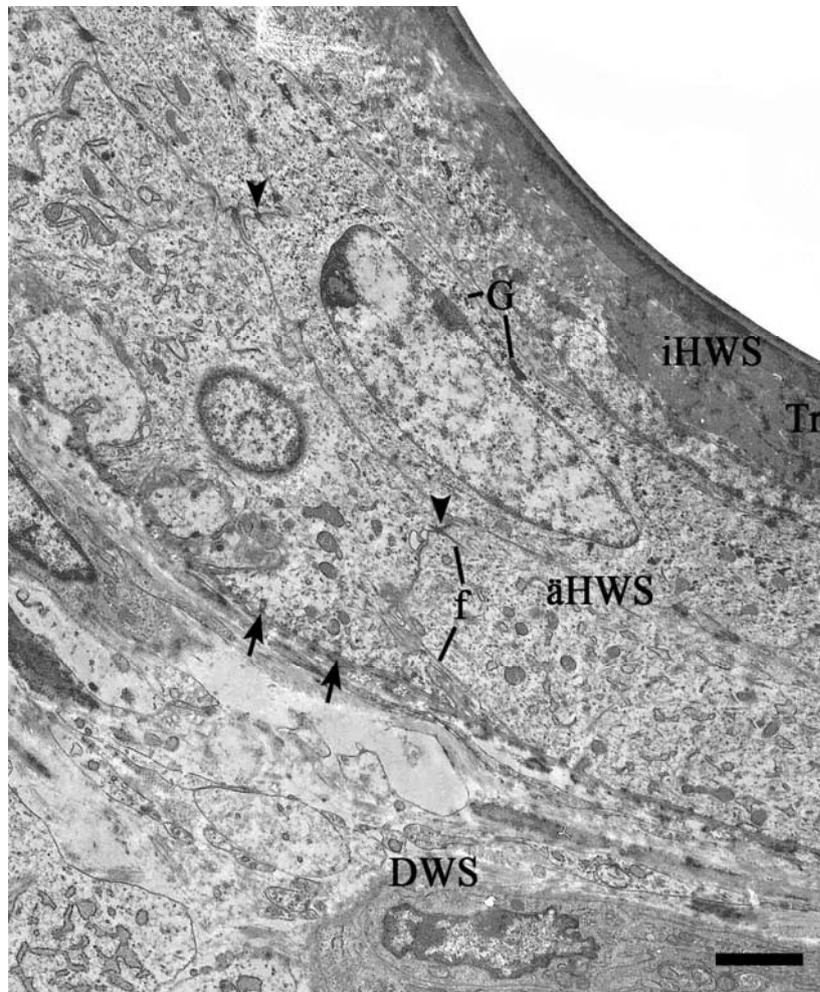


Die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) besteht aus äußeren isoprismatischen Zellen (auch Abbildung 79) und inneren spindelförmigen Zellen mit geringem Glykogengehalt. Die Zellkerne sind längsoval. Die Henle-Schicht (He) der inneren Haarwurzelscheide erscheinen nahezu vollständig mit Trichohyalin angefüllt. Die Zellkerne sind pyknotisch und es ist dementsprechend keiner Unterscheidung bei den nukleären Strukturen mehr möglich. Die Huxley-Schicht (Hx) der inneren Haarwurzelscheide zeigt dagegen intakte Zellkerne. Das Trichohyalin in dieser Schicht besteht aus einzelnen Granula und ist elektronendichter, als das der Henle-Schicht (Pfeilspitzen). Die Haarrinde (HR) enthält ein homogen wirkendes Zytoplasma. Im Haarmark (HM) sind ebenfalls Trichohyalin granula zu erkennen, deren Elektronendichte mit denen der Huxley-Schicht vergleichbar ist (Pfeile). Im Haarmark sind außerdem Melanosomen (Mel) zu beobachten. SB: 2  $\mu$ m

Im Bereich des Isthmus der Haaranlage ist die äußere Haarwurzelscheide grundsätzlich gleich aufgebaut, wie es bereits bei dem suprabulbären Bereich beschrieben wurde. Allerdings enthalten hier beide Zellschichten mehr Glykogen und mehr Bündel von Tonofilamenten. Die Anzahl der Hemidesmosomen an der basalen Zellmembran der Zellen ist erhöht.

Die innere Haarwurzelscheide ist im Bereich des Isthmus des Haarfollikels fast vollständig keratinisiert. Die Zellen enthalten große Mengen an Trichohyalin. In den noch nicht vollständig keratinisierten Anteilen des Zytoplasmas finden sich große Mengen an Glykogen und Filament (Abbildung 82).

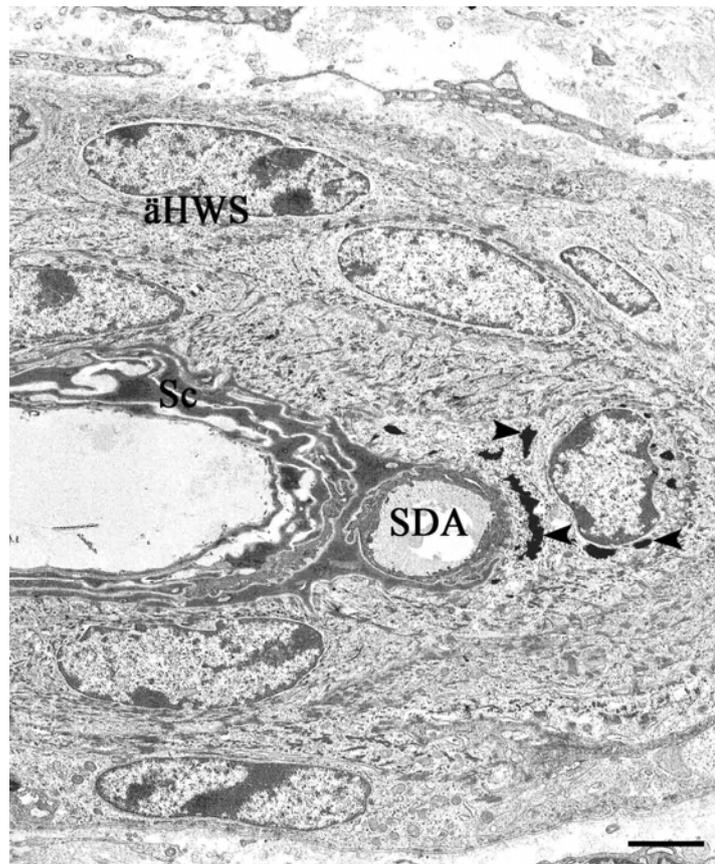
**Abbildung 82: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im Bereich des Isthmus**



Die äußere Haarwurzelscheide (aHWS) lässt wie auch im suprabulbären Bereich (Abbildung 79) zwei Zellschichten erkennen. Hier bestehen nun beide Schichten aus abgeflachten Zellen. Der Glykogengehalt ist im Vergleich zum suprabulbären Bereich leicht erhöht (G) und auch Tonofilamente können hier häufiger beobachtet werden (f). Die Anzahl der Hemidesmosomen zur Verbindung mit der Basalmembran hat erheblich zugenommen (Pfeile). Die innere Haarwurzelscheide (iHWS) kann nun nicht mehr in verschiedene Schichten differenziert werden. Sie kleidet als völlig mit Trichohyalin (Tr) angefüllte Schicht den Haarkanal aus. In allen Schichten des Haarfollikels sind zahlreiche Desmosomen anzutreffen (Pfeilspitzen). DWS: Dermale Haarwurzelscheide, SB: 2 µm

Im Bereich des Infundibulum des Haarfollikels setzt sich die Veränderung der äußeren Haarwurzelscheide durch vermehrte Einlagerung von Glykogen und Filamentbündeln fort. An die Stelle der inneren Haarwurzelscheide ist nun das von der Epidermis herabreichende Stratum corneum getreten, das sich aus mehreren Zelllagen voll keratinisierter Zellen zusammensetzt.

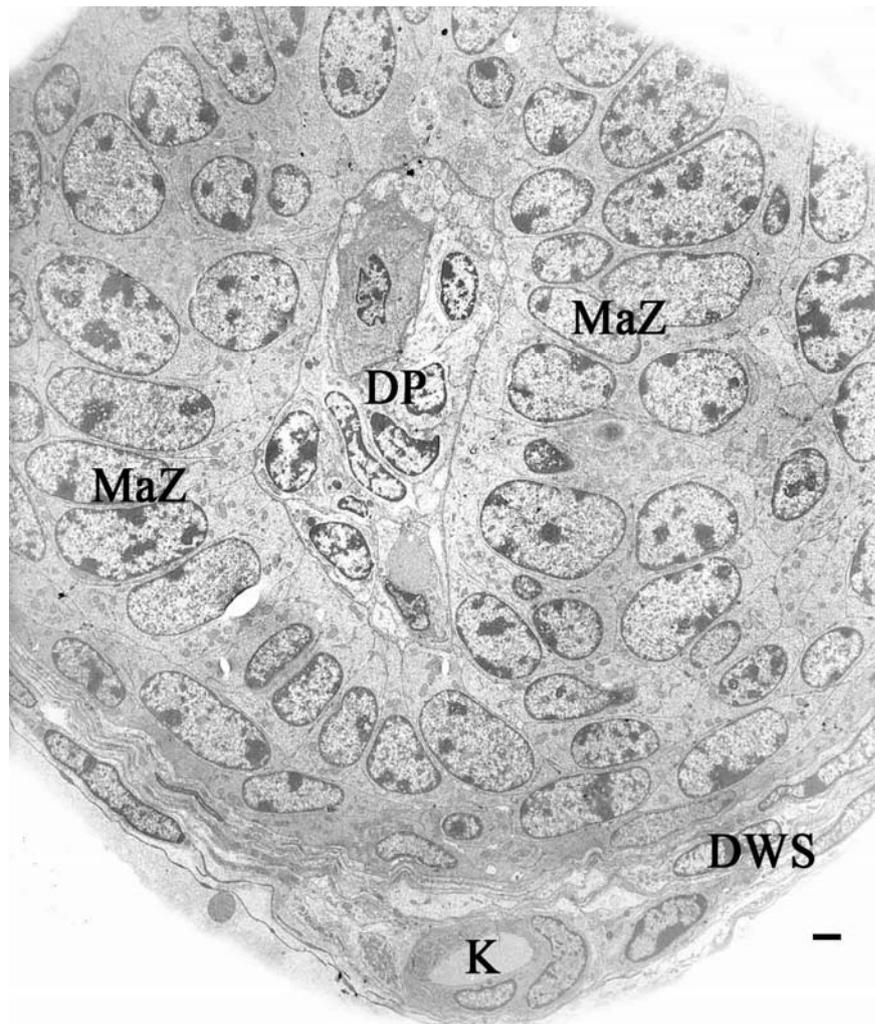
**Abbildung 83: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



In dieser subepithelialen Querschnittsebene erscheint die äußere Haarwurzelscheide (äHWS) ähnlich wie im Bereich des Isthmus der Haaranlage (Abbildung 82) ausgebildet. Allerdings ist das Vorkommen von Filamenten im Vergleich hierzu erhöht. Auf dieser Schnittebene verläuft der Ausführungsgang der Schweißdrüse (SDA) bereits innerhalb des Haarfollikels. Die ihn auskleidenden Zellen sind vollständig keratinisiert. Angrenzende Zellen weisen ebenfalls Trichohyalin granula auf (Pfeilspitzen). Die innere Auskleidung des Haarkanals wird hier durch das von der Epidermis herunterreichende Stratum corneum (Sc) gewährleistet. SB: 2  $\mu$ m

In der anagenen Haarzwiebel des Bulbuszapfens, welche die dermale Papille in diesem fetalen Entwicklungsstadium bei den primär gebildeten Haarfollikeln vollständig umschließt, lassen sich die Matrixzellen differenzieren. Sie liegen in der Haarzwiebel der dermalen Papille direkt benachbart. Ihre Form ist hochprismatisch. Der euchromatinreiche Zellkern enthält zwei bis vier Nukleoli. Gut sichtbare Zellorganellen sind die Mitochondrien sowie das Raue Endoplasmatische Retikulum. Beide liegen vorwiegend im basalen Zytoplasmaanteil. Die Matrixzellen sitzen der Basalmembran auf und sind mit ihr über wenige Hemidesmosomen verbunden. Die darunter liegenden Zellen der dermalen Papille haben eine polymorphe Gestalt. Ihr Zytoplasma ist weniger elektronendicht als das der Matrixzellen der Haarzwiebel (Abbildung 84).

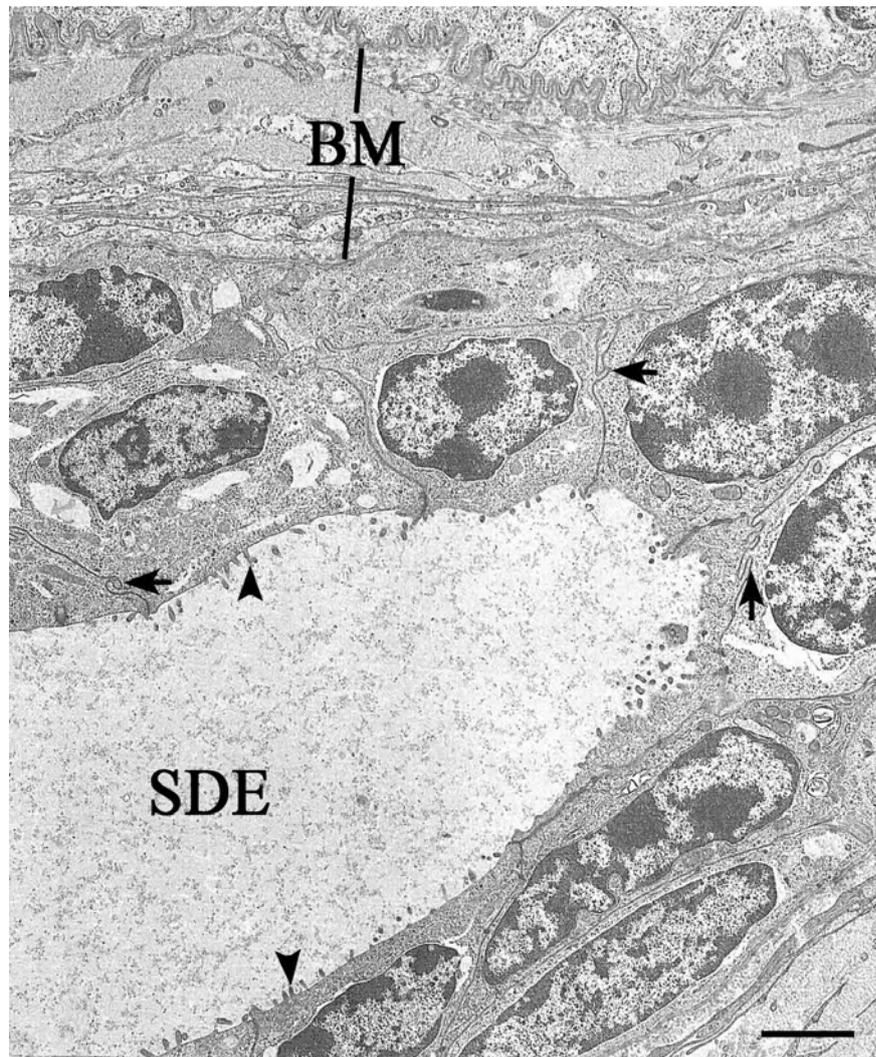
**Abbildung 84: Haarzwiebel mit dermaler Papille eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Im Stadium des Bulbuszapfens wird die dermale Papille (DP) von der Haarzwiebel umschlossen, so dass nur eine schmale Öffnung (in dieser Schnittebene nicht sichtbar) den Kontakt der dermalen Papille zur dermalen Wurzelscheide (DWS) erlaubt. Die inneren Zellen der Haarzwiebel, die sogenannten Matrixzellen (MaZ) sind hochprismatisch (in der linken Hälfte der Haarzwiebel gut sichtbar), besitzen einen ovalen Zellkern, der wenig Heterochromatin enthält und von der Basalmembran weg verschoben ist. Häufig findet man im Bereich der dermalen Papille und dem sie umgebenden Bindegewebe Kapillaren (K). SB: 2  $\mu$ m

Betrachtet man die Schweißdrüsenanlagen, so ist ein Endstück mit zweischichtigem Epithel zu beobachten. Die innere Zellschicht besteht aus isoprismatischen Zellen, die an der apikalen Zellmembran zahlreiche Abschnürungen aufweisen. Die ovalen Zellkerne enthalten ein bis zwei Nucleoli. Im Zytoplasma der Zellen befinden sich Sekreteinschlüsse, die von keiner Membran umschlossen werden. An den Zellmembranen selbst finden sich Interdigitationen und vereinzelte Desmosomen. Die äußere Zellschicht besteht aus relativ flachen Zellen mit spindelförmigem Zellkern. Bis auf diese Grundstruktur und die fehlende Sekretion ins Lumen haben die äußeren Zellen eine ähnliche Ultrastruktur wie die Zellen der inneren Schicht. Sie stehen über Hemidesmosomen mit der Basalmembran in Verbindung, die wesentlich schwächer ausgebildet ist als die Basalmembran des Haarfollikels.

**Abbildung 85: Schweißdrüsenendstück eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**

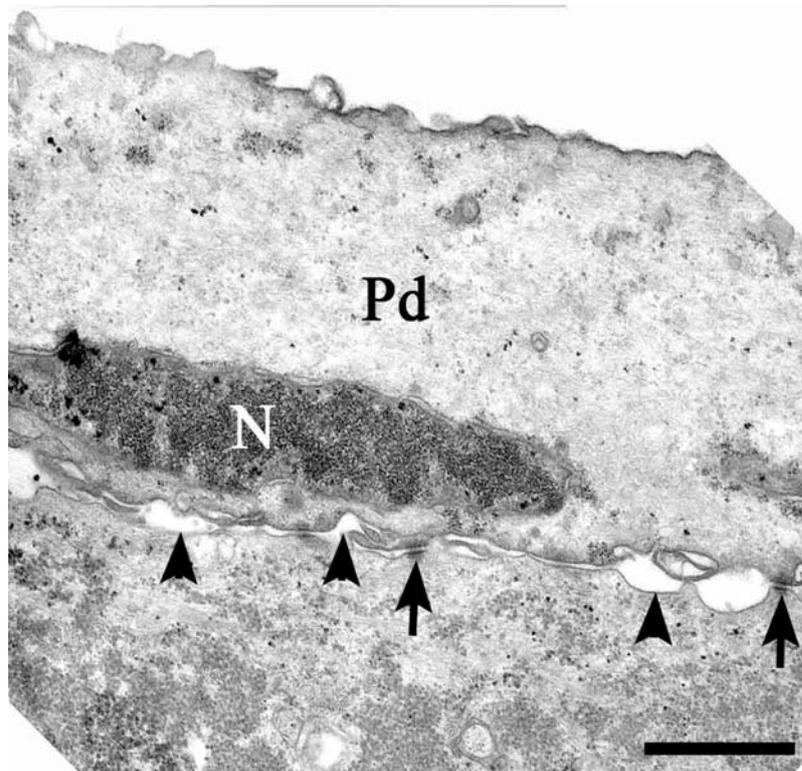


Das Epithel des Schweißdrüsenendstückes (SDE) besteht aus zwei Zellschichten. Die Zellen der zentralen Schicht haben eine isoprismatische bis flache Form. Ihre apikale Zellmembran lässt zahlreiche Abschnürungen erkennen (Pfeilspitzen). Im Zytoplasma treten partiell wenig elektronendichte Sekreteinschlüsse auf, die nicht membranumgrenzt sind. Die Zellmembranen sind über Interdigitationen miteinander verzahnt (Pfeile). In der äußeren Zellschicht liegen abgeflachte Zellen, die nur selten Sekreteinschlüsse aufweisen. Sehr deutlich ist in diesem Bild der Unterschied zwischen der relativ elektronendichten und stark geschlängelt verlaufenden Basalmembran (BM) der Haaranlage (oben) und der sich schwächer darstellenden Basalmembran des Schweißdrüsenendstückes. SB: 2  $\mu$ m

#### 4.6. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm

Bei den Hautproben des Fetus mit der SSL 80,5 cm ist die Epidermis zumeist durch ein Stratum corneum charakterisiert. Einzig im Bereich der Hintergliedmaße lässt sich noch ein Periderm als Abschluss der epidermalen Oberfläche feststellen (Abbildung 86). Hier sind nun sehr gut die stark verbreiterten Interzellularspalten zwischen dem Periderm und den darunter liegenden Zellen zu beobachten. Desmosomen halten noch die Verbindung zwischen diesen Gewebeschichten. Die Zellkerne des Periderms lassen kein Euchromatin mehr erkennen und stellen sich sehr elektronendicht dar. Im Zytoplasma sind bis auf wenige Polysomen, die sich aus Agglomeraten von Ribosomen zusammensetzen, kaum Zellorganellen zu beobachten. Die apikale Zellmembran bildet eine unregelmäßige Oberfläche.

**Abbildung 86: Periderm eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: Hintergliedmaße)**



Während in den anderen Hautarealen dieses fetalen Entwicklungsstadiums bereits das Stratum corneum als äußerste Begrenzung der Körperoberfläche das Periderm (Pd) abgelöst hat (siehe Abbildung 74), ist es im Bereich der Hintergliedmaße noch zu beobachten. Allerdings deuten stark erweiterte Interzellularspalten (Pfeilspitzen) darauf hin, dass trotz bestehender desmosomaler Verbindungen (Pfeile) zu den unterlagernden Zellen eine baldige Ablösung des Periderms bevorsteht. Die Zellkerne (N) des Periderms sind angefüllt mit Heterochromatin. Das Zytoplasma ist sehr organellenarm und die apikale Zellmembran weist eine unregelmäßige Oberfläche auf. SB: 2  $\mu$ m

Im Bereich der Schweißdrüsen lassen sich nun in den Ausführungsgängen zahlreiche Mikrovilli erkennen, die als Oberflächenbildungen der zentralen Epithelzellen das Lumen auskleiden. Die ovalen Zellkerne der zentralen Zellen enthalten einen Nukleolus und meist eine Einbuchtung der Karyotheka. Das Zytoplasma enthält vor allem im perinukleären Raum zahlreiche Tonofilamente. Verbunden sind

die Zellen über zahlreiche Desmosomen. In der äußeren Zellschicht sind keine wesentlichen Unterschiede zur inneren Zellschicht zu beobachten bis auf ein etwas elektronendichteres Zytoplasma, das durch einen noch höheren Gehalt an Filamenten bedingt ist (Abbildung 87).

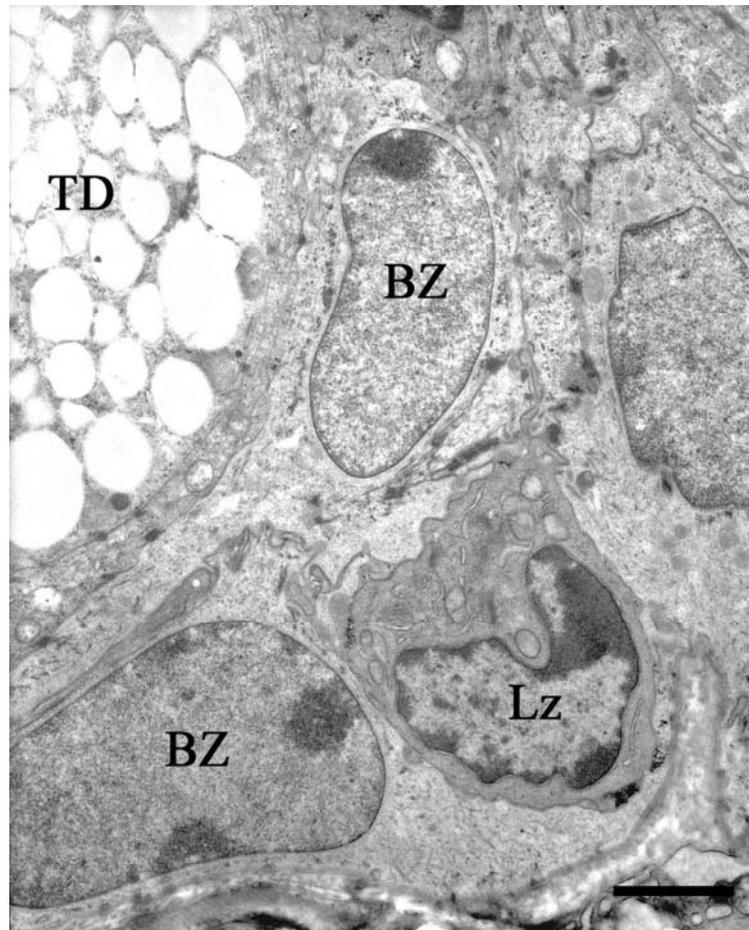
**Abbildung 87: Schweißdrüsenausführungsgang eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**



Das Lumen des Schweißdrüsenausführungsganges ist durch zahlreiche Mikrovilli (Mv) der ihn auskleidenden Zellen ausgefüllt. Die Zellen haben einen ovalen Zellkern, der einen Nukleolus enthält. Sekretionsprodukte sind im Zytoplasma nicht zu finden, stattdessen zahlreiche Filamente (Pfeile), die vorwiegend im perinukleären Bereich auftreten. Die Zellen sind untereinander und mit der sie umgebenden Zellschicht über Desmosomen (Pfeilspitzen) verbunden, die sehr elektronendicht erscheinen und von denen dichte Bündel von Tonofilamenten in die Zellen ziehen. SB: 2  $\mu$ m

Die Talgdrüsenanlagen lassen ab diesem Entwicklungsstadium auffällig häufig Lymphozyten erkennen, die zwischen die Basalzellen eingewandert sind, sich aber auch im Bindegewebe, welches die Drüsenanlage umgibt, wiederfinden (Abbildung 88).

**Abbildung 88: Randbereich einer Talgdrüse eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)**

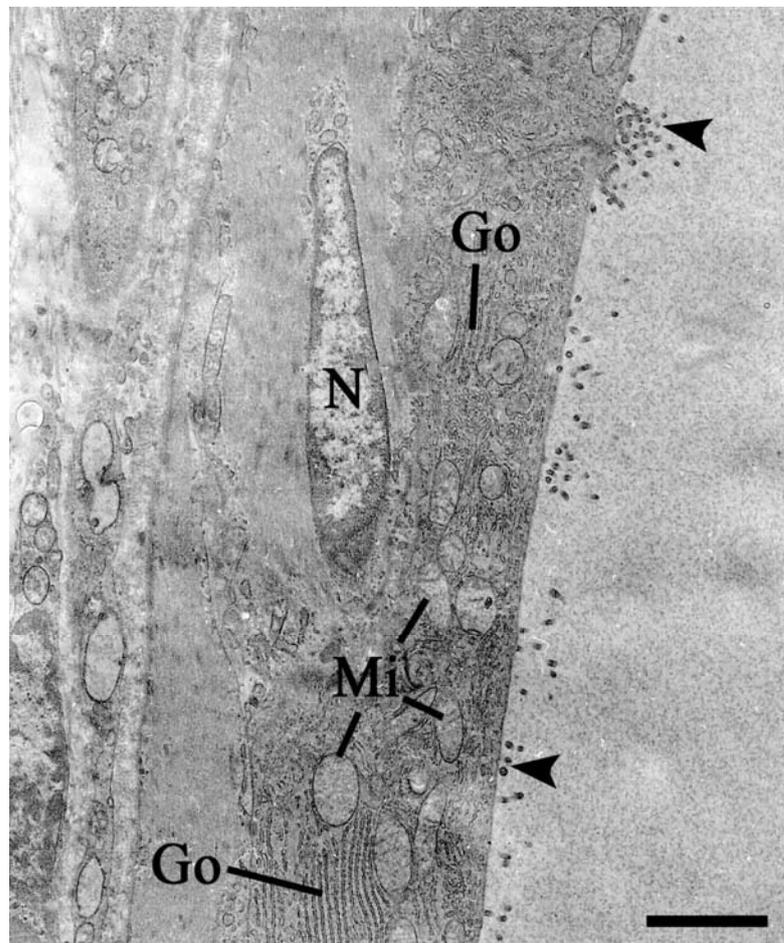


Im äußeren Bereich der Talgdrüsenanlage werden die sekretorischen Zellen (TD) von den Basalzellen (BZ) umgeben. Zwischen ihnen sind ab diesem Entwicklungsstadium häufig Lymphozyten (Lz) zu erkennen. Das hier dargestellte Präparat zeigt einen eingebuchteten Zellkern. Unter den Zellorganellen sind hier elektronendichte Ansammlungen von Ribosomen (Polysomen), Mitochondrien und Anteile des Golgi-Apparates zu sehen. Die Zellmembran weist Pseudopodien auf, die in die Interzellularräume der Basalzellen reichen. SB: 2  $\mu\text{m}$

#### 4.7. Ultrastruktur der Haut eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm

In der Ultrastruktur der Haut des Fetus mit der SSL 94,5 cm fällt als wesentliche Änderung im Entwicklungsverlauf die Struktur des Schweißdrüsenendstückes auf. Der Golgi-Apparat ist in den zentralen Zellen extrem stark ausgebildet. Außerdem hat die Anzahl der Mitochondrien im Vergleich zu den vorhergehenden Entwicklungsstadien zugenommen. Die Sekretion äußert sich in zahlreichen Abschnürungen der apikalen Zellmembran. Es sind keine Sekretansammlungen im Zytoplasma erkennbar. Im Bereich der äußeren Zelllage ist das Aussehen des Zytoplasmas wesentlich homogener. Dies ist durch die zahlreichen Myofilamenten der myoepithelialen Zellen bedingt. Es kommen weiterhin Desmosomen zwischen den Zellen des Epithels und Hemidesmosomen zwischen den myoepithelialen Zellen und der Basalmembran vor (Abbildung 89).

**Abbildung 89: Schweißdrüsenendstück eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)**

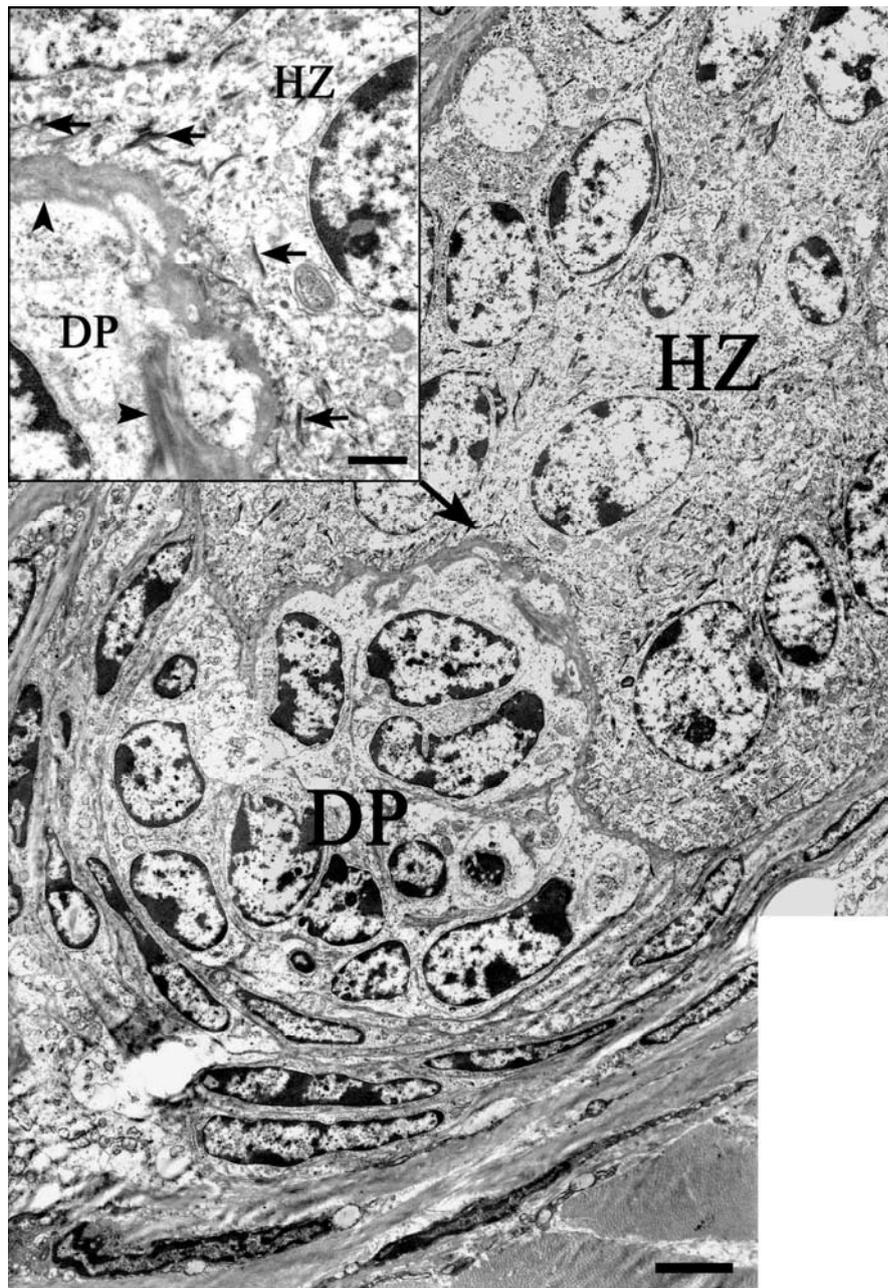


Die Schweißdrüse zeigt in ihrem Endstück in den zentralen Zellen, die nun eine flache Form angenommen haben, einen gut ausgebildeten Golgi-Apparat (Go) und zahlreiche Mitochondrien (Mi). An der apikalen Zellmembran kommt es zur Abschnürung zahlreicher Vesikel (Pfeilspitzen). Der hier sichtbare Zellkern (N) gehört zu einer myoepithelialen Zelle, die das sekretorische Epithel unterlagert. Ihr Zytoplasma erscheint auf Grund der Myofilamente, die die Zelle fast vollständig ausfüllen sehr homogen. SB: 2 µm

#### **4.8. Ultrastruktur der Haut eines neun Tage alten Kalbes**

In den Hautproben des neun Tage alten Kalbes sind ultrastrukturell einige Haaranlagen im Katagen des Haarzyklus zu beobachten. Die Haarzwiebeln dieser Haarfollikel haben ihre verschiedenen Differenzierungszonen verloren. Gebildet werden die Haarzwiebeln von Zellen, die eine ähnliche Morphologie wie die bisher beschriebenen Zellen der äußeren Haarwurzelscheide aufweisen. Sie beinhalten in ihrem Zytoplasma viele Bündel von Tonofilamenten, die vorwiegend von den Desmosomen, die die Zellen miteinander verbinden, in das Zytoplasma einstrahlen. Besonders auffällig ist, dass an Stelle der Basalmembran eine Verdichtung der extrazellulären Matrix durch kollagene Fasern getreten ist. Dies dürfte, die für den Zellzyklus wesentliche Kommunikation zwischen den Zellen der dermalen Papille und den angrenzenden Zellen der Haarzwiebel wesentlich beeinflussen. Die dermale Papille besteht weiterhin aus polymorphen Zellen, die von spindelförmigen Zellen der dermalen Haarwurzelscheide umgeben werden.

**Abbildung 90: Haarzwiebel mit dermaler Papille eines neun Tage alten Kalbes im Katagen des Haarzyklus (Hautareal: ventraler Rumpf)**



Deutlich erkennbar umfasst die Haarzwiebel (HZ) die dermale Papille (DP) im Katagen nur noch unvollständig. In der Haarzwiebel selbst sind keine Differenzierungszonen mehr erkennbar und auch Matrixzellen können nicht mehr abgegrenzt werden. Die Zellen haben vielmehr die Morphologie der äußeren Haarwurzelscheide eines Haarfollikels im Anagen des Haarzyklus (Abbildung 79). Allerdings enthalten die Zellen wesentlich mehr Filamentbündel, die vor allem von den Desmosomalen Verbindungen aus einstrahlen (Detail Pfeile). Eine wichtige Veränderung ist im Bereich zwischen dermaler Papille und Haarzwiebel zu beobachten, wo sich nun die Basalmembran nicht sicher von der übrigen, stark verdichteten extrazellulären Matrix abgrenzen lässt. SB (Übersicht): 4µm, SB (Detail): 1 µm

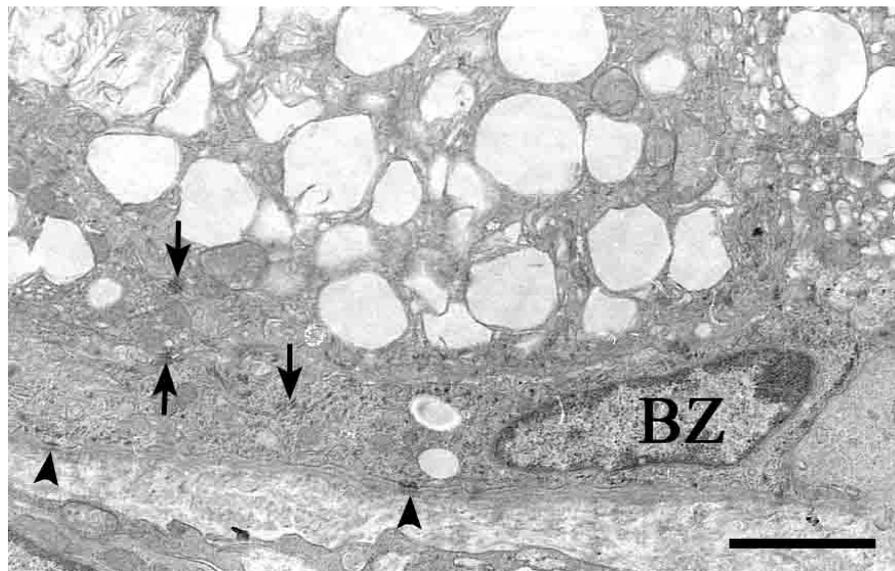
#### **4.9. Ultrastruktur der Haut eines 20 Monate alten Rindes**

Die Haut zeigt im Bereich der Haarfollikel auf Höhe des Isthmus, bis auf eine erhöhte Anzahl an Interdigitationen der Zellmembranen der äußeren Haarwurzelscheide, keine wesentlichen Unterschiede zu denen des Fetus mit der SSL 67,8cm (Abbildung 82, Abbildung 91, Abbildung 94). In den Schweißdrüsenausführungsgängen entspricht die Ultrastruktur weitgehend der des Fetus mit der SSL 80,5 cm (Abbildung 87, Abbildung 91, Abbildung 93). Hier sind lediglich zwei Veränderungen zu beobachten. Zum einen treten hier im Vergleich zur fetalen Haut mehr Interdigitationen auf, zum anderen fällt die durch zahlreiche Hemidesmosomen mit den Zellen assoziierte Basalmembran durch viele elektronendichte Intermediär- und Ankerfilamente auf (Abbildung 93). Auch die Ultrastruktur der Talgdrüsenanlage erfährt, verglichen mit der fetalen Haut (SSL 80,5 cm), nun eine deutliche Veränderung. Partiiell können jetzt auch in basal gelegenen Reservezellen Lipidtropfen im Zytoplasma beobachtet werden (Abbildung 88, Abbildung 92).

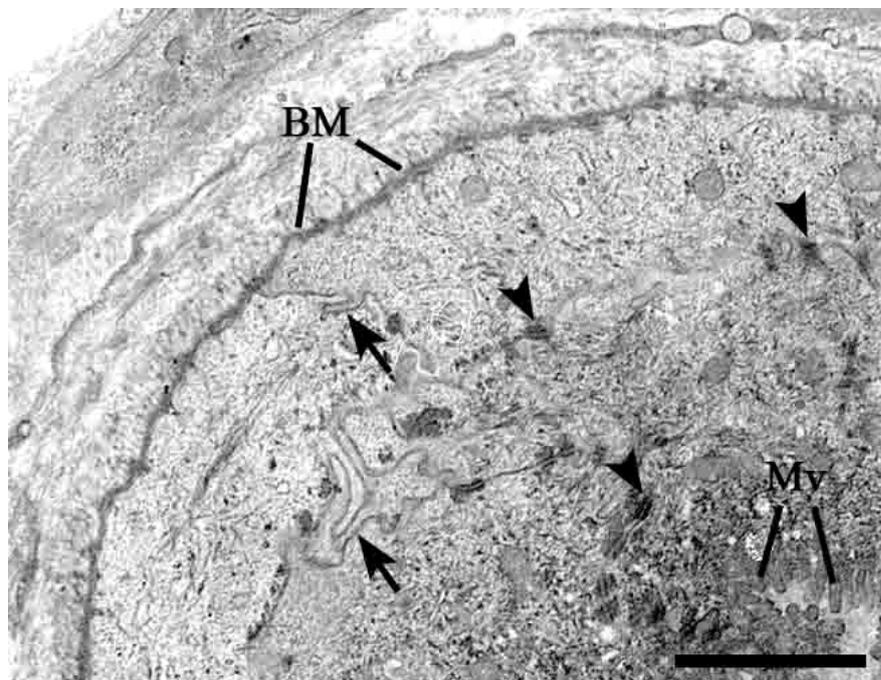
**Abbildung 91: Übersicht über eine Talgdrüse, einen Schweißdrüsenausführungsgang und eine Haaranlage eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Im oberen Bereich des Bildes ist ein Ausschnitt aus einer Talgdrüsenanlage (TD) mit sekretorischen Zellen und darunter gelegenen Basalzellen zu sehen. In der Mitte des Bildes ist der Ausführungsgang einer Schweißdrüse (SD) dargestellt, dessen Lumen von den Mikrovilli der Epithelzellen nahezu vollständig ausgefüllt wird. Der darunter liegende Abschnitt eines Haarfollikels (HA) stammt aus dem Bereich des Isthmus, in dem die innere Haarwurzelscheide bereits vollständig keratinisiert ist. SB: 2  $\mu$ m

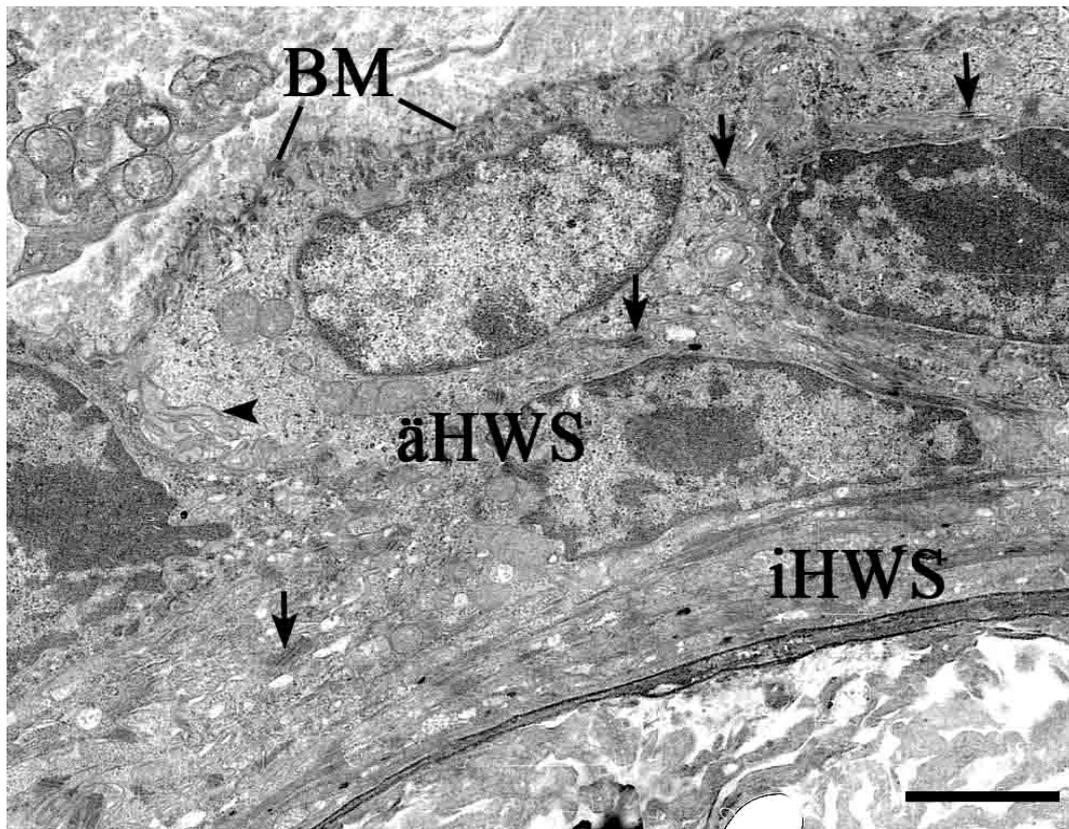
**Abbildung 92: Talgdrüse eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße)**

Die sekretorischen Zellen der Talgdrüse sind untereinander sowie mit den Basalzellen über Desmosomen verbunden (Pfeile). Die Basalzellen, die ebenfalls einzelne Lipidtropfen aufweisen können, haben über Halbdessmosomen Kontakt zur Basalmembran (Pfeilspitzen). SB: 2  $\mu\text{m}$

**Abbildung 93: Schweißdrüsenausführungsgang eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße)**

Das Lumen des Schweißdrüsenausführungsganges ist mit zahlreichen Mikrovilli (Mv) ausgekleidet, die von den apikalen Zellmembranen der Epithelzellen gebildet werden. Zahlreiche Desmosomen verbinden die Epithelzellen der zwei Zellschichten miteinander, ebenso wie die Zellen ein und derselben Zellschicht. Außerdem bestehen zahlreiche Interdigitationen, die zu einer Verzahnung der Zellmembranen führen (Pfeile). Besonders auffällig ist die Verbindung der äußeren Zellschicht über zahlreiche Halbdessmosomen mit der Basalmembran (BM), da diese mit einem außergewöhnlich hohen Aufkommen an Ankerfilamenten und Intermediärfilamenten einhergeht, die zu einer hohen Elektronendichte in diesem Bereich führen. SB: 2  $\mu\text{m}$

**Abbildung 94: Haarfollikel eines 20 Monate alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße)**

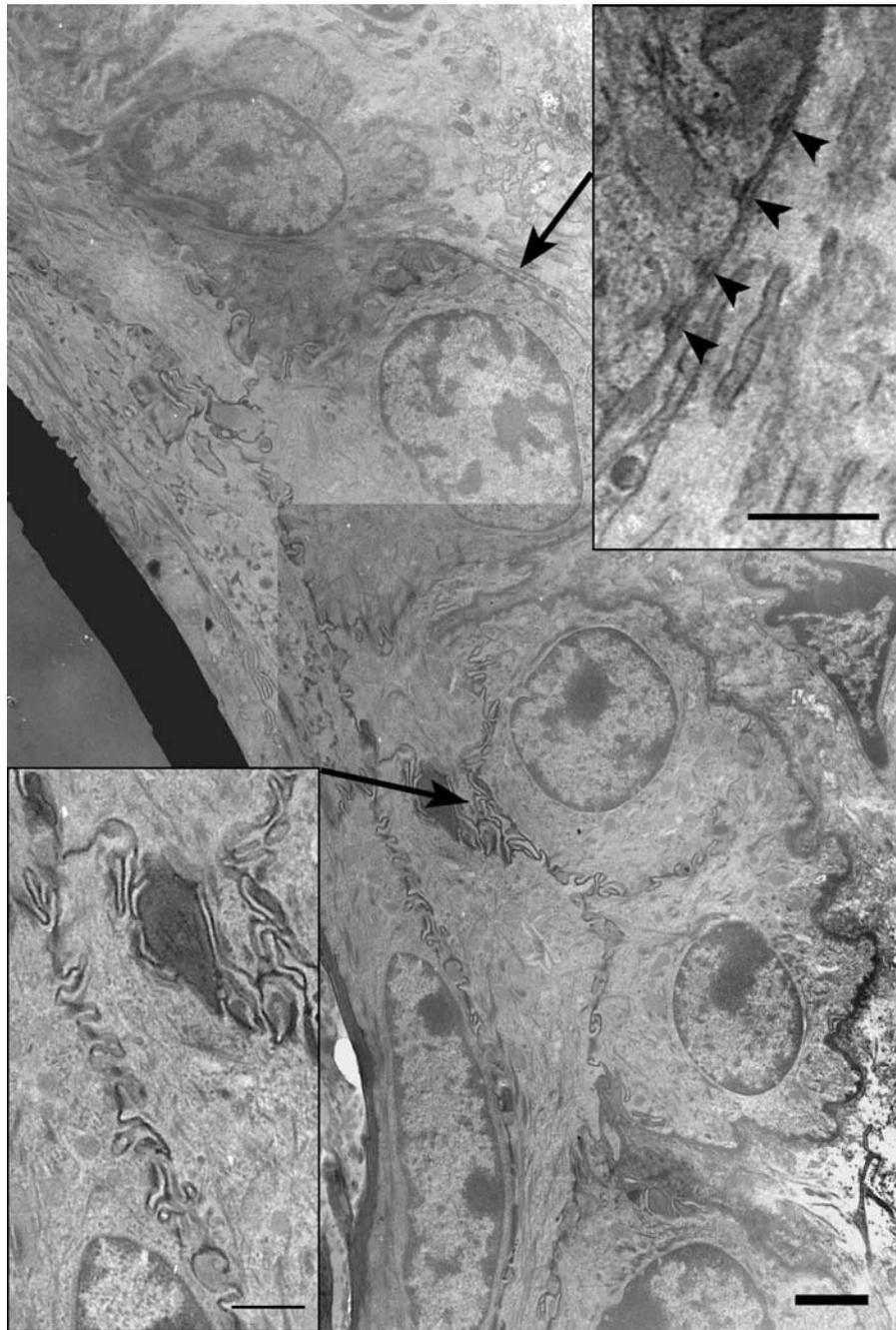


Vergleicht man die Ultrastruktur des Isthmus bei einem 20 Monate alten Rind mit der des Fetus mit der SSL 67,8 cm (Abbildung 82), so sind bis auf die nun ausgebildeten Interdigitationen der Zellmembranen der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) (Pfeilspitze) keine wesentlichen Unterschiede zu erkennen. Auch hier ist die innere Haarwurzelscheide (iHWS) vollständig keratinisiert, es bestehen desmosomale Verbindungen (Pfeile) zwischen den Zellen des Haarfollikels und Hemidesmosomen zwischen den äußeren Zellen der äußeren Haarwurzelscheide und der Basalmembran (BM). SB: 2  $\mu$ m

#### **4.10. Ultrastruktur der Haut eines 4,5 Jahre alten Rindes**

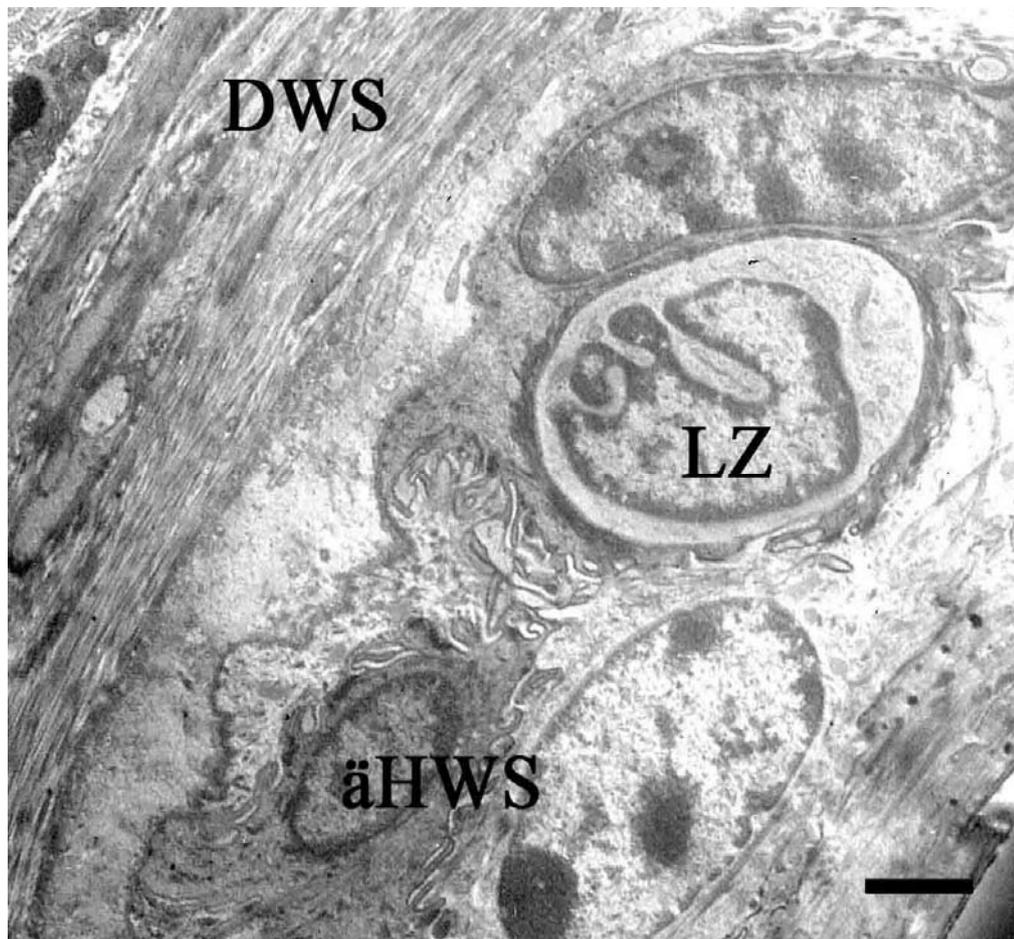
Es lassen sich in der Haut eines 4,5 Jahre alten Tieres ultrastrukturell einige wenige Veränderungen im Vergleich zu einem 20 Monate alten Tier beobachten. Besonders auffällig ist die Struktur der äußeren Haarwurzelscheide, die im Bereich des Isthmus des Haarfollikels untersucht wurde. Die Zellen der äußeren Zellschicht der zweischichtigen äußeren Haarwurzelscheide sind annähernd isoprismatisch. Allerdings ist ihre Zelloberfläche sehr unregelmäßig. An der basalen Zellseite äußert sich dies durch ein stachelartiges Aussehen, ansonsten bilden die Zellmembranen extrem starke Einfaltungen aus. Die äußere Zellschicht weist weiterhin viele Hemidesmosomen zur Verbindung mit Basalmembran auf. Auch zu benachbarten Zellen besteht eine Oberflächenvergrößerung und Verzahnung mit den angrenzenden Zellen in Form von Interdigitationen. Der inneren und äußeren Zellschicht der äußeren Haarwurzelscheide ist gemein, dass ihr Zytoplasma von vielen Tonofilamenten durchzogen wird und ihre Zellkerne ein bis zwei Nukleoli aufweisen (Abbildung 95). Des Öfteren können im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide auch Zellen beobachtet werden, die durch ihren gelappten Zellkern, ihr wenig elektronendichtes Zytoplasma und den fehlenden Kontaktstrukturen zu den umgebenden Keratinozyten den Schluss nahe legen, dass es sich hierbei um Langerhans-Zellen handelt. Sie können in dieser Lokalisation über den immunhistochemischen Nachweis von Vimentin sichtbar gemacht werden (Abbildung 96).

**Abbildung 95: Haarfollikel eines 4,5 Jahre alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Die äußere Haarwurzelscheide besteht weiterhin aus zwei Zellschichten. Die äußere Zellschicht ist charakterisiert durch eine nahezu isoprismatische Form der Zellen und weist viele Einziehungen der basalen Zellmembran auf (Unteres Inset). Diese ist über Hemidesmosomen mit der Basalmembran verbunden (Pfeilspitzen oberes Inset). Die innere Zellschicht besteht aus flachen Zellen. Beiden Schichten ist gemeinsam, dass die Zellmembranen ausgesprochen starke Digitationen ausbilden. Das Zytoplasma enthält viele Intermediärfilamente. SB (Übersicht): 2  $\mu$ m, SB (Details): 1  $\mu$ m

**Abbildung 96: Haarfollikel eines 4,5 Jahre alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße)**



Im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide (äHWS) sind vereinzelt Langerhanszellen (LZ) zu finden. Sie enthalten einen stark gelappten Zellkern, wenig elektronendichtes Zytoplasma und gelegentlich schon die spezifische Birbeck-Granula, die eine tennisschlägerartige Form aufweisen. DWS: Dermale Haarwurzelscheide), SB: 2  $\mu$ m

## V. DISKUSSION

Im Rahmen meiner Arbeit habe ich die Histomorphologie, die Ultrastruktur sowie immunhistochemische und glykohistochemische Veränderungen in der fetalen bovinen Haut untersucht. Hierfür habe ich die Haut von 29 bovinen Feten an jeweils fünf verschiedenen Hautarealen entnommen (Scheitel, dorsaler Rumpf, ventraler Rumpf, Vordergliedmaße und Hintergliedmaße). Ein wichtiger Grund für die Wahl dieser Entnahmestellen war, dass die pränatale Entwicklung der Haaranlagen in cephalo-caudaler Richtung verläuft (HOLBROOK & ODLAND, 1978). Hiermit wurde eine engmaschige Abdeckung der verschiedenen fetalen Entwicklungsstadien von Haut, Haaren und Hautdrüsen erreicht. Besonders für die Entwicklung des Haarwulstes, einer Struktur der Haaranlage, die als potentielle Stammzellregion in den letzten Jahren besonderes Interesse gefunden hat, hat dieses Vorgehen eine detaillierte Betrachtung der Histomorphologie und den jeweils zugehörigen Veränderungen im Rest der Haaranlage ermöglicht. Dies erschien mir besonders wichtig, da wie erwähnt, die Region des Haarwulstes eine wichtige Nische potentieller epidermaler Stammzellen ist, die das komplexe Zusammenspiel der unterschiedlichen Anteile des Haarfollikels erst ermöglichen und essentiell für die Haarentwicklung und den darauf folgenden Haarzyklus sind. Zusätzlich zu den fetalen Proben wurde auch Haut von drei Kälbern und drei adulten Tieren untersucht um die Entwicklung von Haut und Haaren bis zu ihrem weiterhin ausgesprochen dynamischen „Ende“ zu verfolgen. Die folgende Diskussion meiner Ergebnisse beschäftigt sich mit den Schwerpunkten der Entwicklung der Epidermis und der Haarfollikel.

## 1. Diskussion der histomorphologischen und ultrastrukturellen Untersuchungen

Ultrastrukturelle Untersuchungen der fetalen Epidermis wurden mit Hilfe der Transmissionselektronen-Mikroskopie von HASHIMOTO et al. (1966) und HOLBROOK & MINAMI (1991) an humanem Gewebe durchgeführt. Die Resultate korrespondieren mit den Ergebnissen meiner Arbeit, vor allem hinsichtlich der grundsätzlichen funktionellen Veränderungen, die während der fetalen Entwicklung zu einer physiologisch funktionellen Oberhaut führen. Wie bei dem von mir ultrastrukturell untersuchten kleinsten Fetus mit einer SSL 10,5 cm ist die Epidermis in den Untersuchungen von HASHIMOTO et al. (1966) bei einem 12 Wochen alten humanen Embryo gekennzeichnet durch Glykogenansammlungen, die sich im Bereich des Stratum basale im Wesentlichen in vergrößerten Interzellularspalten beobachten lassen, wobei diese in der humanen fetalen Haut ausgeprägter und häufiger als beim Rind auftreten. Desmosomen sind sowohl in der humanen wie auch in der bovinen Haut sehr häufig. An ihnen inserieren Tonofilamente, die in das Innere der Zellen ziehen (CHIDGEY, 1997). Im Bereich des Stratum spinosum beschreibt PROST-SQUARCONI (2006) das verstärkte Auftreten von Tonofilamenten an den Desmosomen sehr treffend mit einem dornenartigen Aussehen und bezeichnet die Desmosomen im Bereich des Stratum corneum als Corneodesmosomen. Das Stratum intermedium beinhaltet sowohl in den humanen wie auch in den bovinen Gewebeproben stärkere intrazelluläre Glykogenansammlungen als im Stratum basale. HASHIMOTO et al. (1966) beschreiben insbesondere eine perinukleäre Glykogenansammlung im Stratum intermedium. Dies habe ich bei meinen Untersuchungen nicht beobachten können. Das Glykogen ist im bovinen Stratum intermedium vielmehr gleichmäßig im gesamten Zytoplasma verteilt. Auch BREATHNACH & SMITH (1968) beobachteten vermehrte Glykogenansammlungen im Bereich des Stratum intermedium im Vergleich zu den Zellen des Stratum basale. Die Ultrastruktur des bovinen fetalen Periderms unterscheidet sich geringfügig von der des humanen Periderms. Die von HASHIMOTO et al. (1966) beschriebenen zahlreichen Mikrovilli an der apikalen Zellmembran des Periderms konnten im bovinen Gewebe nicht in diesem Umfang beobachtet werden. Auch globuläre Protrusionen wie sie von HOYES (1968) und BREATHNACH & SMITH (1968) im Verlauf der humanen epidermalen Fetalentwicklung gesehen werden, sind beim Rind nicht zu finden. BONNEVILLE (1968) beschreibt die Persistenz des Periderms ohne jegliche Anzeichen einer Verhornung während der gesamten Fetalentwicklung der Epidermis der Ratte und dessen große ultrastrukturelle Ähnlichkeit mit dem Amnionepithel, die vor allem in den ausgeprägten villusartigen und zum Teil verzweigten Oberflächenbildungen der apikalen Zellmembran besteht. Auch Untersuchungen am Periderm der Maus lassen darauf schließen, dass das Periderm bei dieser Tierart bis kurz vor der Geburt erhalten bleibt (DUBRUL, 1972). Einer Entwicklung des Stratum corneum aus Zellen des Periderms bei der Maus, wie sie von BRODY & LARSSON (1965) beschrieben wird, widersprechen die Beobachtungen von DUBRUL (1972), die auf eine Entwicklung aus dem Stratum granulosum schließen lassen. Sogenannte „lipid-like“-Granula, die zunächst im Stratum granulosum und später in den Zellen des Stratum corneum gefunden werden, jedoch niemals im Periderm zu

beobachten sind, stützen diese These (DUBRUL, 1972). Weiterhin postuliert DUBRUL (1972) zwei verschiedene Zelltypen in dem ein- bis zweischichtigen Periderm der Maus. Während der eine Zelltyp ein relativ elektronendichtes Zytoplasma aufgrund vieler dichter Partikel aufweist, ist der andere Zelltyp durch ein helles Zytoplasma mit nur wenigen Partikeln gekennzeichnet. Dagegen spricht BONNEVILLE (1968) lediglich von einem einschichtigen Periderm der Ratte, welches einen einheitlichen Zelltyp beinhaltet. Auch im Rahmen meiner Arbeit konnten keine Hinweise auf eine Verhornung oder auf verschiedene Typen von Zellen des Periderms gefunden werden. Allerdings scheint auch hier das Periderm zumindest teilweise mehrschichtig zu sein, wie morphologisch ähnliche, übereinander liegende und über Desmosomen miteinander verbundene Zellen in diesem Bereich belegen. Bei dem Fetus mit der SSL 80,5 cm ist, abhängig vom Hautareal, ein deutlich ausgebildetes Stratum corneum und ein fehlendes Periderm oder ein fehlendes Stratum corneum mit ausgebildetem Periderm erkennbar. In letzterem Fall, also kurz vor Bildung des Stratum corneum, weisen stark erweiterte Interzellularräume zwischen Periderm und unterlagernden Zellen sowie fehlende Anzeichen einer peridermalen Verhornung auf die bevorstehende Ablösung des Periderms von der Epidermis hin. An dessen Stelle tritt das Stratum corneum, welches offensichtlich aus den apikalen Bereichen der fetalen Epidermis gebildet wird. Auch LYNE & HOLLIS (1972) beschreiben eine Ablösung des Periderms zum Zeitpunkt des Haaraustritts aus der Epidermis bei der fetalen Haut des Schafes. HASHIMOTO et al. (1966) beobachteten in der humanen fetalen Haut eine partielle Keratinisierung des Periderms bei 14-16 Wochen alten Feten und stellen die Hypothese auf, das Periderm sei eine Entwicklung aus dem Stratum intermedium. In Untersuchungen zur Morphogenese der Epidermis des Schweins stellen MEYER et al. (1986) fest, dass bei dieser Tierart kurz vor der Geburt eine Ablösung des Stratum intermedium sowie des Periderms von dem sich darunter entwickelnden Stratum corneum stattfindet. Dem geht eine Anreicherung des Zytoplasmas dieser Zellschichten mit zahlreichen Filamenten voraus. Auch beim Schwein treten keine, wie beim Menschen beobachtete globuläre Protrusionen des Periderms auf.

Mir erscheinen die Unterschiede in der Ultrastruktur des Periderms zwischen den einzelnen Spezies ein interessanter Ansatz für weitere ultrastrukturelle Untersuchungen zu bieten, da es als äußerste Grenzschicht des Fetus eine wichtige Funktion für Stoffaustauschvorgänge mit der Amnionflüssigkeit wahrnimmt. Zudem wären weitere vergleichende Untersuchungen zwischen dem Amnionepithel und dem Periderm interessant, um die morphologische Basis für bekannte Funktionsunterschiede zwischen diesen beiden ektodermal abgeleiteten Epithelien genauer zu definieren.

Der Zeitpunkt des Einsetzens der Haarfollikelentwicklung wird beim humanen Fetus zwischen der neunten und 12. Woche der Gravidität (MULLER et al., 1991) bzw. um den Tag 80 beschrieben (HOLBROOK & MINAMI, 1991). Da die Dauer der Gravidität bei Mensch und Rind von ähnlicher Länge ist, kann ein direkter Vergleich zum zeitlichen Ablauf der bovinen Hautentwicklung gezogen werden. Auch hier liegt der Zeitraum des Entwicklungsbeginns der Haaranlagen im gleichen Zeitfenster der Gravidität (dritter Monat der Gestation). In einem weiteren wichtigen Punkt stimmt der Ablauf der bovinen Haarentwicklung mit der des Menschen überein: Sie verläuft in cephalo-caudaler Richtung (HOLBROOK & ODLAND, 1978), ebenso wie der Haarzyklus (ALONSO & FUCHS, 2006), der bei der bovinen Haut noch während der späten Fetalentwicklung vom Anagen ins Katagenstadium wechselt. Die frühe Entwicklung der Haaranlage wird von BREATHNACH & SMITH (1968) beim humanen Fetus beschrieben. Es werden im frühen Stadium des Vorkeims keine deutlichen ultrastrukturellen Unterschiede zu den interfollikulären Zellen des Stratum basale festgestellt. Im Stadium des Haarkeims beschreiben die Autoren eine Ähnlichkeit der basalen Haarkeimzellen mit den Zellen des Stratum basale. Die suprabasalen Zellen des Haarkeims weisen im Vergleich hierzu einen verringerten Glykogengehalt bei erhöhtem Mitochondriengehalt auf. Im weiteren Entwicklungsverlauf der humanen fetalen Haaranlagen werden, wie auch ich es im bovinen Gewebe beobachtet habe, die äußeren Zellen des Haarzapfens als säulenförmig und quer zur Längsachse der Haaranlage ausgerichtet, beschrieben (ROBINS & BREATHNACH, 1968). Auch die sich nun bildende dermale Haarwurzelscheide, die aus zwei bis drei Zelllagen aufgebaut ist und am distalen Ende der Haaranlage in die dermale Präpapille übergeht, wurde im Rahmen meiner Arbeit in dieser Form beobachtet. Weitere Gemeinsamkeiten der humanen und bovinen Haarfollikelentwicklung sind die rundlichen zentralen Zellen, zwischen denen vor allem im distalen Anteil des Haarzapfens erweiterte Interzellularspalten zu beobachten sind. Dies konnte bei der bovinen Haaranlagenentwicklung bei einem Fetus mit der SSL von 25,5 cm festgestellt werden. Bereits STÖHR (1903) stellte während der Entwicklung des menschlichen Haares eine wulstförmige Vorwölbung im mittleren Bereich der Haaranlage fest, die den Ansatzpunkt für den Musculus arrector pili darstellt. Er stellte die These auf, dass es durch den Zug des Haarmuskels zu der Vorwölbung in diesem Bereich kommt. STÖHR (1903) hat auch den Ausdruck „Haarwulst“ geprägt, der als „Bulge“ ins Englische übersetzt wurde. Im Deutschen findet sich auch der Begriff des Haarbeets, der ebenfalls auf STÖHR (1903) zurück geht. Als Haarwulst bezeichnete er die Vorwölbung im mittleren Bereich der Haaranlage während der Fetalentwicklung des Haares. Aus ihm bildet sich erst während des ersten Haarzyklus im Telogen das sogenannte Haarbeet, in dessen Nähe das Kolbenhaar distal endet. Der Ausdruck „Bulge“ unterscheidet nicht zwischen den unterschiedlichen Stadien der Entwicklung. Untersuchungen zur Haarentwicklung des Meerschweinchens widerlegen die Hypothese Stöhrs zur Entwicklung des Haarwulstes jedoch, da sich hier Haaranlagen mit Ausbildung von Haarwülsten finden, die nicht mit Haarmuskeln assoziiert sind (SEGALL, 1918). ROBINS & BREATHNACH (1968) stellen in der humanen Haaranlage im frühen Stadium des Bulbuszapfens zwei bis drei

Verdickungen am Haarfollikel fest. Sie ordnen die am weitesten distal gelegene Verdickung dem Haarwulst zu. Die zentral (wenn drei Verdickungen vorhanden sind) oder die proximal lokalisierte (wenn zwei Verdickungen vorhanden sind) ist als Talgdrüsenanlage definiert, und die oberste (bei drei Verdickungen) als Schweißdrüsenanlage. Im Rahmen meiner Arbeit konnte ich ebenfalls bei Feten mit einer SSL von 34,0 cm und 64,8 cm derartige Anschwellungen beobachten. Allerdings stimmen meine Beobachtungen bei der bovinen Haut mit der oben beschriebenen funktionellen Zuordnung der verschiedenen Bereiche dieser Zubildungen nicht überein. Zunächst bildet sich aus der ersten Vorwölbung, die im proximalen Abschnitt der Haaranlage entsteht, die Schweißdrüsenanlage, die nun schlauchartig bis auf die Höhe knapp oberhalb der Haarzwiebel vorwächst. Erst dann erscheint fast zeitgleich am distalen bis mittleren Abschnitt eine weitere Vorwölbung, während sich im proximalen Bereich knapp unterhalb der Einmündung des Schweißdrüsenausführungsganges in den Haarfollikel die Talgdrüsenanlage mit den typischen großen runden holokrinen Drüsenzellen erkennen lässt. Erst jetzt, zu einem Zeitpunkt, an dem die Drüsenanlagen bereits deutlich angelegt sind, konnte im Rahmen meiner Arbeit eine Vergrößerung des Haarwulstes mit einer darauf folgenden Unterteilung in zwei bis drei Anteile beobachtet werden, wobei die beiden oberen Anteile Ansatzpunkte für den *Musculus arrector pili* bieten, während die Zellen des unteren Anteils morphologisch große Ähnlichkeit mit den Zellen der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide haben. Es ist sicherlich von Bedeutung, dass der Haarwulst in dem Entwicklungsstadium, bei dem die Bildung des Haarkegels, die die eigentliche Entwicklung der inneren Haarwurzelscheide und es Haares initiiert, am prominentesten ausgebildet ist. Diesen zeitlichen Zusammenhang beschreibt bereits SEGALL (1918) bei der Haarentwicklung des Meerschweinchens. Interessant ist die Beobachtung von BACKMUND (1904), der bei der Haarentwicklung der Katze keinerlei Anzeichen für eine Haarwulstbildung findet. Diese Aussage wird von SEGALL (1918) angezweifelt und auch STIEDA (1910) erwähnt im Gegensatz zu BACKMUND (1904) einen Haarwulst bei der Katze. Bei der Ratte wird ein besonders ausgeprägter Haarwulst erst in einem Stadium beschrieben in dem bereits eine vollentwickelte innere Haarwurzelscheide vorliegt (FRASER, 1928; DANEEL, 1931). Wie bereits von STÖHR (1903) am humanen Gewebe und BACKMUND (1904) an der felines Haut beschrieben, zeigen die Zellen der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide lichtmikroskopisch ein sehr helles Zytoplasma und in Richtung zentrale Zellen der Haaranlage verschobene Zellkerne. Im Unterschied zu den Beobachtungen von STÖHR (1903) und BACKMUND (1904), die diese Veränderungen einem etwas späteren Entwicklungsstadium der Haaranlage mit bereits differenzierbaren Anteilen der inneren Haarwurzelscheide zuordnen, habe ich diese Morphologie der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide bereits ab dem früheren Stadium mit gerade beginnender Bildung eines Haarkegels festgestellt. Untersuchungen zur fetalen Entwicklung der bovinen Haut und Haare von LYNE & HEIDEMAN (1959) stimmen mit meinen Ergebnissen überein, berücksichtigen aber keine ultrastrukturellen Veränderungen während dieser Entwicklung. Die von diesen beiden Autoren beschriebenen paarweise auftretenden Haarfollikel konnten im Rahmen meiner Untersuchungen nur einmal beobachtet werden. Es ist allerdings zu beachten, dass die Wahrscheinlichkeit eines Längsanschnittes durch beide Haarfollikel und ihren gemeinsamen Haarkanal gering ist. Somit ist eine Quantifizierung des tatsächlichen Auftretens dieser Follikeltyps

nur schwer möglich.

Die Hypothese, dass eine Zellabwanderung im Bereich der äußeren Haarwurzelscheide vom Haarwulst aus abwärts Richtung Haarzwiebel erfolgt (REYNOLDS & JAHODA, 1991), kann aus den Beobachtungen im Rahmen meiner Arbeit unterstützt werden. Zum einen spricht der zeitliche Zusammenhang zwischen der Bildung des Haarkegels und der Abnahme der Größe des Haarwulstes, mit gleichzeitiger Dickenzunahme im Bereich der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide, für eine Zellbewegung vom Haarwulst abwärts zur Haarzwiebel, von der die Haarentwicklung ausgeht. Zum anderen wurden von mir auch im Rahmen der immunhistochemischen Untersuchungen Hinweise hierauf gefunden, die diese Annahme unterstützen.

Im weiteren Entwicklungsverlauf der Haaranlage kommt es zur Keratinisierung des Haarkegels, der als Vorstufe zur Bildung der inneren Haarwurzelscheide anzusehen ist. Dies hat bereits OYAMA (1903) in seinen Untersuchungen über die embryonale Entwicklung der Deckhaare der weißen Maus ausgeführt. In ausführlichen Studien an humanem Gewebe haben ROBINS & BREATHNACH (1970) die Keratinisierungsvorgänge im Stadium des frühen Bulbuszapfens beschrieben. Hier sind im humanen wie auch im bovinen Gewebe in den Zellen, die den Haarkegel bilden, Trichohyalingranula zu beobachten, die mit zahlreichen Tonofilamenten assoziiert sind. Eine weiterführende Untersuchung der Keratinisierungsvorgänge in der inneren Haarwurzelscheide und des Haarschafts wurde beim humanen Haarfollikel mit Hilfe von immunhistochemischen Untersuchungen verschiedene Epitope (AE15-17) von Trichohyalin untersucht (O'GUIN & MANABE, 1991). Das Ergebnis war Nachweis von drei verschiedenen Reifestadien des Trichohyalins während der Differenzierung der inneren Haarwurzelscheide. Vergleichbare Untersuchungen wurden im bovinen Gewebe noch nicht durchgeführt. Es fiel im Rahmen meiner Untersuchungen jedoch die unterschiedliche Elektronendichte von Trichohyalingranula im Bereich der inneren Haarwurzelscheide auf.

Die Entwicklung des Haarkanals wurde bereits bei einigen Spezies beschrieben, wobei die Anlage der Talgdrüsen hierbei im unterschiedlichen Maße berücksichtigt wurde. BACKMUND (1904) beschreibt an der fetalen Katzenhaut eine ähnliche Morphologie, wie sie auch an der bovinen Haut im Rahmen dieser Arbeit zu beobachten ist. Die Zellen, die den Haarkanal ausbilden zeigen mit dem Erreichen der epidermalen Oberfläche Anzeichen von Keratinisierung und bilden einen bogenförmigen Strang, der sich durch alle epidermalen Schichten zieht. Ein Zusammenhang mit Zellen der Talgdrüsenanlage wird von BACKMUND (1904) nicht ausdrücklich beschrieben. Beim Schaf werden Talgdrüsenzellen als Grundlage für die Haarkanalentwicklung genannt (MARKS, 1895). Deren Degeneration führt hiernach zur Bildung des Haarkanals um den Durchbruch der Haare durch die Epidermis zu ermöglichen.

Eine wichtige Rolle für die fetale Morphogenese der Haaranlage, wie auch für den Ablauf des Haarzyklus beim adulten Tier, spielen Interaktionen zwischen Dermis und Epidermis. Insbesondere die dermale Papille hat einen entscheidenden Einfluss auf die Entwicklung und das Wachstum der epidermalen Anteile der Haaranlage. Beschreibungen, die von einem ersten Signal subepidermaler

Zellaggregate als unabdingbaren Impuls für das Einsetzen der Zellproliferation zum Vorkeim im Stratum basale ausgehen (OLIVER, 1991), können im Rahmen meiner Arbeit insofern bestätigt werden, als die Bildung der dermalen Präpapille zeitlich unmittelbar mit dem Einsetzen der Haarentwicklung zusammen fällt. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch, dass die Alcianblaufärbung bei pH 2,5 zum Zeitpunkt der ersten Haarbildung im Bereich der dermalen Präpapille keine Anfärbung ergibt, während das umliegende Mesenchym deutlich angefärbt erscheint. Mit Alcianblau bei pH 2,5 werden saure Mukosubstanzen angefärbt, die in der dermalen Präpapille nicht mehr nachweisbar sind.

Während des Haarzyklus verändert sich die Beschaffenheit der dermalen und epidermalen Bestandteile der Haaranlage. NIXON (1993) beschreibt diese Veränderungen für jeden Abschnitt des Haarzyklus. Anhand dieser Ausführung lässt sich auch der Eintritt der Haaranlagen ins Katagen-Stadium, der einen dynamischen Übergang zwischen Anagen und Telogen darstellt (MULLER-ROVER et al., 2001), bei dem bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm erstmals nachweisen. Die innere Haarwurzelscheide lässt sich nun nicht mehr bis in die Haarzwiebel hinein nachverfolgen und ist aufgrund der Rotfärbung von keratinisierten Zellen in der Trichrom-Färbung nach Goldner jedoch gut entlang des Kolbenhaares bis kurz unterhalb der Talgdrüsenausführungsgänge zu erkennen. An der Haarzwiebel sind keine Differenzierungszonen mehr unterscheidbar. Außerdem ist der gesamte Haarfollikel verkürzt, was dazu führt, dass die dermale Papille nicht mehr von der Haarzwiebel umschlossen wird. An den bovinen Haaranlagen konnte im späten Anagen (Fetus mit der SSL 80,5 cm) in einem Teil der Haaranlagen eine Abknickung der Haarzwiebel mit einer suprabulbär verdickten äußeren Haarwurzelscheide beobachtet werden, die den Eindruck entstehen lässt, dass eine Zellbewegung in Richtung der Hautoberfläche stattfindet. JAHODA et al. (1992) beschreiben eine mehrschichtige und relativ dicke Basalmembran, die während des Telogens zwischen der dermalen Papille und dem distalen Bereich der Haaranlage ausgebildet ist. Diese Beobachtung konnte ich auch bei der Haut des neun Tage alten Kalbes machen. Hier war auch die dermale Haarwurzelscheide durch ihre extreme Dicke am distalen Ende des nun stark verkürzten Haarfollikels gekennzeichnet.

Untersuchungen zur Pigmentierung der Haaranlage beschreiben die auch beim Rind beobachtete Melanosomenabgabe zur Pigmentierung des Haarschaftes aus im Bereich der Matrix der Haarzwiebel lokalisierten Melanozyten (SLOMINSKI & PAUS, 1993; TOBIN & PAUS, 2001). Im Rahmen meiner Arbeit konnte dies besonders gut bei dem Fetus mit der SSL 64,8 cm festgestellt werden. Bei dem Fetus der SSL 67,8 cm waren viele dendritische Zellen im Bereich der Matrix der Haarzwiebel zu erkennen, die ihr Pigment an Zellen der Haarrinde und des Haarmarks abgegeben haben.

Zu den auch klinisch relevanten Beobachtungen zählt meines Erachtens die Beobachtung, dass es ab dem späten Fetalstadium mit einer SSL von 94,5 cm zu einem Auftreten von freien Zellen im Bereich der dermalen Papille, der dermalen Haarwurzelscheide und des subepidermalen Bindegewebes kommt. Eine weitere Differenzierung dieser Zellen, die sich teilweise mit Alcianblau bei pH 2,5 anfärben, könnte über immunhistochemische Methoden erfolgen und soll Teil meiner weiterführenden Untersuchungen sein.

## 2. Diskussion der immunhistochemischen Untersuchungen

In vitro Untersuchungen über Kollagen Typ IV, einer wichtigen Komponente der Basalmembran, ergaben, dass dieses Protein für die Adhäsion und das Wachstum von Keratinozyten besonders wichtig ist (KARASEK & CHARLTON, 1971; MURRAY et al., 1979; KUBO et al., 1987). Die von MESSENGER (1993) beschriebene Expression von Kollagen Typ IV in der dermalen Papille während des gesamten Haarzyklus in adulter humaner Haut konnte bei meinen Untersuchungen an der bovinen Haut nicht beobachtet werden. Das Vorkommen von Kollagen Typ IV beschränkt sich in der bovinen Haut auf die Basalmembran zwischen dermalen Papille und Matrixzellen der Haarzwiebel. Während des Wachstums des Haarzapfens in die Tiefe der Dermis kommt es zu einer deutlichen Abnahme der immunzytochemischen nachweisbaren Anfärbung des Kollagen IV. Weder in der fetalen noch in der adulten bovinen Haut war seine Expression in der dermalen Papille feststellbar. Die Expression von Laminin in diesem Gewebebereich konnte jedoch, wie auch von MESSENGER (1993) in humanem Gewebe festgestellt, in der bovinen fetalen Haut ab einer SSL von 23,8 cm beobachtet werden und bleibt im weiteren Entwicklungsverlauf bis zum adulten Tier erhalten. Auch Laminin gehört zu den Bestandteilen der Basalmembran. COMMO & BERNARD (1997) beschreiben eine Expression von Laminin in der Basalmembran der Haaranlage mit Ausnahme der Region der Haarzwiebel. Diese Beobachtung kann ich am bovinen Gewebe nicht teilen. Laminin ist in diesem Bereich stets nachweisbar.

Ein Gegenstand vieler Untersuchungen, insbesondere der letzten zehn Jahre, ist die Identifizierung von Markern für epidermale Stammzellen. Es wurden verschiedene Stammzellnischen epidermaler Anteile der Haut untersucht. Das interfollikuläre Stratum basale, der Haarwulst und in neuerer Zeit auch eine Nische, die oberhalb des Haarwulstes angesiedelt ist, wurden vor allem bei der Maus und beim Menschen charakterisiert. Für die bovine Haut lagen noch keinerlei Untersuchungen zu dieser Thematik vor. Mit Hilfe von immunhistochemischen Untersuchungen habe ich die Expression einiger Proteine in der bovinen Haut untersucht, die bei Mensch und Maus als wichtige Marker epithelialer Stammzellen gelten. Hierfür wurden, wie beschrieben, die Keratine 5, 8, 14, 15, 18 und 19 sowie die Proliferationsmarker Ki67 und der Transkriptionsfaktor p63 untersucht. Auf diese konzentriert sich im Wesentlichen die folgende Diskussion der immunhistochemischen Ergebnisse innerhalb der potentiellen epidermalen Stammzellnischen. Weitere Untersuchungsergebnisse anderer Autoren sind in der Literaturübersicht zu finden.

Im Stratum basale der Epidermis haben ISHIDA-YAMAMOTO et al. (2002) die Coexpression von Keratin 5, 14 und 15 festgestellt, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit, in der die Expression von Keratin 5 und 14 nachgewiesen wurde, übereinstimmt. Eine andere Studie beschreibt die bei der humanen fetalen Epidermis ab der 21. Gestationswoche auf das Stratum basale beschränkte Expression der potentiellen Stammzellmarker  $\beta$ 1-Integrin, Keratin 19 und p63 sowie dem Angiotensin-converting enzyme (LIU et al., 2009). Beim Rind war die Expression von Keratin 19 im Bereich der Epidermis nicht nur auf das Stratum basale beschränkt, sondern ließ sich auch im Stratum

spinosum nachweisen. Ähnlich fällt die Expression von Keratin 14 in der humanen fetalen Epidermis aus. Während in der initialen Entwicklungsphase alle Zellschichten eine Keratin 14 Expression erkennen lassen, bleibt bei fortgeschrittenen Stadien die Expression auf das Stratum basale beschränkt (LOURENCO et al., 2008). Auch dieses Intermediärfilament lässt sich in der bovinen Haut von Feten, Kälbern und adulten Tieren deutlich auch im Stratum spinosum nachweisen. Übereinstimmungen mit der frühen fetalen murinen Hautentwicklung zeigen sich auch in der Expression von Keratin 8 und Keratin 18 im Periderm (MOLL et al., 1982). Auch die Expression von Keratin 5 und Keratin 14 konnte sowohl in der murinen Epidermis (BYRNE et al., 1994) wie auch im Rahmen meiner Arbeit in der bovinen fetalen Epidermis nachgewiesen werden. Die Beobachtungen an adulter humaner Haut zur Expression von Keratin 14 stimmen partiell mit den Ergebnissen meiner Untersuchungen am bovinen Gewebe überein (LANE et al., 1991). Wie auch im humanen Gewebe angegeben, konnte ich eine Expression im Bereich des Stratum basale, des Stratum spinosum, der äußeren Haarwurzelscheide und der Talgdrüse beobachten. Allerdings unterscheidet sich das Expressionsmuster im Bereich der Schweißdrüsenanlagen. Im humanen Gewebe färbten sich lediglich die basalen Zellen an, im bovinen Gewebe sind alle Epithelzellen der Schweißdrüsenanlage durch eine Expression von Keratin 14 gekennzeichnet, wobei der Schweißdrüsenausführungsgang eine wesentlich stärkere Reaktion aufweist als das Endstück. Zu berücksichtigen ist bei diesem Vergleich jedoch, dass es sich in der Haut des Menschen um Drüsen mit ekkriner Sekretion handelt, bei der bovinen Haut jedoch eine apokrine Sekretion vorliegt. Somit sind die sekretorischen Zellen in ihren Eigenschaften nur bedingt vergleichbar.

In den basalen Zellen des Haarwulstes stellen LANE et al. (1991) eine Expression von Keratin 19 fest. Auch in der bovinen Haut konnte dies beobachtet werden, mit dem Unterschied, dass sich die Expression hier nicht nur auf die basalen Zellen des Haarwulstes beschränkt, sondern generalisiert in diesem Bereich anzutreffen ist. Eine wichtige Arbeit von AMOH et al. (2009b) differenziert zwischen offenbar unipotenten Stammzellen im Haarwulst und pluripotenten Stammzellen unmittelbar oberhalb der Wulstregion bei der Maus. Die Stammzellen des Haarwulstes sind Nestin-negativ und Keratin 15-positiv (AMOH et al., 2009b), die darüber lokalisierten Nestin-positiv und Keratin 15-negativ. In meiner Arbeit konnte ebenfalls im bovinen Haarwulst eine Expression von Keratin 15 aber auch Keratin 18 und 8 festgestellt werden, die in den darüber lokalisierten Zellen fehlt. Eine weitere wichtige Beobachtung in diesem Zusammenhang könnte sein, dass die Zellen knapp oberhalb des Haarwulstes eine auffällig starke Anfärbung bei der PAS-Reaktion zeigen, was sie von den umliegenden Zellen unterscheidet. Dies ist besonders gut bei dem Fetus mit einer SSL von 58,0 cm zu beobachten. AMOH et al. (2009a) beschreiben die Differenzierung humaner Nestin-positiver und Keratin 15-negativer Stammzellen zu Neuronen, Gliazellen, Keratinozyten und glatte Muskelzellen, während aus Zellen des Haarwulstes lediglich Keratinozyten abgeleitet werden konnten (BIERNASKIE, 2010). Es ist sicher von besonderem Interesse diese Zellen in weiterführenden Untersuchungen auch in der bovinen Haut auf eine Expression von Nestin, einem Intermediärfilament neuronaler Progenitorzellen (AMOH et al., 2009b) zu testen und somit Hinweise über deren

eventueller Pluripotenz zu erhalten. In älteren Untersuchungen beschreiben AMOH et al. (2005) bei der Maus Nestin-positive Zellen im Haarwulst. Auch YU et al. (2006) fanden Nestin-positive Zellen im humanen adulten Haarfollikel, die direkt im Haarwulst angesiedelt sind und Oct4 und Keratin 15 exprimieren. Neueste Studien beschreiben ebenfalls Nestin-positive „epidermal neural crest stem cells“ direkt in der Wulstregion (KREJCI & GRIM, 2010; YU et al., 2010). Des Weiteren wurden in einer früheren Studie in adulten murinen Haarfollikeln im Bereich des Isthmus ebenfalls Zellen beobachtet, die CD34- und Sca-1-negativ sind und sich somit sowohl von den Zellen des Haarwulstes (CD34-positiv) wie auch von den Zellen des übrigen Isthmus (Sca-positiv) unterscheiden (JENSEN et al., 2008). Die Zellen des humanen Haarwulstes wurden von zahlreichen weiteren Wissenschaftlern als Keratin 15-positiv beschrieben (LYLE et al., 1999; KLOEPPER et al., 2008; HOANG et al., 2009; SCHNEIDER et al., 2009; JAKS et al., 2010). Auch beim Hund konnte eine Expression von Keratin 15 und außerdem von CD34 in den Zellen des Haarwulstes beobachtet werden (KOBAYASHI et al., 2009). Die Untersuchung auf eine Expression von CD34 war im Rahmen meiner Arbeit nicht möglich, da für das bovine Gewebe keine geeigneten Antikörper zur Verfügung stehen. Über die Expression von CD34 im humanen Haarwulst bestehen unterschiedliche Meinungen. COTSARELIS (2006b) beschreibt die Expression von CD34 bei der Maus, während in den Zellen des Haarwulstes beim Menschen CD34 nicht nachgewiesen werden konnte. Andererseits wurde von einigen Autoren eine Expression von CD34 in der Wulstregion beschrieben (TREMUS et al., 2003; BLANPAIN et al., 2004), während den im Bereich des Isthmus gelegenen Sca1- und  $\alpha$ 6-Integrin-positiven Zellen CD34 fehlt (JAKS et al., 2010). Lgr5 ist ein weiterer Marker für Zellen des Haarwulstes beim Menschen. Er zeichnet sich dadurch aus, dass es zu einer Verschiebung der Expression während des Anagens aus dem Haarwulst in die Zellen der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide kommt (JAKS et al., 2008). Ein solcher Vorgang wurde beim Rind bei der Expression von Keratin 8 beobachtet. Weitere immunhistochemische Untersuchungen wurden zur Expression des Transkriptionsfaktors p63, des Intermediärfilamentes Keratin 5 und des Proliferationsmarkers Ki67 während der Embryonalentwicklung der Tasthaare der Maus durchgeführt (RUFINI et al., 2006) und führten zu dem Ergebnis, dass diese coexprimiert werden. Diese Beobachtung kann mit gewissen Einschränkungen für Keratin 5 und p63 auch für die Haar- und Hautentwicklung des Rindes bestätigt werden. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass für eine eindeutige Aussage eine Kolorisation mittels Mehrfachfluoreszenzuntersuchung notwendig ist. p63 spielt eine wichtige Rolle in der Erhaltung des proliferativen Potentials epithelialer Progenitorzellen (SENOO et al., 2007), aber auch in der terminalen Differenzierung epithelialer Zellen (BLANPAIN & FUCHS, 2007). Diese unterschiedlichen Funktionen von p63 werden durch seine zwei Isoformen ermöglicht (KOSTER et al., 2004; BLANPAIN & FUCHS, 2007). In der fetalen bovinen Haut konnte im Rahmen dieser Arbeit p63 im Bereich des Stratum basale, partiell im Stratum spinosum, der äußeren Haarwurzelscheide mit der Wulstregion und in den Matrixzellen der Haarzwiebel beobachtet werden. All diese Regionen wurden auch in der humanen Haut als Orte der p63-Expression beschrieben (PELLEGRINI et al., 2001; KOSTER et al., 2005). In vitro Untersuchungen an fetalen epidermalen Stammzellen der Ziege beschreiben diese ebenfalls als p63-, Keratin 19- und Keratin 15-positiv (ISLAM & ZHOU, 2007).

Auch in der bovinen Haut waren die Zellen des Haarwulstes und des Stratum basale Keratin 19-positiv. Allerdings kann Aufgrund der weit verbreiteten Expression von Keratin 19 in den epidermalen Anteilen der Haut nicht von einem Marker für bovine epidermale Stammzellen die Rede sein. KLOEPPER et al. (2008) beschreiben als positive Marker des humanen Haarwulstes Keratin 15, Keratin 19 und CD200. Eine Expression von CD34, Connexin43 und Nestin konnten sie nicht beobachten. Die Meinungen über die Expression von CD34 im humanen Haarwulst und somit eine Qualifizierung von CD34 als einen Marker epidermaler Stammzellen beim Menschen gehen also deutlich auseinander. So beschreiben POBLET & JIMENEZ (2008) eine Expression von CD34 in der äußeren Haarwurzelscheide von humanen anagenen adulten Haarfollikeln, nicht aber in fetalen Follikeln. Sie widersprechen der Aussage vieler Autoren, dass CD34 spezifisch an bestimmte Zelltypen des Haarfollikels gebunden sei und stellen fest, dass sowohl CD34 als auch CD10 abhängig vom Entwicklungsstadium und Haarzyklusstand in verschiedenen epidermalen und auch mesenchymalen Zellpopulationen des Haarfollikels anzutreffen ist. Auch INOUE et al. (2009) und JIANG et al. (2010) bestätigen zwar Keratin 15 und CD200 als Marker der Stammzellen des Haarwulstes, jedoch sehen sie keine Expression von CD34. Größere Übereinstimmung zwischen den Autoren bestehen hinsichtlich der CD34-Expression im Haarwulst der Maus. Nach den Angaben aller Untersucher ist das Protein regelmäßig in den Zellen dieses Haarfollikelbereiches anzutreffen (TREMPEUS et al., 2003; MYUNG et al., 2009).

Die Expression von Keratin 8 unterstützt die Hypothese von REYNOLDS & JAHODA (1991), dass es während der Haarentwicklung zu einer Zellbewegung aus dem Haarwulst in Richtung der Haarzwiebel kommt, wobei sich die Zellen entlang der suprabulbären äußeren Haarwurzelscheide bewegen. Keratin 8 wurde im Rahmen meiner Arbeit zunächst in der äußeren Haarwurzelscheide des späten Haarzapfens (vor Bildung des Haarkegels) auf Höhe des Haarwulstes festgestellt. Spätere Entwicklungsstadien zeigten diese Expression im suprabulbären und bulbären Bereich der äußeren Haarwurzelscheide, was den Eindruck entstehen lässt, dass die Verschiebung des Expressionsmusters mit der beschriebenen Zellbewegung in Zusammenhang steht und es sich bei den Keratin 8-positiven Zellen im suprabulbären und bulbären Bereich der äußeren Haarwurzelscheide um „transit-amplifying-cells (TAC)“ des Haarwulstes handelt, wie es auch von COTSARELIS et al. (1990) beschrieben wird.

Die äußere Haarwurzelscheide der humanen Haaranlage weist unterschiedliche Muster der Expression von Keratin 5, 6, 8, 14, 16, 17, 18 und 19 auf (BERNARD, 2006). Für die im Rahmen meiner Arbeit untersuchten Keratine 5, 8, 14, 18 und 19 kann diese Aussage auch für das bovine Gewebe bestätigt werden. Weiterhin beschreibt BERNARD (2006) eine deutliche Expression von Keratin 4 und 15 in den Zellen der Talgdrüsenanlage. Am bovinen Gewebe konnte ich in diesem Bereich kein Vorkommen von Keratin 15 nachweisen.

Zur Charakterisierung der dermalen Anteile des humanen Haarfollikels, nämlich der dermalen Haarwurzelscheide und der dermalen Papille, wurde die Aktivität der alkalischen Phosphatase, Versican,  $\alpha$ -Smooth muscle actin, Corin und CD133 untersucht (YANG & COTSARELIS, 2010). Im frühen Anagen erreicht ihre Aktivität ihr Maximum.  $\alpha$ -Smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), dessen Expression auch im Rahmen meiner Arbeit untersucht wurde, konnte bei Ratte und Mensch in der dermalen Haarwurzelscheide im mittleren und unteren Bereich des Haarfollikels beobachtet werden und in in vitro Untersuchungen auch in der dermalen Papille (JAHODA et al., 1991; YANG & COTSARELIS, 2010). Dieses Ergebnis stimmt mit meinen Untersuchungen zur Expression von  $\alpha$ -SMA in der Haut des Rindes überein. Ab dem Fetus mit der SSL 41,4 cm wurde eine positive Reaktion in der dermalen Haarwurzelscheide im bulbären und suprabulbären Bereich festgestellt, die sich im Verlauf der Entwicklung bis zum adulten Tier deutlich verstärkte.

Eine Darstellung von Langerhans-Zellen in der Epidermis, wie auch in den epithelialen Anteilen des Haarfollikels, konnte mit Hilfe von Vimentin erreicht werden, das als Intermediärfilament von Zellen mesenchymalen Ursprungs in diesen Antigen-präsentierenden Zellen exprimiert wird. Auch PROST-SQUARCIONI (2006) beschreibt diese Expression, nennt als spezifische Marker der humanen Langerhans-Zellen CLA (lymphozyte-associated-antigen),  $\square$ -Cadherin und Langherin (mit den Birbeck-Granula assoziiert) (ROMANI et al., 2010). Der Einsatz dieser spezifischen Marker in weiterführenden Untersuchungen ist von Interesse, um Langerhans-Zellen sicher von anderen dendritischen Zellen unterscheiden zu können. Unter anderem soll auch das Protein S100 in Langerhanszellen vorkommen (PROST-SQUARCIONI, 2006). Dies konnte in der bovinen Haut jedoch nicht mit den auftretenden dendritischen Zellen in Verbindung gebracht werden.

### 3. Diskussion der glykohistochemischen Untersuchungen

Glykohistochemischen Untersuchungen sind aufgrund der vielfältigen zellulären Funktionen, wie Zellerkennung, Adhesion, Zell-Zell-Interaktion, Zell-Substrat Adhesion, Rezeptorfunktion, Signaltransduktion die über Kohlenhydratstrukturen beeinflusst werden, von besonderem Interesse (WALSH & CHAPMAN, 1991; BUXTON & MAGEE, 1992; DAVID, 1993; PALACIO et al., 1997; PASMATZI et al., 2005). Die Kodierungskapazität über Kohlenhydrate ist enorm und die Entschlüsselung ihrer Bedeutung für Differenzierungsvorgänge, wie sie auch in der Haut stattfinden, hat erst begonnen und ermöglicht wichtige Erkenntnisse zu verschiedensten zellulären Funktionen über die DNA-, RNA- und Proteinebene hinaus (GABIUS et al., 2002). Ein Beispiel für die Änderung des Glykosylierungsmusters bei Differenzierungsvorgängen beschreiben CHOVANEC et al. (2005) in einer Studie über Zellen des Plattenepithelkarzinoms und auch HOLIKOVA et al. (2002) sehen Veränderungen im Bindungsmuster pflanzlicher und tierischer Lektine während der Differenzierung von Keratinozyten.

Über die spezifische Bindung von Lektinen im Gewebe können Veränderungen im Muster von Kohlenhydraten detektiert werden (MONASTIRLI et al., 2000; RÜDIGER & GABIUS, 2009).

Zum Nachweis von  $\alpha$ -Mannose-Resten wurden im Rahmen meiner Arbeit die pflanzlichen Lektine ConA und PSA eingesetzt. ConA markiert intensiv humane embryonale Stammzellen (WEARNE et al., 2006). Glykohistochemische Untersuchungen an feline adulten Haarfollikeln lassen in den meisten Bereichen eine starke Bindung von ConA erkennen. Lediglich die äußere Haarwurzelscheide und die dermale Papille färben sich nur schwach an (ISHII et al., 2001). In der humanen fetalen Haut zeigt die gesamte Epidermis mit ConA eine positive Reaktion in den untersuchten Zeiträumen von der 8. bis zur 13. bzw. von der 10. bis zur 20. Woche der Schwangerschaft (GHERI BRYK et al., 1997; PASMATZI et al., 2005). Auch im adulten humanen Haarfollikel werden alle Strukturen durch ConA markiert (OHNO et al., 1990). Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen, die im Rahmen dieser Arbeit an der bovinen Haut gemacht wurden, überein.

Galactose-bindene Lektine wurden zur Untersuchung von undifferenzierten und differenzierten humanen embryonalen Stammzellen eingesetzt. PNA färbte 80% der undifferenzierten und 61% der differenzierten Zellen an (WEARNE et al., 2006). Während der Fetalentwicklung der humanen Haut wurde durch RCA eine fast durchgehend starke Anfärbung des Periderms und eine moderate Reaktion des Stratum intermedium erzielt (10. bis 20. Gestationswoche). Im Stratum basale ließ eine nur schwache bis fehlende Anfärbung auf geringes Vorkommen von  $\beta$ -D-Galaktose schließen (PASMATZI et al., 2005). Im Bereich der Basalmembran wird eine schwache Bindung von RCA bis zur 12. Gestationswoche beschrieben, die dann, bis zu ihrem völligen Verschwinden in der 16. Woche, weiter abnimmt. Dies ist sehr interessant, da auch im bovinen Gewebe während dieser Zeiträume eine ähnliche Tendenz zu beobachten ist und der Zeitpunkt des Verschwindens der Reaktion während des frühen Stadiums des Haarzapfens stattfindet. Ein Zusammenhang mit Veränderungen in der dermo-epidermalen Kommunikation, die auch die Beschaffenheit der Basalmembran beeinflusst, erscheint in

diesem Zusammenhang möglich. Auch die Veränderungen der Lektinbindung von RCA im Periderm und Stratum intermedium sind beim bovinen Gewebe, im Vergleich zur humanen Epidermis, sehr ähnlich ausgebildet.

An der humanen Haut wurden ebenfalls Untersuchungen mit DBA, das sich bevorzugt an  $\alpha$ -D-N-acetyl-D-Galactosamin bindet, durchgeführt. Am Periderm führte dies zu einer moderaten Reaktion mit der Zelloberfläche zwischen der 10. und der 20. Gestationswoche mit einer vorübergehenden Abnahme in der 12. Gestationswoche. Das Stratum intermedium und Stratum basale zeigten keine Anfärbung. In der Basalmembran wurde nur eine leichte Reaktion in der 10. und 12. Woche gesehen (PASMATZI et al., 2005). In einer anderen Studie zur Lektinbindung in der humanen fetalen Haut wurde mit DBA im Periderm zwischen der achten und neunten Gestationswoche eine Reaktion mit zytoplasmatischen Granula nachgewiesen. Desweiteren berichten die Autoren von einer Bindung im Bereich des Stratum basale von der achten bis zur 12. Gestationswoche. Das Stratum intermedium zeigt keinerlei Reaktion (GHERI BRYK et al., 1997). In humanen embryonalen Stammzellen konnte kein  $\alpha$ -D-N-acetyl-D-Galactosamin nachgewiesen werden (WEARNE et al., 2006). Auch im Rahmen meiner Arbeit konnte ich keine Bindung von DBA an Strukturen der bovinen Haut beobachten. Jedoch war eine Anfärbung der sekretorischen Zellen der Schweißdrüsen mit SBA-FITC und des Haarkanal sowie der Haarkutikula mit SBA-FITC und SJA-FITC festzustellen. Auch diese Lektine binden an  $\alpha$ -D-N-acetyl-D-Galactosamin. Bedenkt man die ultrastrukturellen Unterschiede zwischen dem humanen Periderm mit seinen globulären Protusionen und im Vergleich zum bovinen Gewebe besonders stark ausgeprägten Mikrovilli, so steht auch diese unterschiedliche Ausprägung von bestimmten Kohlenhydratstrukturen evtl. mit einem unterschiedlichen Ausbildung des Periderms bei den beiden Spezies in Verbindung.

WGA und s-WGA binden bevorzugt an N-Acetylglucosamin bzw. N-Acetylneuraminsäure. Untersuchungen an humaner Haut wurden mit Hilfe von WGA durchgeführt. Von der 10. bis zur 16. Gestationswoche wurde eine starke Reaktion im Periderm beobachtet, die ab diesem Zeitpunkt bis zur 20. Woche abnimmt. Das Stratum intermedium zeigte in der 10. und 12. Schwangerschaftswoche eine moderate Anfärbung, die in der 14. Woche nicht mehr erkennbar und in der 16. Woche wieder schwach sichtbar war. Auch im Stratum basale konnte über WGA  $\beta$ -(1,4)-D-N-Acetyl-D-Glucosamin in der 10. und 12. Woche der Schwangerschaft nachgewiesen werden. Die Reaktion verschwand in den folgenden Wochen und trat nur fokal und äußerst schwach in der 20. Woche wieder auf. Die Basalmembran wird als schwach bis moderat angefärbt beschrieben (PASMATZI et al., 2005). Von GHERI BRYK et al. (1997) wurden entsprechende Ergebnisse in der humanen fetalen Haut dokumentiert, allerdings wird hier im untersuchten Zeitraum (8.-13. Gestationswoche) die Reaktion der Basalmembran als wesentlich stärker positiv beschrieben als bei der oben genannten Studie. ISHII et al. (2001) beobachten im felines Haarfollikel eine starke Reaktion aufgrund der Bindung von WGA im Haarmark und der Henle-Schicht der inneren Haarwurzelscheide und partiell der Haarrinde sowie eine moderate Reaktion in der Huxley-Schicht der inneren Haarwurzelscheide und in der äußeren Haarwurzelscheide. Die Untersuchungsergebnisse in der fetalen humanen Haut stimmen mit meinen

Untersuchungen am bovinen Gewebe vor allem in der Intensität der Anfärbung durch WGA nicht überein. Die Reaktion im Periderm ist beim Rind fraglich, da auch die Negativkontrolle eine leichte Eigenfluoreszenz aufwies. Auch im Stratum intermedium ist in einem vergleichbaren Gestationsstadium (bis zur SSL von ca. 16 cm) beim Rind keine Anfärbung erkennbar. Erst ab einer SSL von 29,0 cm, die dem fünften Trächtigkeitsmonat entspricht, konnte ich eine schwache bis moderate Reaktion beobachten. Das Stratum basale zeigt dagegen eine stärkere Reaktion als dies bei der humanen fetalen Haut der Fall ist und auch die Basalmembran färbt sich sehr stark an. Vergleicht man die vorliegende Untersuchung der felinen Haarfollikel mit meinen Untersuchungsergebnissen am Rind, so sind deutliche Übereinstimmungen im Reaktionsmuster der Haarfollikel erkennbar.

Mit Hilfe von UEA-I wurde in den bereits genannten Studien zur humanen fetalen Haut  $\alpha$ -L-Fucose nachgewiesen (GHERI BRYK et al., 1997; PASMATZI et al., 2005). Im Periderm war eine moderate bis starke Reaktion zwischen der 10. und 20. Gestationswoche zu beobachten. Das Stratum intermedium färbte sich in diesem Zeitraum zunächst schwach an, wobei die Reaktion bis zur 20. Woche an Stärke zunahm. Im Bereich des Stratum basale mit der Basalmembran war keine  $\alpha$ -L-Fucose feststellbar (PASMATZI et al., 2005). Bis auf eine schwache Anfärbung im Stratum basale berichtet (GHERI BRYK et al., 1997) von einem ähnlichen Reaktionsmuster in der fetalen humanen Haut ab der achten Gestationswoche. An felinen adulten Haarfollikeln wurde über UEA-I  $\alpha$ -L-Fucose in starkem Umfang in allen Bereichen mit der äußeren Haarwurzelscheide als einziger nur schwach angefärbter Region nachgewiesen (ISHII et al., 2001). Die bovine fetale Epidermis zeigte nur partiell eine Anfärbung moderater Stärke im Periderm. Regionen mit starker Expression mit mittlerer bis starker Reaktion waren lediglich der Haarkanal, die Talg- und die Schweißdrüsen.

Diese Auswahl an wichtigen Untersuchungsergebnissen zeigt, dass eine Weiterführung von Studien an der bovinen fetalen Haut von Interesse ist, um die aktuellen Ergebnisse an humanem und murinem Gewebe zu ergänzen und ein genaueres Bild der für die regenerative Medizin wichtigen epithelialen Stammzellen zu erhalten. Mögliche weiterführende Untersuchungen sind eine noch engmaschigere Probennahme in den Fetalstadien, in denen der Haarwulst besonders stark ausgeprägt ist, aber auch in den Stadien, in denen die aus dem Haarwulst abgeleiteten „Transit-amplifying-cells“ in ihre eigentlichen Funktionsgebiete wandern. Mit Hilfe des Nachweises von Nestin können die potentiellen Stammzellen im Bereich des Isthmus näher charakterisiert werden, um sie mit denen aus humanem und murinem Gewebe stammenden zu vergleichen. Auch die Expression von Galektin-1 und 3, die an murinem Gewebe untersucht wurde und ein haarzyklusabhängiges Muster im Haarfollikel zeigt, wäre ein interessanter Untersuchungsansatz für das bovine Gewebe, um die Erkenntnisse über die Bedeutung der Galektine in den Haarfollikeln zu erweitern. Von großem Wert wären solche Untersuchungen mit Hilfe der konfokalen Laser-Scanning-Mikroskopie um durch optische Schnitte innerhalb potentieller Stammzellnischen eine bessere Quantifizierbarkeit und räumliche Zuordnung der Zellen in diesen Bereichen zu ermöglichen. Auch eingehendere Untersuchungen des Periderms, das eine wichtige Rolle im Stoffaustausch zwischen Amnionflüssigkeit und Fetus spielt, erscheinen angesichts der unterschiedlichen Ausprägung des Periderms zwischen den Spezies interessant.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Während die Entwicklung der Haut des Menschen und der Maus relativ gut untersucht wurde, gibt es nur ganz wenige, ältere Studien zur pränatalen Entwicklung der bovinen Haut. Da die Schwangerschaftsdauer des Menschen ca. 266 Tage beträgt und die Graviditätsdauer des Rindes mit etwa 280 Tagen einen ähnlichen Zeitraum umfasst, bietet die Untersuchung der bovinen fetalen Haut den Vorteil, dass sich der zeitliche Ablauf der Haut- und Haarentwicklung bei beiden Spezies recht gut miteinander vergleichen lässt.

Die Haut weist ein hohes Maß an Dynamik und Regenerationsfähigkeit auf, wie es nur in wenigen anderen Geweben zu beobachten ist. Diese Eigenschaft macht das Organ Haut zu einem interessanten Untersuchungsobjekt, denn Stammzellen spielen für die sich ständig erneuernde Epidermis und für die Veränderungen an den Haarfollikel während des Haarzyklus eine entscheidende Rolle.

Auch in meiner Arbeit war einer der Schwerpunkte die Identifizierung von epidermalen Stammzellen, denn diese wurden bisher in der bovinen Haut noch nicht näher untersucht. Aus Studien, die sich mit dem Gewebe von Mensch, Maus und Ratte beschäftigen, waren einige immunhistochemische Marker für potentielle epitheliale Stammzellen bekannt, die deshalb auch in meiner Arbeit eingesetzt wurden. Um ein möglichst lückenloses Bild der Entwicklung der bovinen Haut zu erhalten wurde die Haut von 29 Feten an fünf Hautarealen (Scheitel, dorsaler Rumpf, ventraler Rumpf, Vordergliedmaße, Hintergliedmaße) untersucht. Die Hautentwicklung schreitet von cranial nach caudal voran, so dass die Untersuchung verschiedener Hautareale zu einer engmaschigen Abdeckung verschiedener Entwicklungsstadien führte. Zusätzlich wurden Vergleichsproben von drei Kälbern und drei adulten Tieren untersucht, um die postnatale Weiterentwicklung der Haut zu beobachten. Die Untersuchungen wurden mit Hilfe histologischer Standardfärbungen, immunhistochemischer Techniken, glykohistochemischer Untersuchungen sowie der Transmissionselektronenmikroskopie durchgeführt.

Die Standardfärbung Hämalaun-Eosin wurde verwendet, um die histomorphologischen Veränderungen während der Haut- und Haarentwicklung zu untersuchen. Weiterhin kamen die Trichrom-Färbung nach Masson-Goldner, die Alcianblau-Färbung bei pH 1,0 und pH 2,5, die Periodic-Acid-Schiff-Reaktion (PAS) sowie die Versilberung nach Gomori zum Einsatz.

Bei dem kleinsten untersuchten Fetus mit einer Scheitel-Steiß-Länge (SSL) von 8,5 cm ist noch keine Haarentwicklung erkennbar. Die Epidermis besteht aus drei bis vier Zelllagen, dem Stratum basale, dem Stratum intermedium und dem Periderm. Die Haarentwicklung setzt bei dem Fetus mit der SSL 10,5 cm am Scheitel ein, indem sich eine Zellvermehrung (Vorkeim) im Bereich des Stratum basale mit hochprismatischen Zellen erkennen lässt. Darunter bildet sich die dermale Präpapille, eine Verdichtung mesenchymaler Zellen. Ab diesem Zeitpunkt schreitet die Haarentwicklung über den ganzen Körper nach kaudal fort und es entsteht der Haarzapfen, der in einem Winkel von ca. 45 Grad in die Tiefe wächst. Der Haarzapfen zeigt ab der SSL 21,0 cm eine kleine Verdickung knapp unterhalb

der Epidermis auf der der Epidermis abgewandten Seite. Hieraus entsteht die Schweißdrüsenanlage. Diese ist bei dem Fetus der SSL 25,5 cm im Scheitelbereich bis auf die halbe Höhe der Haaranlage herunter gewachsen. Der Bulbuszapfen beginnt sich ab der SSL 27,8 cm zu bilden, indem der Haarzapfen im distalen Bereich eine leichte Einziehung zeigt. Mit einer SSL von 34,0 cm erscheint der Haarwulst, zeitgleich sind die ersten glatten Muskelfasern des Musculus arrector pili zu beobachten und auch der Haarkanal deutet sich durch eine Ansammlung kleiner eosinophiler Zellen an, die einen Strang durch die Epidermis bildet. Die Talgdrüsenanlage wird ab der SSL 37,3 cm sichtbar. Zwischen der SSL von 57,6 cm und 63,0 cm bildet sich eine Haarzwiebel mit den verschiedenen Differenzierungszonen für die Anteile des Haarschaftes und der inneren Haarwurzelscheide. Dem geht die Bildung eines sogenannten Haarkegels voraus, einer Keratinisierung von zentralen Zellen der Haaranlage die etwa auf Höhe des Haarwulstes einsetzt und Bestandteil der sich nun entwickelnden inneren Haarwurzelscheide ist. Zeitgleich flacht sich der Haarwulst stark ab und die suprabulbäre äußere Haarwurzelscheide wird kurzfristig mehrschichtig, was für eine Zellbewegung vom Haarwulst in Richtung Haarzwiebel spricht. Die Haaranlage befindet sich ab diesem Stadium im Anagen des Haarzyklus, dies bedeutet, dass das Wachstum des Haares beginnt. Beim Fetus der SSL 63,0 cm besteht die Epidermis aus bis zu 10 Zelllagen und erreicht somit ihre größte Dicke. Ab diesem Entwicklungsstadium fällt augenscheinlich die epidermale Dicke wieder ab und besteht ab der SSL 67,8 cm nur noch aus drei bis vier Zellschichten. Diese Dickenabnahme fällt mit der Bildung des Stratum corneum zusammen. Seine Zellschichten lassen sich lichtmikroskopisch nicht zuverlässig voneinander differenzieren. Da die vollständig keratinisierten Zellen des Stratum corneum wesentlich flacher sind als die Zellen des Stratum spinosum, aus denen sich das Stratum corneum bildet, verliert die gesamte Epidermis an Dicke.

Die immunhistochemischen Untersuchungen wurden mit Antikörpern gegen Laminin, Kollagen Typ IV, Vimentin, Protein S100, Ki67,  $\alpha$ -SMA, p63 und den Keratinen 5, 8, 14, 15, 18 und 19 durchgeführt.

Zu den wichtigsten Ergebnissen dieser Arbeit gehört die Lokalisation von Keratinen in der Epidermis und den Haaranlagen während der pränatalen Entwicklung. Hier möchte ich besonders Keratin 8 und 15 hervorheben, die im Haarfollikel spezifisch in Zellen des Haarwulstes exprimiert werden und in der Epidermis fast ausschließlich im Stratum basale gefunden wurden. Beide epidermalen Anteile enthalten epitheliale Stammzellen.

Ein anderes sehr interessantes Expressionsmuster findet sich beim Nachweis von Keratin 18. Hier wurde eine negative Reaktion der äußeren Haarwurzelscheide im Bereich des Isthmus, insbesondere zwischen dem Haarwulst und der Mündung des Schweißdrüsenausführungsganges beobachtet. Ansonsten war die Expression von Keratin 18 in allen Bereichen der inneren und äußeren Haarwurzelscheide deutlich nachzuweisen. Diese Zellpopulation zeigte mit der PAS-Reaktion, die die Glykogen und Glykoproteine nachweist, eine ausgeprägte Anfärbung. In Arbeiten der letzten Jahre wurden Nestin-positive, Keratin 15-negative Zellen bei Maus und Mensch in genau diesem Bereich beschrieben, die sich ebenfalls durch ihr Expressionsmuster von anderen Zellpopulationen

abgrenzen. Diese Zellen werden als multipotente epitheliale Stammzellen charakterisiert, die in der Lage sind Neuronen, Gliazellen, Keratinozyten und glatte Muskelzellen zu bilden.

Für die glykohistochemischen Untersuchungen wurden 17 Lektine pflanzlicher Herkunft eingesetzt, die nach ihrer Zuckerspezifität in sechs Gruppen eingeteilt werden. Es handelt sich hierbei um *Canavalia ensiformis* Agglutinin (ConA), *Pisum sativum* Agglutinin (PSA) und *Lens culinaris* Agglutinin (LCA) die an Glucose bzw. Mannose binden, um *Ricinus communis* Agglutinin I (RCA-I), *Viscum album* Agglutinin (VAA), Peanut Agglutinin (PNA), und *Griffonia simplicifolia* Lektin I (GSL-I), die an Galactose binden und *Dolichos biflorus* Agglutinin (DBA), Soybean Agglutinin (SBA) und *Sophora japonica* Agglutinin (SJA) und *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA) zur Detektion von N-Acetyl-D-Galactosamin. Wheat germ Agglutinin (WGA) und succinyliertes Wheat germ Agglutinin (s-WGA) binden an N-Acetyl-D-Glucosamin bzw. N-Acetyl-Neuraminsäure, *Ulex europaeus* Agglutinin I (UEA-I) an L-Fucose und letztlich binden *Maackia amurensis* Leukoagglutinin I (MAA-I), *Phaseolus vulgaris* Erythroagglutinin (PHA-E) und *Phaseolus vulgaris* Leukoagglutinin (PHA-L) an Oligosaccharide.

Im Rahmen der glykohistochemischen Untersuchungen möchte ich besonders die Ergebnisse der Bindung von SNA (*Sambucus nigra* Agglutinin) herausstellen. Dieses an N-Acetyl-D-Galactosamin und D-Galactosamin bindende Pflanzenlektin lässt eine Reaktion in einzelnen Zellen des Stratum basale und der äußeren Haarwurzelscheide, insbesondere des Haarwulstes erkennen. Dieses Muster könnte ein Hinweis darauf sein, dass eine Bindung an bestimmte Differenzierungsstadien von „Transit-amplifying-cells“ oder aber an Stammzellen stattgefunden hat.

## VII. SUMMARY

Whereas the development of skin has been comparatively well studied in human and mouse, only few older studies of the fetal development of bovine skin exist. The skin is an organ that shows an enormous capacity for renewal and regeneration. The study of the prenatal development of the skin is therefore a challenging and fascinating subject for the better understanding of the basis of cell proliferation and differentiation in the skin and the role of epidermal stem cells, which are involved in these processes.

The aim of my thesis was a detailed study of the prenatal development of the bovine skin and its appendages (hairs and associated apocrine and holocrine glands) using histological, histochemical and ultrastructural studies and the identification of potential epidermal stem cells using histochemical markers, which have been established in other species (mouse, human). In my study, tissue samples were taken from five areas of the skin (crown, dorsal trunk, ventral trunk, forelimb, hindlimb) of 29 fetuses at distinct stages of fetal development. Additionally, the postnatal development of the skin was studied in three calves and three adult cows.

The histological analysis of conventionally (H.E., Goldner, Alcian-blue-staining at pH 1.0 and pH 2.5, PAS including controls, Gomori's silver staining) stained sections and detailed ultrastructural studies provided for the first time an extensive and precise description of skin development in the bovine from a crown rump length (CRL) of 8,5 cm to term. The smallest fetus studied (CRL of 8,5 cm) did not show any signs of hair follicle development. The epidermis consisted of three to four cell layers (stratum basale, stratum intermedium and periderm). First indications of hair follicle development were observed at a fetus with a CRL of 10,5 cm. During this pregerm stage of hair development, proliferation of columnar cells localized in the stratum basale was observed. Beneath these dividing epidermal cells an aggregation of mesenchymal cells formed the dermal pre-papilla. The differentiation of the hair pegs proceeded in a cranio-caudal direction across the developing skin. At a CRL of 21,0 cm a distinct swelling of the hair peg can be observed near the epidermis. This was the first anlage of the developing sweat gland. In skin samples of fetuses with a CRL of 25,5 cm, the primordium of the sweat gland extends about half of the length of a hair follicle. During the next stage of development, which was observed at a CRL of 27,8 cm, the hair follicle was transformed to a bulbous peg, which shows a stricture in the lower part of the hair follicle anlage. Formation of the hair bulge begins at a CRL of 34,0 cm. It is associated with the appearance of the first muscle fibers of the *musculus arrector pili*. Another important step is the development of sebaceous glands, which starts at a CRL of 37,3 cm. Between a CRL of 57,6 cm and 63,0 cm distinct differentiation zones of the internal root sheath and within the hair bulb can be observed. Keratinisation of central cells leads to formation of the hair cone, which can be considered as part of the developing inner root sheath. At the same point of development, the bulge flattens and the suprabulbar outer root sheath becomes multilayered. This can be taken as a sign for a cell movement from the bulge towards the bulb. The hair follicle

enters now the anagen, the period of hair growth. At a CRL of 63,0 cm, the epidermis consists of up to 10 cell layers. At this stage, the maximum of epidermal thickness is attained. During later stages of development, the thickness of the epidermis decreases and only three to four cell layers can be observed in the epidermis at a CRL of 67,8 cm. This epidermal attenuation is associated with the formation of the stratum corneum. Its cell layers cannot be further distinguished with light but can be clearly separated by transmission electron microscopy.

For the immunohistochemical studies, antibodies against laminin, collagen typ IV, vimentin, protein S100, Ki67,  $\alpha$ -SMA, p63 and keratin5, 8, 14, 15, 18 and 19 were used. Among the distinct patterns of immunostaining, which were obtained with each antibody, the expression pattern of keratins in the epidermis and the hair follicle during the fetal skin development appeared especially interesting. Keratin 8 and 15 are expressed specifically in cells of the bulge region of hair follicles, and in the epidermis nearly exclusive in cells of the stratum basale. I assume that this is due to a specific staining of epidermal stem cells, which have been localized by keratin staining in these areas in other mammalian species.

For glycohistochemical analysis a panel of 17 FITC or biotin-labeled plant lectins were used: *Canavalia ensiformis* agglutinin (ConA), *Pisum sativum* agglutinin (PSA) and *Lens culinaris* agglutinin (LCA) which are specific for glucose and mannose, *Ricinus communis* agglutinin I (RCA-I), *Viscum album* agglutinin (VAA), Peanut agglutinin (PNA), and *Griffonia simplicifolia* lectin-I (GSL-I), which attach to galactose and *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA), Soybean agglutinin (SBA) and *Sophora japonica* agglutinin (SJA) and *Sambucus nigra* agglutinin (SNA) which detect N-Acetyl-galactosamine. Wheat germ agglutinin (WGA) and succinyl-Wheat germ agglutinin (s-WGA) attach to N-Acetyl-glucosamine and N-Acetyl neuraminic acid, *Ulex europaeus* agglutinin I (UEA-I) to L-Fucose and *Maackia amurensis* leucoagglutinin (MAA-I), *Phaseolus vulgaris* Erythroagglutinin (PHA-E) and *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (PHA-L) bind to oligosaccharide.

Among the interesting staining patterns obtained by the glycohistochemical studies for each lectin, I want especially emphasize the results of SNA binding in the bovine fetal skin. This lectin stains specifically a small population of cells located in the bulge area and in the stratum basale epidermis. I assume that SNA staining can detect the stem cells found in this location, but additional studies are needed to confirm this hypothesis.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Akiyama M, Dale BA, Sun TT, Holbrook KA. Characterization of hair follicle bulge in human fetal skin: the human fetal bulge is a pool of undifferentiated keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 844-50.

Akiyama M, Smith LT, Shimizu H. Changing patterns of localization of putative stem cells in developing human hair follicles. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 321-7.

Alonso L, Fuchs E. The hair cycle. *J Cell Sci* 2006; 119: 391-3.

Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Penman S, Hoffman RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 5530-4.

Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S, Hamada Y, Kawahara K, Sato Y, Hoffman RM, Katsuoka K. Human hair follicle pluripotent stem (hfPS) cells promote regeneration of peripheral-nerve injury: an advantageous alternative to ES and iPS cells. *J Cell Biochem* 2009a; 107: 1016-20.

Amoh Y, Kanoh M, Niiyama S, Kawahara K, Sato Y, Katsuoka K, Hoffman RM. Human and mouse hair follicles contain both multipotent and monopotent stem cells. *Cell Cycle* 2009b; 8: 176-7.

Backmund K. Entwicklung der Haare und Schweißdrüsen der Katze. *Anat Hefte* 1904; 1: 315-79.

Barrandon Y, Green H. Three clonal types of keratinocyte with different capacities for multiplication. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2302-6.

Bernard BA. The life of human hair follicle revealed. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 138-43.

Bickenbach JR, Holbrook KA. Label-retaining cells in human embryonic and fetal epidermis. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 42-6.

Biernaskie J. Human hair follicles: "bulging" with neural crest-like stem cells. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1202-4.

Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L, Fuchs E. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 2004; 118: 635-48.

Blanpain C, Fuchs E. p63: revving up epithelial stem-cell potential. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 731-3.

Bonneville MA. Observations on epidermal differentiation in the fetal rat. *Am J Anat* 1968; 123: 147-64.

Braun KM, Niemann C, Jensen UB, Sundberg JP, Silva-Vargas V, Watt FM. Manipulation of stem cell proliferation and lineage commitment: visualisation of label-retaining cells in whollemounts of mouse epidermis. *Development* 2003; 130: 5241-55.

Breathnach AS, Smith J. Fine structure of the early hair germ and dermal papilla in the human foetus. *J Anat* 1968; 102: 511-26.

Brody I, Larsson KS. Morphology of the mammalian skin: Embryonic development of epidermal sub-layers. In: *Biology of the skin and hair growth*. (Lyne AG, Short BF, eds.) Sydney: Angus and Robertson Verlag 1965: 267-99.

Buxton RS, Magee AI. Structure and interactions of desmosomal and other cadherins. *Semin Cell Biol* 1992; 3: 157-67.

Byrne C, Tainsky M, Fuchs E. Programming gene expression in developing epidermis. *Development* 1994; 120: 2369-83.

Calef A. Studio istologico e morfologico di un'appendice epiteliale del pelo nella pelle del *Mus decumanus var. albin* e del *Sus scropha*. *Anat Anz* 1900; 17: 509-17.

Chase HB. Growth of the hair. *Physiol Rev* 1954; 34: 113-26.

Chidgey MA. Desmosomes and disease. *Histol Histopathol* 1997; 12: 1159-68.

Chovanec M, Smetana K, Jr., Betka J, Plzak J, Brabec J, Moya-Alvarez V, Andre S, Kodet R, Gabius HJ. Correlation of expression of nuclear proteins pKi67 and p63 with lectin histochemical features in head and neck squamous cell cancer. *Int J Oncol* 2005; 27: 409-15.

Clara M. *Entwicklungsgeschichte des Menschen*. 6.ed. Heidelberg: Quelle & Meyer 1967

Commo S, Bernard BA. The distribution of alpha 2 beta 1, alpha 3 beta 1 and alpha 6 beta 4 integrins identifies distinct subpopulations of basal keratinocytes in the outer root sheath of the human anagen hair follicle. *Cell Mol Life Sci* 1997; 53: 466-71.

Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell* 1990; 61: 1329-37.

Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol* 2006a; 126: 1459-68.

Cotsarelis G. Gene expression profiling gets to the root of human hair follicle stem cells. *J Clin Invest* 2006b; 116: 19-22.

Daneel R. Die Entwicklung der Haare bei der Ratte. *Z. Morph. Tiere* 1931; 20: 733-54.

David G. Integral membrane heparan sulfate proteoglycans. *FASEB J* 1993; 7: 1023-30.

Diomidova NA. Die embryonale Entwicklung der Schafhaut. *Acta vet. Acad. Sci. hung.* 1954; 4: 387-403.

DuBrul EF. Fine structure of epidermal differentiation in the mouse. *J Exp Zool* 1972; 181: 145-58.

Evans HE, Sack WO. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Zentralbl Veterinarmed [C]* 1973; 2: 11-45.

Fechter F. Untersuchungen über die Haarentwicklung an Pferde-Feten. Giessen: Inaug-Diss 1914.

Fernando SD. The Development of the Glands of the External Acoustic Meatus of Felis Domesticus. Am J Vet Res 1965; 26: 734-9.

Fowler EH, Calhoun ML. The Microscopic Anatomy of Developing Fetal Pig Skin. Am J Vet Res 1964; 25: 156-64.

Fraser DA. The Development of the Skin of the Back of albino Rat until the Eruption of the first Hairs. Anat. Rec. 1928; 38: 203-23.

Fuchs E. Skin stem cells: rising to the surface. J Cell Biol 2008; 180: 273-84.

Gabius HJ, Andre S, Kaltner H, Siebert HC. The sugar code: functional lectinomics. Biochim Biophys Acta 2002; 1572: 165-77.

Gabius HJ. The sugar code. Fundamentals of Glycosciences. (Gabius HJ ed.) Weinheim: Wiley-VCH 2009.

Gabius HJ. Glycobiomarkers by glycoproteomics and glycan profiling (glycomics): emergence of functionality. Biochem Soc Trans 2011a; 39: 399-405.

Gabius HJ, Andre S, Jimenez-Barbero J, Romero A, Solis D. From lectin structure to functional glycomics: principles of the sugar code. Trends Biochem Sci 2011b; 36: 298-313.

Garven HSD. A Student's Histology. Livingstone, Edinburgh & London 1957.

Geneser F. Die Haut. In: Histologie. Köln: Deutscher Ärzte-Verlag 1990: 367-94.

Gheri Bryk S, Gheri G, Sgambati E, Pastore I. Changes in expression of the oligosaccharides in the human fetal skin. Ann Anat 1997; 179: 49-56.

Görge S. Histologische und histochemische Untersuchungen zur Entwicklung der Haut des Hausschweines. Hannover: Inaug-Diss 1983.

Goldstein IJ, Poretz RD. Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins. In: The lectins. Properties, functions and applications in biology and medicine. (Liener IE, Sharon N, Goldstein IJ, eds.) Orlando: Academic Press 1986: 33-243.

Habermehl KH. Haut und Hautorgane. In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere; Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane. Bd III. 4.ed. (Nickel R, Schummer A, Seiferle E, eds.) Stuttgart: Parey Verlag 2005: 443-576.

Ham AW. Histology. 7.ed. J.B. Lippincott Company 1974

Hardy MH, Lyne AG. The pre-natal development of wool follicles in Merino sheep. Aust. J. biol. Sci. 1956; 9: 423-41.

Hashimoto K, Gross BG, DiBella RJ, Lever WF. The ultrastructure of the skin of human embryos. IV. The epidermis. J Invest Dermatol 1966; 47: 317-35.

Hoang MP, Keady M, Mahalingam M. Stem cell markers (cytokeratin 15, CD34 and nestin) in primary scarring and nonscarring alopecia. Br J Dermatol 2009; 160: 609-15.

Holbrook KA, Odland GF. Structure of the human fetal hair canal and initial hair eruption. J Invest Dermatol 1978; 71: 385-90.

Holbrook KA, Minami SI. Hair follicle embryogenesis in the human. Characterization of events in vivo and in vitro. Ann N Y Acad Sci 1991; 642: 167-96.

Holikova Z, Hrdlickova-Cela E, Plzak J, Smetana K, Jr., Betka J, Dvorankova B, Esner M, Wasano K, Andre S, Kaltner H, Motlik J, Hercogova J, Kodet R, Gabius HJ. Defining the glyco-phenotype of squamous epithelia using plant and mammalian lectins. Differentiation-dependent expression of alpha2,6- and alpha2,3-linked N-acetylneuraminic acid in squamous epithelia and carcinomas, and its differential effect on binding of the endogenous lectins galectins-1 and -3. APMIS 2002; 110: 845-56.

Holmgren H, Johansson H. Beitrag zur Kenntnis der Entwicklung der Epidermis. *Anat. Anz.* 1933; 75: 449-55.

Hoyes AD. Electron microscopy of the surface layer (periderm) of human foetal skin. *J Anat* 1968; 103: 321-36.

Inoue K, Aoi N, Sato T, Yamauchi Y, Suga H, Eto H, Kato H, Araki J, Yoshimura K. Differential expression of stem-cell-associated markers in human hair follicle epithelial cells. *Lab Invest* 2009; 89: 844-56.

Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Iizuka H. Lessons from disorders of epidermal differentiation-associated keratins. *Histol Histopathol* 2002; 17: 331-8.

Ishii M, Tsukise A, Meyer W. Lectin histochemistry of glycoconjugates in the feline hair follicle and hair. *Ann Anat* 2001; 183: 449-58.

Islam MS, Zhou H. Isolation and characterization of putative epidermal stem cells derived from Cashmere goat fetus. *Eur J Dermatol* 2007; 17: 302-8.

Jahoda CA, Reynolds AJ, Chaponnier C, Forester JC, Gabbiani G. Smooth muscle alpha-actin is a marker for hair follicle dermis in vivo and in vitro. *J Cell Sci* 1991; 99 ( Pt 3): 627-36.

Jahoda CA, Mauger A, Bard S, Sengel P. Changes in fibronectin, laminin and type IV collagen distribution relate to basement membrane restructuring during the rat vibrissa follicle hair growth cycle. *J Anat* 1992; 181 ( Pt 1): 47-60.

Jaks V, Barker N, Kasper M, van Es JH, Snippert HJ, Clevers H, Toftgard R. Lgr5 marks cycling, yet long-lived, hair follicle stem cells. *Nat Genet* 2008; 40: 1291-9.

Jaks V, Kasper M, Toftgard R. The hair follicle-a stem cell zoo. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1422-8.

Jensen UB, Yan X, Triel C, Woo SH, Christensen R, Owens DM. A distinct population of clonogenic and multipotent murine follicular keratinocytes residing in the upper isthmus. *J Cell Sci* 2008; 121: 609-17.

Jiang S, Zhao L, Purandare B, Hantash BM. Differential expression of stem cell markers in human follicular bulge and interfollicular epidermal compartments. *Histochem Cell Biol* 2010; 133: 455-65.

Jones PH, Watt FM. Separation of human epidermal stem cells from transit amplifying cells on the basis of differences in integrin function and expression. *Cell* 1993; 73: 713-24.

Karasek MA, Charlton ME. Growth of postembryonic skin epithelial cells on collagen gels. *J Invest Dermatol* 1971; 56: 205-10.

Kloepper JE, Tiede S, Brinckmann J, Reinhardt DP, Meyer W, Faessler R, Paus R. Immunophenotyping of the human bulge region: the quest to define useful in situ markers for human epithelial hair follicle stem cells and their niche. *Exp Dermatol* 2008; 17: 592-609.

Kobayashi T, Shimizu A, Nishifuji K, Amagai M, Iwasaki T, Ohyama M. Canine hair-follicle keratinocytes enriched with bulge cells have the highly proliferative characteristic of stem cells. *Vet Dermatol* 2009; 20: 338-46.

Koster MI, Kim S, Mills AA, DeMayo FJ, Roop DR. p63 is the molecular switch for initiation of an epithelial stratification program. *Genes Dev* 2004; 18: 126-31.

Koster MI, Kim S, Roop DR. P63 deficiency: a failure of lineage commitment or stem cell maintenance? *J Investig Dermatol Symp Proc* 2005; 10: 118-23.

Krejci E, Grim M. Isolation and characterization of neural crest stem cells from adult human hair follicles. *Folia Biologica* 2010; 56: 149-57.

Kubo M, Kan M, Isemura M, Yamane I, Tagami H. Effects of extracellular matrices on human keratinocyte adhesion and growth and on its secretion and deposition of fibronectin in culture. *J Invest Dermatol* 1987; 88: 594-601.

Lajtha LG. Stem cell concepts. *Differentiation* 1979; 14: 23-34.

Lane EB, Wilson CA, Hughes BR, Leigh IM. Stem cells in hair follicles. *Cytoskeletal studies. Ann N Y Acad Sci* 1991; 642: 197-213.

Lavker RM, Sun TT, Oshima H, Barrandon Y, Akiyama M, Ferraris C, Chevalier G, Favier B, Jahoda CA, Dhouailly D, Panteleyev AA, Christiano AM. Hair follicle stem cells. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2003; 8: 28-38.

Legg J, Jensen UB, Broad S, Leigh I, Watt FM. Role of melanoma chondroitin sulphate proteoglycan in patterning stem cells in human interfollicular epidermis. *Development* 2003; 130: 6049-63.

Liu HW, Cheng B, Li JF, Wu HJ, Li KY, Sun TZ, Fu XB. Characterization of angiotensin-converting enzyme expression during epidermis morphogenesis in humans: a potential marker for epidermal stem cells. *Br J Dermatol* 2009; 160: 250-8.

Lohr M, Kaltner H, Schwartz-Albiez R, Sinowatz F, Gabius HJ. Towards functional glycomics by lectin histochemistry: strategic probe selection to monitor core and branch-end substitutions and detection of cell-type and regional selectivity in adult mouse testis and epididymis. *Anat Histol Embryol* 2010; 39: 481-93.

Lourenco SV, Kamibeppu L, Fernandes JD, Sotto MN, Nico MM. Relationship of adhesion molecules expression with epithelial differentiation markers during fetal skin development. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 731-7.

Lovell JE, Getty R. The integument. In: *Anatomy of the dog*. Miller ME, ed. Philadelphia: Saunders Verlag 1964: 875-88.

Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci* 1998; 111 ( Pt 21): 3179-88.

Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. Human hair follicle bulge cells are biochemically distinct and possess an epithelial stem cell phenotype. *J Invest Dermatol Symp Proc* 1999; 4: 296-301.

Lyne AG, Heideman MJ. The pre-natal development of skin and hair in cattle (*Bos taurus* L.). *Aust. J. biol. Sci.* 1959; 12: 72-9.

Lyne AG, Hollis DE. The structure and development of the epidermis in sheep fetuses. *J Ultrastruct Res* 1972; 38: 444-58.

Marks P. Untersuchung über die Entwicklung der Haut insbesondere der Haar- und Drüsenanlagen bei den Haussäugetieren. Berlin: Inaug-Diss 1895.

Messenger AG. The control of hair growth: an overview. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 4-9.

Meyer W, Görgen S, Schlesinger C. Structural and histochemical aspects of epidermis development of fetal porcine skin. *Am J Anat* 1986; 176: 207-19.

Michel G. Vergleichende Embryologie der Haustiere. Jena: Fischer 1995.

Michel M, Torok N, Godbout MJ, Lussier M, Gaudreau P, Royal A, Germain L. Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells in vivo and in vitro: keratin 19 expressing cells are differentially localized in function of anatomic sites, and their number varies with donor age and culture stage. *J Cell Sci* 1996; 109 ( Pt 5): 1017-28.

Moles JP, Watt FM. The epidermal stem cell compartment: variation in expression levels of E-cadherin and catenins within the basal layer of human epidermis. *J Histochem Cytochem* 1997; 45: 867-74.

Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982; 31: 11-24.

Monastirli A, Pasmatzis E, Georgiou S, Kapranos N, Frangia K, Braun H, Ioannovich J, Varakis J, Tsambaos D. Lectin-binding pattern of primary malignant melanomas and melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2000; 27: 103-7.

Montagna W. Histology and cytochemistry of human skin. XIX. The development and fate of the axillary organ. *J Invest Dermatol* 1959; 33: 151-61.

Montagna W, Parrakal PF. The structure and function of skin. 3.ed. New York: Academic Press 1974.

Muller-Rover S, Handjiski B, van der Veen C, Eichmuller S, Foitzik K, McKay IA, Stenn KS, Paus R. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 3-15.

Muller M, Jasmin JR, Monteil RA, Loubiere R. Embryology of the hair follicle. *Early Hum Dev* 1991; 26: 159-66.

Murray JC, Stingl G, Kleinman HK, Martin GR, Katz SI. Epidermal cells adhere preferentially to type IV (basement membrane) collagen. *J Cell Biol* 1979; 80: 197-202.

Myung P, Andl T, Ito M. Defining the hair follicle stem cell (Part I). *J Cutan Pathol* 2009; 36: 1031-4.

Nijhof JG, Braun KM, Giangreco A, van Pelt C, Kawamoto H, Boyd RL, Willemze R, Mullenders LH, Watt FM, de Gruijl FR, van Ewijk W. The cell-surface marker MTS24 identifies a novel population of follicular keratinocytes with characteristics of progenitor cells. *Development* 2006; 133: 3027-37.

Nixon AJ. A method for determining the activity state of hair follicles. *Biotech Histochem* 1993; 68: 316-25.

O'Guin WM, Manabe M. The role of trichohyalin in hair follicle differentiation and its expression in nonfollicular epithelia. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 642: 51-62; discussion -3.

Ohno J, Fukuyama K, Epstein WL. Glycoconjugate expression of cells of human anagen hair follicles during keratinization. *Anat Rec* 1990; 228: 1-6.

Ohyama M. Hair follicle bulge: a fascinating reservoir of epithelial stem cells. *J Dermatol Sci* 2007; 46: 81-9.

Oliver RF. Dermal-epidermal interactions and hair growth. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 76.

Oyama R. Entwicklungsgeschichte des Deckhaares der weißen Maus (*Mus musculus*, Varietas alba). *Anat Hefte* 1903; 23: 585-608.

Palacio S, Viac J, Vinche A, Huband JC, Gatto H, Schmitt D. Suppressive effect of monosaccharides on ICAM-1/CD54 expression in human keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 1997; 289: 234-7.

Pasmatzki E, Badavanis G, Monastirli A, Georgiou S, Sagriotis A, Sakkis T, Mantagos S, Varakis J, Stamatiou G, Tsambaos D. Qualitative and quantitative alterations of cell surface carbohydrate residues during epidermal morphogenesis. *Anat Embryol (Berl)* 2005; 209: 207-15.

Pellegrini G, Dellambra E, Golisano O, Martinelli E, Fantozzi I, Bondanza S, Ponzin D, McKeon F, De Luca M. p63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3156-61.

Pernkopf E, Patzelt V. Die Entwicklung der Haut und ihrer Anhangsgebilde. In: *Die Haut und Geschlechtskrankheiten*. (Arzt L, Zieler K, eds.) Berlin, Wien: Urban und Schwarzenberg Verlag 1934: 100-40.

Pinkus H, Tanay A. Die Embryologie der Haut In: *Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten*. Ergänzungswerk I/1. Normale und pathologische Anatomie der Haut. (Gans O, Steigleder GH, eds.) Berlin: Enke Verlag 1968: 624-82.

Poblet E, Jimenez F. CD10 and CD34 in fetal and adult human hair follicles: dynamic changes in their immunohistochemical expression during embryogenesis and hair cycling. *Br J Dermatol* 2008; 159: 646-52.

Prost-Squarcioni C. Histology of skin and hair follicle. *Med Sci (Paris)* 2006; 22: 131-7.

Razek HA. Atlas der Embryologie mit tabellarischer Synopsis. Stuttgart: Enke 1978

Reynolds AJ, Jahoda CA. Inductive properties of hair follicle cells. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 642: 226-41; discussion 41-2.

Rhee H, Polak L, Fuchs E. Lhx2 maintains stem cell character in hair follicles. *Science* 2006; 312: 1946-9.

Robins EJ, Breathnach AS. Fine structure of human foetal hair follicle at hair-peg and early bulbous-peg stages of development. *J. Anat.* 1968; 104: 553-69.

Robins EJ, Breathnach AS. Fine structure of bulbar end of human foetal hair follicle at stage of differentiation of inner root sheath. *J Anat* 1970; 107: 131-46.

Romani N, Clausen BE, Stoitzner P. Langerhans cells and more: langerin-expressing dendritic cell subsets in the skin. *Immunol Rev* 2010; 234: 120-41.

Romeis B. Mikroskopische Technik, 18. edn. Heidelberg: Spektrum-Akademischer Verlag 2010

Rüdiger H, Gabius HJ. Plant lectins. In: *The sugar code: Fundamentals of Glycosciences.* (Gabius HJ, ed.) Weinheim: Wiley-VCH Verlag 2009: 301-15.

Rüsse I, Sinowatz F. Lehrbuch der Embryologie der Haustiere, 3.edn. München: 2008.

Rufini A, Weil M, McKeon F, Barlattani A, Melino G, Candi E. p63 protein is essential for the embryonic development of vibrissae and teeth. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 340: 737-41.

Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol* 2009; 19: R132-42.

Schnorr B, Kressin M. *Embryologie der Haustiere*, 5. edn. Stuttgart: Enke 2006

Segall A. Über die Entwicklung und den Wechsel der Haare beim Meerschweinchen (*Cavia cobaya* Schreb). *Archiv f mikr Anat* 1918; 91: 218-91.

Senoo M, Pinto F, Crum CP, McKeon F. p63 Is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia. *Cell* 2007; 129: 523-36.

Serri F. Studies on the skin of the fetus and infant. I. Peculiarities in the development and structure of the fetal skin.. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1962; 38: 1165-9.

Sinowatz F, Hees, H. Hautdecke und Anhangsgebilde. In: *Histologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie*. 4.edn. (Sinowatz F, ed.): 2006: 455-69.

Slee J. Developmental morphology of the skin and hair follicles in normal and in 'ragged' mice. *J Embryol Exp Morphol* 1962; 10: 507-29.

Slominski A, Paus R. Melanogenesis is coupled to murine anagen: toward new concepts for the role of melanocytes and the regulation of melanogenesis in hair growth. *J Invest Dermatol* 1993; 101: 90S-7S.

Smith JL, Calhoun ML. The Microscopic Anatomy of the Integument of Newborn Swine. *Am J Vet Res* 1964; 25: 165-73.

Snippert HJ, Haegebarth A, Kasper M, Jaks V, van Es JH, Barker N, van de Wetering M, van den Born M, Begthel H, Vries RG, Stange DE, Toftgard R, Clevers H. Lgr6 marks stem cells in the hair follicle that generate all cell lineages of the skin. *Science* 2010; 327: 1385-9.

Stieda L. Untersuchungen über die Haare des Menschen. *Anat Hefte* 1910; 121

Stöhr P. Entwicklungsgeschichte des menschlichen Wollhaares. *Anat Hefte* 1903; 23: 1-66.

Takagi S, Tagawa M. A cytological and cytochemical study of the sweat gland of the horse. *Jpn J Physiol* 1959; 9: 153-9.

Tobin DJ, Paus R. Graying: gerontobiology of the hair follicle pigmentary unit. *Exp Gerontol* 2001; 36: 29-54.

Toendury G. Embryologie und Hauttopographie. *Arch klin exp Dermatol* 1963; 219: 12-24.

Toldt K. Über den Wert der äußerlichen Untersuchung vorgeschrittener Entwicklungsstadien von Säugetieren. *Verh. zool.-bot. Ges.* 1914; 64: 176-209.

Trempus CS, Morris RJ, Bortner CD, Cotsarelis G, Faircloth RS, Reece JM, Tennant RW. Enrichment for living murine keratinocytes from the hair follicle bulge with the cell surface marker CD34. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 501-11.

Tumbar T, Guasch G, Greco V, Blanpain C, Lowry WE, Rendl M, Fuchs E. Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 2004; 303: 359-63.

Walsh A, Chapman SJ. Sugars protect desmosome and corneosome glycoproteins from proteolysis. *Arch Dermatol Res* 1991; 283: 174-9.

Watt FM. Epidermal stem cells: markers, patterning and the control of stem cell fate. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1998; 353: 831-7.

Watt FM, Jensen KB. Epidermal stem cell diversity and quiescence. *EMBO Mol Med* 2009; 1: 260-7.

Wearne KA, Winter HC, O'Shea K, Goldstein IJ. Use of lectins for probing differentiated human embryonic stem cells for carbohydrates. *Glycobiology* 2006; 16: 981-90.

Wimpfheimer C. Zur Entwicklung der Schweißdrüsen der behaarten Haut. *Anat Hefte* 1907; Abt. 1: 430-503.

Yang CC, Cotsarelis G. Review of hair follicle dermal cells. *J Dermatol Sci* 2010; 57: 2-11.

Yu H, Fang D, Kumar SM, Li L, Nguyen TK, Acs G, Herlyn M, Xu X. Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from human hair follicles. *Am J Pathol* 2006; 168: 1879-88.

Yu H, Kumar SM, Kossenkov AV, Showe L, Xu X. Stem cells with neural crest characteristics derived from the bulge region of cultured human hair follicles. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1227-36.

Zietschmann O, Krölling O. *Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte der Haustiere*, 2. edn. Berlin, Hamburg: Parey Verlag 1955.

## IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Übersicht über die Differenzierung des paraxialen Mesoderms in Sklerotom, Myotom und Dermatome</i> .....	17
<i>Abbildung 2: Übersicht über die Differenzierung des Mesoderms in das paraxiale, intermediäre und das laterale Mesoderm</i> .....	18
<i>Abbildung 3: Übersicht über die Ausbildung der mesodermalen Anteile</i> .....	19
<i>Abbildung 4: Übersicht über einen längsgeschnittenen Haarfollikel im Anagen</i> .....	25
<i>Abbildung 5: Übersicht über einen querschnittenen Haarfollikel im Anagen auf Höhe des suprabulbären Bereiches</i> .....	26
<i>Abbildung 6: Darstellung der Probenentnahmestellen am Rinderfetus, modifiziert nach (RÜSSE &amp; SINOWATZ, 2008)</i> .....	34
<i>Abbildung 7: Beispiel für den Zuschnitt einer Probe und die Ausrichtung der Probenanteile für die Herstellung von Paraplastschnitten</i> .....	36
<i>Abbildung 8: Effekt der Probenverformung auf die Wahrscheinlichkeit des Längsanschnittes der Haaranlagen</i> .....	36
<i>Abbildung 9: Haut von bovinen Feten mit einer SSL von 8,5 cm bis 13,7 cm</i> .....	51
<i>Abbildung 10: Haut von bovinen Feten mit einer SSL von 15,3 cm und 21,0 cm</i> .....	56
<i>Abbildung 11: Haut von bovinen Feten mit einer SSL zwischen 23,8 cm und 31,5 cm</i> .....	62
<i>Abbildung 12: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 34,5 cm</i> .....	66
<i>Abbildung 13: Haut von bovinen Feten mit einer SSL von 37,3 cm und 41,4 cm</i> .....	69
<i>Abbildung 14: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm</i> .....	72
<i>Abbildung 15: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm</i> .....	73
<i>Abbildung 16: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL von 44,8 cm</i> .....	74
<i>Abbildung 17: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 57,6 cm</i> .....	77
<i>Abbildung 18: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 57,6 cm</i> .....	78
<i>Abbildung 19: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 58,0 cm</i> .....	80
<i>Abbildung 20: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 58,0 cm</i> .....	81
<i>Abbildung 21: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 63,0 cm</i> .....	83
<i>Abbildung 22: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 64,8 cm</i> .....	86
<i>Abbildung 23: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 67,8 cm</i> .....	88
<i>Abbildung 24: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 67,8 cm</i> .....	90
<i>Abbildung 25: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 80,5 cm</i> .....	92
<i>Abbildung 26: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 94,5 cm</i> .....	94
<i>Abbildung 27: Haut eines bovinen Fetus mit der SSL 95,0 cm</i> .....	95
<i>Abbildung 28: Haut von Kälbern zwischen dem zweiten und dem neunten Lebenstag</i> .....	98
<i>Abbildung 29: Haut von Kälbern zwischen dem siebten und dem neunten Lebenstag</i> .....	100
<i>Abbildung 30: Bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 20 Monaten</i> .....	102

<i>Abbildung 31: Bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 4,5 Jahren.....</i>	<i>103</i>
<i>Abbildung 32: Expression von Laminin in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 64,8 cm und bovine Haut eines adulten Tieres im Alter von 20 Monaten.....</i>	<i>107</i>
<i>Abbildung 33: Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten zwischen der SSL 11,0 cm und 49,0 cm und in der Haut adulter Tiere im Alter von 20 und 60 Monaten.....</i>	<i>112</i>
<i>Abbildung 34: Expression von <math>\alpha</math>-SMA in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 14,5 cm und 63,0 cm und in der bovinen Haut eines adulten Tieres im Alter von 54 Monaten.....</i>	<i>116</i>
<i>Abbildung 35: Expression von Kollagen Typ IV in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 11,0 cm und 94,5 cm.....</i>	<i>121</i>
<i>Abbildung 36: Expression von S100 in der Haut boviner Feten zwischen der SSL 41,4 cm und 64,8 cm und in der bovinen Haut eines adulten Tieres im Alter von 54 Monaten.....</i>	<i>126</i>
<i>Abbildung 37: Expression von Ki67 in der Haut boviner Feten zwischen einer SSL von 37,3 cm bis 64,8 cm.....</i>	<i>129</i>
<i>Abbildung 38: Expression von p63 in der Haut von bovinen Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 64,8 cm.....</i>	<i>132</i>
<i>Abbildung 39: Expression von p63 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere (fetal SSL 94,5 cm, Kalb neun Tage alt, adult 60 Monate alt).....</i>	<i>134</i>
<i>Abbildung 40: Expression von Keratin 5 und 14 in der Haut boviner Feten mit einer SSL von 8,5 cm und bis 23,8 cm.....</i>	<i>138</i>
<i>Abbildung 41: Expression von Keratin 5 und 14 in der Haut boviner Feten mit einer SSL von 41,4 cm und bis 64,8 cm.....</i>	<i>140</i>
<i>Abbildung 42: Expression des Keratins 8 in der Haut boviner Feten von einer SSL 11,0 cm bis 64,8 cm.....</i>	<i>147</i>
<i>Abbildung 43: Expression des Keratins 8 in der Haut boviner Feten von einer SSL 94,5 cm bis 95,0 cm.....</i>	<i>148</i>
<i>Abbildung 44: Expression von Keratin 15 in der Haut boviner Feten bei einer SSL von 15,7 cm bis 63,0 cm.....</i>	<i>151</i>
<i>Abbildung 45: Expression von Keratin 18 in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 95,0 cm.....</i>	<i>157</i>
<i>Abbildung 46: Expression von Keratin 19 in der Haut boviner Feten mit einer SSL zwischen 11,0 cm und 64,8 cm und in der Haut eines adulten Tieres (Alter 20 Monate).....</i>	<i>161</i>
<i>Abbildung 47: Bindung von Pisum sativum Agglutinin (PSA) in der Haut von bovinen Feten mit einer SSL zwischen 23,8 cm und 94,5 cm.....</i>	<i>165</i>
<i>Abbildung 48: Bindung von SNA in der Haut von bovinen Feten mit einer SSL zwischen 15,7 cm und 63,0 cm.....</i>	<i>171</i>
<i>Abbildung 49: Epidermis eines bovinen Fetus mit der SSL 10,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i>	<i>179</i>
<i>Abbildung 50: Ausschnitt aus den apikalen Schichten der Epidermis eines bovinen Fetus mit der SSL 10,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße).....</i>	<i>180</i>

<i>Abbildung 51: Epidermis und Haarzapfen eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>183</i>
<i>Abbildung 52: Ausschnitt aus dem Stratum basale der Epidermis und subepidermalem Bindegewebe eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>184</i>
<i>Abbildung 53: Ausschnitt aus dem Übergang zwischen Stratum basale und Stratum spinosum der Epidermis im Bereich einer Haaranlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>185</i>
<i>Abbildung 54: Ausschnitt aus dem Stratum spinosum der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>186</i>
<i>Abbildung 55: Ausschnitt aus den apikalen Zelllagen des Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße).....</i>	<i>187</i>
<i>Abbildung 56: Ausschnitt aus den apikalen Zelllagen des Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße).....</i>	<i>188</i>
<i>Abbildung 57: Ausschnitt aus den äußeren Zellreihen eines Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße).....</i>	<i>189</i>
<i>Abbildung 58: Übersicht über eine dermale Präpapille mit zugehörigem Haarzapfen eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel) .....</i>	<i>190</i>
<i>Abbildung 59: Ausschnitt aus dem unteren Anteil eines Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel) .....</i>	<i>190</i>
<i>Abbildung 60: Ausschnitt aus der dermalen Präpapille eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel).....</i>	<i>191</i>
<i>Abbildung 61: Übersicht über die Schweißdrüsenanlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 25,5 cm (Hautareal: Scheitel) .....</i>	<i>192</i>
<i>Abbildung 62: Ausschnitt aus dem Bereich der dermalen Präpapille und des zugehörigen Haarzapfens eines bovinen Fetus mit einer SSL von 31,5 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf) .....</i>	<i>193</i>
<i>Abbildung 63: Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf) .....</i>	<i>195</i>
<i>Abbildung 64: Ausschnitt aus dem Stratum basale der Epidermis und subepidermalem Bindegewebe eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf) .....</i>	<i>196</i>
<i>Abbildung 65: Ausschnitt aus dem Stratum basale und spinosum der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf).....</i>	<i>197</i>
<i>Abbildung 66: Ausschnitt aus dem Stratum spinosum und dem Periderm der Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: dorsaler Rumpf).....</i>	<i>198</i>
<i>Abbildung 67: Haaranlage mit Haarwulst eines bovinen Fetus einer der SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>199</i>
<i>Abbildung 68: Ausschnitt aus dem Haarwulst eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>200</i>
<i>Abbildung 69: Ausschnitt aus den zentralen Zellen der Haaranlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>200</i>

<i>Abbildung 70: Übersicht über einen Querschnitt von Haaranlage und Schweißdrüsenausführungsgang eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene</i> .....	202
<i>Abbildung 71: Querschnitt des Schweißdrüsenausführungsganges eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene</i> .....	203
<i>Abbildung 72: Querschnitt des Schweißdrüsenausführungsganges eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) in einer subepidermalen Ebene</i> .....	204
<i>Abbildung 73: Talgdrüsenanlage eines bovinen Fetus mit einer SSL von 44,0 cm (Hautareal: Hintergliedmaße)</i> .....	205
<i>Abbildung 74: Epidermis eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)</i> .....	207
<i>Abbildung 75: Ausschnitt aus dem Stratum basale eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: ventraler Rumpf)</i> .....	208
<i>Abbildung 76: Querschnitt durch einen sekundär gebildeten Haarfollikel eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	209
<i>Abbildung 77: Ausschnitt eines Melanozyten in einem sekundär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	210
<i>Abbildung 78: Ausschnitt eines Melanozyten mit angrenzenden Zellen der äußeren Haarwurzelscheide in einem sekundär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	210
<i>Abbildung 79: Querschnitt durch einen primär gebildeten Haarfollikel eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich</i> .....	212
<i>Abbildung 80: Ausschnitt aus der äußeren Haarwurzelscheide eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich</i> .....	213
<i>Abbildung 81: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im suprabulbären Bereich</i> .....	214
<i>Abbildung 82: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) im Bereich des Isthmus</i> ....	215
<i>Abbildung 83: Ausschnitt aus den verschiedenen Anteilen eines primär gebildeten Haarfollikels eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	216
<i>Abbildung 84: Haarzwiebel mit dermaler Papille eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	217
<i>Abbildung 85: Schweißdrüsenendstück eines bovinen Fetus mit einer SSL von 67,8 cm (Hautareal: Vordergliedmaße)</i> .....	218
<i>Abbildung 86: Periderm eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: Hintergliedmaße)</i> .....	219

---

<i>Abbildung 87: Schweißdrüsenausführungsgang eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>220</i>
<i>Abbildung 88: Randbereich einer Talgdrüse eines bovinen Fetus mit einer SSL von 80,5 cm (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>221</i>
<i>Abbildung 89: Schweißdrüsenendstück eines bovinen Fetus mit einer SSL von 94,5 cm (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>222</i>
<i>Abbildung 90: Haarzwiebel mit dermaler Papille eines neun Tage alten Kalbes im Katagen des Haarzyklus (Hautareal: ventraler Rumpf) .....</i>	<i>224</i>
<i>Abbildung 91: Übersicht über eine Talgdrüse, einen Schweißdrüsenausführungsgang und eine Haaranlage eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>226</i>
<i>Abbildung 92: Talgdrüse eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>227</i>
<i>Abbildung 93: Schweißdrüsenausführungsgang eines 20 Monate alten Rindes (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>227</i>
<i>Abbildung 94: Haarfollikel eines 20 Monate alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>228</i>
<i>Abbildung 95: Haarfollikel eines 4,5 Jahre alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>230</i>
<i>Abbildung 96: Haarfollikel eines 4,5 Jahre alten Rindes auf Höhe des Isthmus (Hautareal: Vordergliedmaße) .....</i>	<i>231</i>

## X. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Übersicht über die Umrechnungsmöglichkeit von der gemessenen Scheitel-Steiß-Länge zum Graviditätsstadium, nach RÜSSE &amp; SINOWATZ (2008).....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 2: Übersicht über die untersuchten Feten, Kälber und adulten Tiere .....</i>	<i>32</i>
<i>Tabelle 3: Anatomische Strukturen als Grenzpunkte für die Probenentnahmestellen.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 4: Verwendetes Probenmaterial für die histologischen, immunhistochemischen und glykohistochemischen Untersuchungen (Feten der SSL 8,5 cm-37,3 cm).....</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 5: Verwendetes Probenmaterial für die histologischen, immunhistochemischen und glykohistochemischen Untersuchungen (Feten der SSL 41,4 cm-95,0 cm, Kälber, sowie adulte Tiere) .....</i>	<i>39</i>
<i>Tabelle 6: Übersicht: Immunhistochemisch untersuchte Antigene, Herkunft der Primär- und Sekundärantikörper, Verdünnungen, Inkubationszeiten, Vorbehandlungen, Positivkontrollen .....</i>	<i>44</i>
<i>Tabelle 7: Übersicht über die verwendeten Lektine, ihre botanische Herkunft, sowie Positivkontrollen und Hemmzucker .....</i>	<i>46</i>
<i>Tabelle 8: Expression von Laminin in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>109</i>
<i>Tabelle 9: Übersicht Expression von Vimentin in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>113</i>
<i>Tabelle 10: Übersicht Expression von <math>\alpha</math>-SMA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>118</i>
<i>Tabelle 11: Übersicht Expression von Kollagen IV in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>123</i>
<i>Tabelle 12: Übersicht Expression von S100 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere....</i>	<i>127</i>
<i>Tabelle 13: Expression von p63 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>135</i>
<i>Tabelle 14: Expression des Keratins 5 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>142</i>
<i>Tabelle 15: Übersicht Expression des Keratins 14 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>145</i>
<i>Tabelle 16: Expression des Keratins 15 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>153</i>
<i>Tabelle 17: Expression des Keratins 18 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>158</i>
<i>Tabelle 18: Übersicht Expression des Keratins 19 in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere .....</i>	<i>162</i>
<i>Tabelle 19: Übersicht über das Bindungsmuster von ConA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>163</i>
<i>Tabelle 20: Übersicht über das Bindungsmuster von PSA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>164</i>
<i>Tabelle 21: Übersicht über das Bindungsmuster von RCA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>167</i>
<i>Tabelle 22: Übersicht über das Bindungsmuster von PNA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>168</i>

---

<i>Tabelle 23: Übersicht über das Bindungsmuster von GSL-I in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>169</i>
<i>Tabelle 29: Übersicht über das Bindungsmuster von SNA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>170</i>
<i>Tabelle 24: Übersicht über das Bindungsmuster von WGA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>173</i>
<i>Tabelle 25: Übersicht über das Bindungsmuster von s-WGA in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>174</i>
<i>Tabelle 26: Übersicht über das Bindungsmuster von MAA-I in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>175</i>
<i>Tabelle 27: Übersicht über das Bindungsmuster von PHA-E in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>176</i>
<i>Tabelle 28: Übersicht über das Bindungsmuster von PHA-L in der Haut boviner Feten, Kälber und adulter Tiere.....</i>	<i>177</i>

## XI. ANHANG

### 1. Lösungen für die Lichtmikroskopie

#### 1.1. Fixanzen

*Bouin- Lösung:*

• Gesättigte wässrige Pikrinsäure <sup>1</sup> (filtriert)	375 ml
• 37% Formaldehyd <sup>1</sup>	125 ml
• 100% Essigsäure <sup>2</sup>	25 ml

*3,7% Formol:*

• DEPC- Wasser (2 l Aqua dest. +1,5 ml DEPC <sup>2</sup> (Diethylpyrocarbonat) +Autoklavierung)	567 ml
• PBS-10x Konzentrat (Phosphate Buffered Saline Solution) <sup>1</sup>	63 ml
• 37% Formaldehyd	70 ml

#### 1.2. Lösungen für histologische Färbungen

##### 1.2.1. Hämalun- Eosin (HE) nach Meier

*Hämalun:*

• Hämatoxilin <sup>1</sup>	2 g
• Natriumjodat <sup>5</sup>	0,4 g
• Kalialun p.A. <sup>4</sup>	100 g
• Chloralhydrat <sup>4</sup>	100 g
• Zitronensäure krist. <sup>7</sup>	2 g
• ad Aqua dest.	2 l

*Eosin:*

1% Stammlösung:	
• Eosin <sup>1</sup>	2 g
• ad Aqua dest.	198 ml
• 37% Formaldehyd	5 Tropfen
Verdünnung für Färbung:	
• Stammlösung	1 Teil
• ad Aqua dest.	10 Teile
• 100% Essigsäure	5 Tropfen/100 ml Verdünnung

**1.2.2. Alcianblau***Alcianblau pH 2,5:*

• Alcianblau <sup>4</sup>	1 g
• ad 3% Essigsäure	100 ml
• pH Einstellung und Filtration	
• Thymol krist. <sup>4</sup>	0,5 g

*Alcianblau pH 1,0:*

• Alcianblau	1 g
• ad 0,1N Salzsäure <sup>7</sup>	100 ml
• pH Einstellung und Filtration	
• Thymol <sup>4</sup>	0,5 g

*3% Essigsäure:*

• Essigsäure 100%	30 ml
• ad Aqua dest.	1 l

*Kernechtrot<sup>1</sup>*

### 1.2.3. PAS-Reaktion nach Mc Manus

*α-Amylase 0,5% :*

• α-Amylase <sup>4</sup>	10 mg
• ad Aqua dest.	2 ml

*0,5% wässrige Perjodsäure:*

• Perjodsäure <sup>4</sup>	1 g
• Aqua dest.	200 ml

*Schiff'sches Reagenz<sup>4</sup>*

*SO<sub>2</sub>-Wasser:*

• N-Salzsäure:	Salzsäure konz.	3 ml
	Aqua dest.	27 ml
• 10% Natriumpyrosulfitlösung:	Natriumpyrosulfit <sup>4</sup>	3,003 g
	Aqua dest.	30 ml
• Leitungswasser		600 ml

*Hämalaun*

### 1.2.4. Trichromfärbung nach Masson und Goldner

*Eisenhämatoxylin nach Weigert:*

• Lösung A:	Hämatoxylin	1 g
	96% Ethanol	100 ml
	eine Woche reifen lassen	
• Lösung B:	EisenIIIchlorid <sup>4</sup>	2,48 g
	Aqua dest.	100 ml
	Salzsäure konz. <sup>4</sup>	1 ml
• →Lösung A mit Lösung B im Verhältnis 1:1 mischen		

*Azophloxinlösung:*

• Azophloxin <sup>1</sup>	0,5 g
• Aqua dest.	100 ml
• 100% Essigsäure	0,2 ml

*1% Essigsäure:*

• 100% Essigsäure	10 ml
• ad Aqua dest.	1 l

*Phosphormolybdänsäure- Orange:*

• Phosphormolybdänsäure <sup>4</sup>	4 g
• Aqua dest.	100 ml
• Orange G <sup>4</sup>	2 g

*Lichtgrün:*

• Lichtgrün <sup>4</sup>	0,2 g
• Aqua dest.	100 ml
• 100% Essigsäure	0,2 ml

**1.2.5. Silberimprägnation nach Gomori***0,5% Kaliumpermanganatlösung:*

• Kaliumpermanganat <sup>4</sup>	500 mg
• ad Aqua dest.	100 ml

*2% Kaliumdisulfitlösung:*

• Kaliumdisulfit <sup>4</sup>	2 g
• ad Aqua dest.	100 ml

*2% Eisenammoniumsulfatlösung:*

• Eisenammoniumsulfat <sup>7</sup>	2 g
• ad Aqua dest.	100 ml

*Ammoniakalische Silbernitratlösung :*

• 10% Silbernitratlösung:	Silbernitrat <sup>7</sup>	1 g
	ad Aqua dest.	10 ml
• 10% Kalilauge:	Kaliumhydroxid <sup>7</sup>	200 mg
	ad. Aqua dest.	2 ml
→ brauner Niederschlag		
• Ammoniak <sup>7</sup>	tropfenweiser Zusatz	
→ vollständige Auflösung des Niederschlages		
• 10% Silbernitratlösung	tropfenweiser Zusatz	
→ klare Lösung mit leicht braunem Farbton		
• ad Aqua dest.	auf das doppelte Volumen auffüllen	

*0,1% Goldchloridlösung:*

• Goldchlorid <sup>7</sup>	100 mg
• ad Aqua dest.	100 ml

*1% Natriumthiosulfatlösung:*

• Natriumthiosulfat <sup>7</sup>	1 g
• ad Aqua dest.	100 ml

**2. Lösungen für die immunhistochemischen Untersuchungen***PBS (Phosphate- Buffered- Saline- Solution) (pH:7,4):*

• Natriumchlorid <sup>4</sup>	42,5 g
• Di- Natrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat <sup>4</sup>	6,35 g
• Di- Natrium-Hydrogenphosphat-Monohydrat <sup>4</sup>	1,95 g
• ad Aqua dest.	5 l

*Vorbehandlungen:*

Mikrowellenvorbehandlung (2 bzw. 3x10 min) in Citratpuffer (pH 6,1):	Stammlösung A:		
	Zitronensäure <sup>4</sup> 0,1M:	Zitronensäure	21,01 g
		ad Aqua dest.	1 l
	Stammlösung B:		
	Natriumcitrat <sup>4</sup> 0,1M:	Natriumcitrat	29,4 g
		ad Aqua dest.	1 l
Protease 0,1% <sup>1</sup> (10 min/ RT)			
Trypsin <sup>1</sup> (20 min/ RT)			

*7,5% Hydrogenperoxidlösung:*

• 30% Hydrogenperoxidlösung <sup>4</sup>	50 ml
• Aqua dest.	150 ml

*Protein Block Serum Free with Background reducing components<sup>1</sup>**StreptAB- Complex<sup>1</sup>**DAB- Hydrogenperoxidlösung:*

• DAB- Lösung:	DAB- Tabletten <sup>1</sup> (10 mg)	6 Stück
	ad Aqua dest.	60 ml
→ abgedunkelt auf Magnetrührer auflösen und filtrieren (unter Abzug!)		
• Hydrogenperoxidlösung:	PBS (pH 7,4)	5 ml
	Hydrogenperoxidlösung 30% <sup>7</sup>	15 µl
→ 400 µl Hydrogenperoxidlösung mit 60 ml DAB- Lösung mischen		

### 3. Lösungen für die glykohistochemischen Untersuchungen

#### 3.1. Fluoreszenzfarbstoffe

*DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol)- Verdünnung:*

• DAPI- Verdünnung <sup>1</sup> (1µg/µl)	1 µl
• ad PBS pH 7,4	1 ml

#### 3.2. Eindeckmedium

*PVA (polyvinyl alcohol)- Mounting- Medium Eindeckmedium:*

• Tris- Base 1M:	Trizma® Base <sup>3</sup>	12,2 g
	ad Aqua dest.	100 ml
• Tris- Phosphate 1M:	Trizma® Phosphate Monobasic <sup>3</sup>	21,9 g
	ad Aqua dest.	100 ml
→ Tris- Base 1M mit Hilfe von Tris- Phosphate 1M auf pH 9,0 einstellen		
• Tris- Base 1M pH 9,0		5 ml
• Aqua dest.		75 ml
→ erhitzen auf 95°C		
• PVA <sup>3</sup>		20 g
• Glycerol <sup>3</sup>		10 ml

### 4. Lösungen für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen

#### 4.1. Fixanzen

*Fixierlösung nach Karnovsky:*

• Karnovsky- Stammlösung (siehe unten)	8 ml
• Glutaraldehyd 25% <sup>1</sup>	1,37 ml
→ erst kurz vor Gebrauch mischen	

*Karnovsky- Stammlösung:*

• 10% Paraformaldehydlösung:	Paraformaldehyd <sup>4</sup>	10 g
	ad Aqua dest.	100 ml
	Natriumhydroxid 1M <sup>4</sup>	bis zu 6 Tropfen
→ 10% Paraformaldehydlösung:		20 ml
• Cacodylat- Puffer, 0,2M (pH 7,2)		50 ml
• Kalziumchlorid (wasserfrei) <sup>1</sup>		0,05 g

**4.2. Puffer***Cacodylat- Puffer 0,2M (pH 7,2):*

• Lösung A:	Sodium cacodylat <sup>13</sup> (Na(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> AsO <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O)	8,56 g
	ad Aqua dest.	200 ml
→ Lösung A		50 ml
• Lösung B:	Aqua dest	100 ml
	Salzsäure 0,2M <sup>7</sup>	pH einstellen
→ Lösung B		100 ml

*Cacodylat- Puffer 0,1M (pH 7,2):*

• Cacodylat- Puffer 0,2M (pH 7,2) siehe oben	50 ml
• Aqua dest.	50 ml

**4.3. Kontrastierungslösungen***2% Osmiumtetroxid- Lösung*

• 4% Osmiumtetroxid <sup>1</sup>	2 ml
• Cacodylat- Puffer 0,1M	2 ml

*3% Kaliumferrocyanid- Lösung:*

• Kaliumferrocyanid <sup>3</sup>	0,3 g
• ad Cacodylat- Puffer 0,1M	10 ml

*1% Osmiumtetroxid - 1,5% Kaliumferrocyanid in Cacodylat- Puffer 0,1M:*

• 2% Osmiumtetroxid- Lösung	4 ml
• 3% Kaliumferrocyanid- Lösung	4 ml

#### 4.4. Einbettmedien

*Propylenoxid<sup>15</sup>*

*Epon:*

• Poly/ bed 812 <sup>15</sup> (1,2,3- Propanetriol, polymer with (Chloromethyl) oxirane)	20 ml
• DDSA <sup>15</sup> (Dodecanyl succinic Anhydride)	16 ml
• NMA <sup>15</sup> (Nadic Methyl Anhydride)	10 ml
• BDMA <sup>15</sup> (N,N- Benzyl dimethylamine)	1,4 ml

#### 4.5. Färbelösungen

*Methylenblau nach Richardson:*

• Lösung A:	Methylenblau <sup>1</sup>	1 g
	1% Borax <sup>14</sup> (Natriumtetraboral- decahydrat)- Lösung	100 ml
→ Lösung A		100 ml
• Lösung B	Azur II <sup>14</sup>	1 g
	ad Aqua dest.	100 ml
→ Lösung B		100 ml

#### 4.6. Nachkontrastierungsmedien

*Uranylacetat<sup>13</sup> (gesättigte Lösung)*

*Bleicitratlösung nach Reynolds:*

• Natriumcitrat Stock:	Natriumcitrat <sup>4</sup> Na <sub>3</sub> (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub> )x2H <sub>2</sub> O	35,7 g	
	ad Aqua dest.	100 ml	
→ Natriumcitrat Stock			3 ml
• Bleinitrat Stock:	Bleinitrat <sup>4</sup> (Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )	33,1 g	
	ad Aqua dest.	100 ml	
→ Bleinitrat Stock			2 ml
• ad Aqua dest.			100 ml
• Natriumhydroxid <sup>4</sup> 1M	tropfenweise zugeben bis Lösung klar		

1 Fluka Chemie GmbH, Steinheim

2 Carl Roth GmbH, Karlsruhe

3 Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim

4 Merck, Darmstadt

5 Riedel- de Haën AG, Seelze- Hannover

6 Herstellung: Apotheke der klinischen Universitäts- Anstalten München

7 Sigma Chemical Company, St. Louis, USA

8 Dako, Hamburg

9 Dako, Glostrup, Dänemark

10 Kem- En- Tec Diagnostics, Taastrup, Dänemark

11 Roche, Mannheim

12 Agar Scientific LTD, Essex, England

13 Serva, Heidelberg

14 Polysciences Inc., Warrington, USA

15 Grübler, Stuttgart- Untertürkheim

## **XII. DANKSAGUNG**

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. Dr. habil. F. Sinowatz für die Überlassung dieses interessanten und aktuell fortschreitenden Themas danken. Auch für die gute Betreuung, in der ich mich auf stetige Unterstützung und fachliche Anregungen verlassen konnte, bin ich sehr dankbar.

Für die Betreuung meiner Arbeit danke ich außerdem Frau Dr. R. Kenngott, die nicht nur durch fachlichen Beistand einen großen Teil zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen, sondern mich auch in die Geheimnisse des Schlachthofs eingeweiht hat und mir eine große moralische Unterstützung war.

Auch Herrn Dr. F. Habermann, der mir bei vielen fachlichen und technischen Fragen geduldig und unermüdlich zur Seite stand, danke ich vielmals.

Ohne die stets freundliche Hilfe von Frau C. Neumüller und Frau W. Scholz in allen Belangen der Transmissionselektronenmikroskopie, wären die entsprechenden Untersuchungen nicht möglich gewesen. Hierfür mein besonderer Dank.

Frau M. Vermehren danke ich für den stets konstruktiven fachlichen Austausch in vielen Fragen der Labortechnik, aber auch für ihre Fürsorge um mein seelisches wie leibliches Wohl in den anstrengenderen Phasen der Arbeit.

Für die gründliche Einführung in die Immunhistochemie und die Antworten auf meine zahlreichen Fragen möchte ich Frau G. Rußmeier danken.

Auch Herrn Y. Gök danke ich für die technische Unterstützung.

Für die Unterstützung der Korrekturarbeiten möchte ich Frau Dr. B. Schick, Herrn R. Naßhan, Herrn D. Ebach und Frau C. Ebach danken.

Herrn J. Wendl danke ich für die nette Zusammenarbeit.

Herrn S. Baidl und Herrn H. Kelm danke ich für das Ermöglichen zahlreicher Schlachthofbesuche und ihre Hilfsbereitschaft bei Korrektur und Druck.

Nicht zuletzt möchte ich auch meinem Lebensgefährten Jan-Bart, meinen Eltern und meinem Hund Nando für die geduldige Unterstützung danken.