

**Licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie zur  
postnatalen Entwicklung der Blinddärme des Huhnes  
(Gallus domesticus)**

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

von

**Ulrich Cornelius Stähle**  
aus Tübingen

München 2015

**Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Rüdiger Wanke

Angefertigt am

Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik

der Universität Hohenheim

Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie der Haustiere

Mentor: Univ.-Prof. Dr. W. M. Amselgruber

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians Universität München**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Rüdiger Wanke

**Korreferent/en:** Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger

**Tag der Promotion: 31. Januar 2015**

## **Meinen Eltern**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht .....</b>	<b>2</b>
2.1	Darmentwicklung .....	2
2.1.1	Allgemeine Embryologie .....	2
2.1.2	Spezielle embryonale- und postnatale Entwicklung von Dün- und Dickdarm ( <i>Intestinum tenue</i> und <i>Intestinum crassum</i> ).....	3
2.2	Makroskopische Anatomie.....	7
2.2.1	Morphologie .....	7
2.2.2	Immunologische Einrichtungen der Blinddärme .....	10
2.2.3	Gefäß- und Nervenversorgung der Blinddärme .....	12
2.3	Mikroskopische Anatomie der Blinddärme .....	14
2.3.1	Tunica mucosa.....	14
2.3.2	Tela submucosa .....	18
2.3.3	Tunica muscularis.....	18
2.3.4	Tunica serosa.....	18
2.4	Funktion / Physiologie.....	19
2.4.1	Füllung und Entleerung .....	19
2.4.2	Verdauung und Resorption.....	19
2.5	$\alpha$ - und $\gamma$ -Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -/ $\gamma$ -SMA).....	20
2.6	Mucine (MUC-Familie) .....	21
2.7	Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) .....	22
2.8	Panleukozytenmarker (CD45).....	22
2.9	T-Zellmarker (CD3) .....	23
2.10	B-Zellmarker (L-Kette) .....	23
2.11	Plasmazellmarker (Plasma cell induced resident endoplasmic reticulum protein; RP-11).....	24
<b>3</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>26</b>
3.1	Untersuchungsmaterial.....	26

3.2	Probenentnahme und Probenaufarbeitung.....	27
3.3	Rasterelektronenmikroskopie.....	28
3.4	Histologie.....	29
3.5	Immunhistochemie.....	30
3.6	Auswertung.....	33
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>35</b>
4.1	Makroskopische Morphologie.....	35
4.2	Rasterelektronenmikroskopie.....	38
4.3	Histomorphologie.....	47
4.4	Immunhistochemie.....	55
<b>5</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>65</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>75</b>
<b>7</b>	<b>Summary.....</b>	<b>77</b>
<b>8</b>	<b>Verzeichnisse.....</b>	<b>79</b>
8.1	Literaturverzeichnis.....	79
8.2	Abkürzungsverzeichnis.....	99
8.3	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.....	101
<b>9</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>104</b>
<b>10</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>115</b>

# 1 Einleitung

Das Huhn besitzt aufgrund einer hohen Fleisch- und Legeleistung bei gleichzeitig guter Futtermittelverwertung heute weltweit eine große wirtschaftliche Bedeutung. Auch als Tiermodell eignet sich das Huhn aufgrund einer hohen Reproduktionsrate und der extrauterinen embryonalen und fetalen Entwicklung hervorragend.

Als Anpassung an das Flugvermögen war das Huhn, wie auch alle anderen Vögel, einigen phylogenetischen Adaptionsvorgängen mit dem Ziel der Gewichtsreduktion unterworfen. Neben deutlichen Veränderungen u. a. am knöchernen Skelett sowie im Harn- und Geschlechtsapparat fand auch am Darm eine starke Gewichtsabnahme statt. So ist dieser im Verhältnis zur Körpergröße deutlich kürzer ausgebildet als beim Säuger. Trotz der damit einhergehenden verkürzten Passagezeit ist das Huhn in der Lage eine hohe Futtermittelverwertung zu realisieren. Diese physiologische Fähigkeit findet durch das Vorhandensein von Zotten als Oberflächenvergrößerung in nahezu dem gesamten Darm des Huhnes seine morphologische Entsprechung.

Trotz gewichtsreduzierender Vorgänge besitzen viele Vogelarten, so auch das Huhn, lange, paarige Blinddärme. Die Notwendigkeit und Funktion dieser Blinddärme ist bis heute in nicht hinreichend befriedigender Weise geklärt. Somit soll in dieser Arbeit durch die rasterelektronenmikroskopische, histologische und immunhistochemische Beobachtung morphologischer Strukturen unter Berücksichtigung der postnatalen Entwicklung ein Beitrag zum Verständnis dieses Darmabschnittes geleistet werden.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Darmentwicklung

#### 2.1.1 Allgemeine Embryologie

Als Ergebnis zahlreicher Zellteilungsvorgänge entsteht am Ende der Keimblattbildung beim Huhn das äußere (*Ectoderm*), das mittlere (*Mesoderm*) und das innere Keimblatt (*Entoderm*) (Chuai et al., 2012). Aufgrund von Differenzierungen am *Mesoderm* sowie der Bildung des *Amnions* kommt es zur Abhebung und Einbiegung des Embryos im Bereich der Grenzfurche. Die daraus resultierende Wölbung und Einschnürung des embryonalen Entoderms führt zur Anlage der Darmrinne (Schnorr und Kressin, 2011). Diese entwickelt sich im weiteren Verlauf vorne und hinten zu einem geschlossenen Hohlorgan und scheidet schließlich unter weiterer Einbiegung des Embryos aus dem Dottersack aus (Romanoff, 1960). Die Darmanlage besteht im Folgenden aus der Mitteldarmhöhle, welche vorne von der vorderen Darmbucht mit der vorderen Darmpforte und hinten von der hinteren Darmbucht mit hinterer Darmpforte begrenzt wird (Michel, 1995). Weiter engt sich der Darmnabel, der mit dem Dottersack in Verbindung steht, ein und bildet den Dottersackstiel (*Pedunculus vitellinus*, *Ductus omphaloentericus*) (Romanoff, 1960). Durch die weitere kraniokaudale Krümmung kommt es zur Ausbildung der ektodermalen Mund- (*Stomatodaeum*) und Afterbucht (*Proctodaeum*) (Patten, 1957). Diese sind durch die Rachenmembran (*Membrana oropharyngealis*) und die Kloakenmembran (*Membrana cloacalis*) verschlossen (Schnorr und Kressin, 2011). Die beiden von *Entoderm* und *Ectoderm* gebildeten Membranen reißen bald ein und es entsteht der kranial bis kaudal geöffnete primäre Darm (Michel, 1995). Dieser lässt sich nachfolgend in drei Abschnitte gliedern: den Vorderdarm (*Proenteron*), den Mitteldarm (*Mesenteron*) und den Hinterdarm (*Metenteron*) (Romanoff, 1960). Aus dem kranial gelegenen Vorderdarm entwickeln sich im weiteren Verlauf Speiseröhre (*Oesophagus*), Kropf (*Ingluvies*), Drüsen- (*Proventriculus*) und Muskelmagen (*Ventriculus*), Zwölffingerdarm (*Duodenum*) und Darmanhangsdrüsen. Der Dünndarm entwickelt sich mit Ausnahme des Duodenums aus dem Mitteldarm. Aus dem Hinterdarm entwickeln sich die Blinddärme (*Caeca*), Mastdarm (*Rectum*) und die Kloake (Schnorr und Kressin, 2011).

### **2.1.2 Spezielle embryonale- und postnatale Entwicklung von Dün- und Dickdarm (*Intestinum tenue* und *Intestinum crassum*)**

Nach dem Ausscheiden des Darmes aus dem Dottersack und seiner Entwicklung zum kranial und kaudal geöffneten Darmrohr, verläuft dieser zunächst gerade. Mitte des fünften Tages *post incubationem* (p.i.) kommt es unter dem Einfluss verstärkten Wachstums des Darmes gegenüber dem restlichen Körper zur Bildung einer Schleife, der primären Darmschleife. Diese entsteht durch ein kaudoventrales Ausweichen des Darmes von seiner ursprünglichen Achse und gleichzeitiger kaudodorsaler Verlagerung des Anfangsteils des absteigenden Abschnitts (Kersten, 1912). Mit ihrem ventralen Anteil reicht sie in den Nabel hinein (Romanoff, 1960). Durch fortschreitendes Längenwachstum bildet sich hinter dem Magen zuerst eine S-förmige Krümmung aus, welche sich jedoch bald unter dem Wachstum der dazwischenliegenden Bauchspeicheldrüse (*Pancreas*) zur Duodenalschleife entwickelt (Kersten, 1912).

Während des sechsten Tages p.i. erreicht die Duodenalschleife durch verstärktes Wachstum beinahe die ventrale Bauchwand und zeigt ab Ende des siebten Tages durch weitere Größenzunahme des *Pancreas* eine kaudale Ausrichtung (Romanoff, 1960). Durch starkes Längenwachstum des absteigenden Astes kommt es am 13. Tag p.i. zu einer Aufrollung des Duodenums. Dieser Vorgang wird jedoch bald durch Verlängerung des aufsteigenden Astes umgekehrt, so dass am Ende des 16. Tages p.i. beide Schenkel eng aneinander in der rechten Körperhälfte zu liegen kommen (Romanoff, 1960).

Ebenfalls Mitte des fünften Tages p.i. beginnt sich die Primitivschleife aufgrund weiteren Längenwachstums um ihre eigene Achse zu drehen. Dieser Vorgang ist am elften Tag p.i. beendet, wobei es sich aufgrund der geringen Längenzunahme des Enddarmes, anders als beim Säuger, nur um eine 180° Drehung handelt. Die am Ende des 14. Tages p.i. einen Zentimeter extraembryonal gelegenen Darmanteile werden ab dem 16. Tag p.i. in die Körperhöhle zurückgezogen, welchen bis zum Ende des 19. Tages p.i. der Dottersackstiel und Dottersackrest folgen.

Zwischen dem Ende des dritten und den ersten Stunden des vierten Tages p.i. treten erste morphologisch sichtbare Anlagen der Blinddärme auf. Sie erscheinen als bilateral symmetrische Schwellungen auf halber Strecke zwischen Nabel und Allantois-Divertikel (Maumus, 1902). Sie entstehen zuerst passiv durch eine absolute Verengung des Darmes kranial und kaudal der späteren Anlage, wobei diese selbst nicht an der Verengung teilnimmt. In der weiteren

Entwicklung kommt es durch Mesenchymverdickungen, welche dem Mitteldarm entstammen, zu einem aktiven Wachstum der Blinddarmanlagen. Hierbei ist die linke Verdickung sowohl in der Transversalen als auch in der Longitudinalen stärker, wodurch es zu einer Asymmetrie der beiden Anlagen kommt (Kersten, 1912). Mitte des vierten bis fünften Bruttages vertiefen sich ventrale Teile des Darmlumens im Bereich der Anlagen zu flachen, muldenförmigen Ausbuchtungen. Diese erweitern sich im Folgenden zu einer Rinne und wachsen weiter in das Mesenchym der Blinddarmanlagen ein. Im Verlauf der zweiten Hälfte des fünften Tages p.i. beginnen sich die Blinddarmwülste unter Ausbildung des Mesocaecums / *Ligamenta iliocecalia* vom Dünndarm abzulösen und an ihm entlang nach kranial zu wachsen (Romanoff, 1960). Mit weiterem Wachstum gehen auch die noch bestehenden Größenunterschiede zwischen linkem und rechtem *Caecum* zurück (Kersten, 1912).

Mit Entwicklung der *Caeca* ab Ende des vierten Tages p.i. spricht man von dem weiter distal verlaufenden Darmabschnitt als Dickdarm im eigentlichen Sinne. Zwischen dem fünften und siebten Tag p.i. verliert er durch starkes Epithelwachstum sein Lumen (Kersten, 1912), welches er jedoch ab dem zwölften Tag p.i. durch Ausdehnung der Darmwand und Atresie der im Zentrum befindlichen Zellen vollständig zurückerhält (von Pap, 1933).

### Entwicklung der luminalen Oberfläche

Bis zum dritten Tag p.i. ist der Dünndarm von einem einschichtigen Zylinderepithel bedeckt (Forssner, 1907). Im Verlauf des vierten Tages p.i. zeigt er eine pseudogeschichtete Gestalt (von Pap, 1933). Aufgrund des umgebenden Mesenchyms und der glatten Muskulatur kommt es durch die Epithelzellproliferation zur Bildung von Falten (Burgess, 1975). Um den achten Tag p.i. verlaufen zwei longitudinale, sich gegenüber liegende Falten durch den Darm. Zwischen dem neunten und zehnten Tag p.i. erscheinen zwischen den bestehenden Falten zwei weitere longitudinale Falten (Coulombre und Coulombre, 1958). Diesen folgen in der weiteren Entwicklung weitere longitudinale Falten, so dass sich bereits am 13. Bruttage 16 Falten in das Darmlumen vorwölben (Grey, 1972). Etwa um den 14. bis 15. Tag p.i. beginnen sich die Falten von ihrer ursprünglichen geraden Verlaufsform in ein Zickzack-Muster zu legen. Ausgehend vom *Duodenum* bilden sich die Falten am 18. bis 19. Tag p.i. in kaudaler Richtung fortschreitend zu Zotten um (von Pap, 1933; Coulombre und Coulombre, 1958; Lim und Low, 1977), wobei sich das Zickzack-Muster in der Anordnung der Zotten noch bis zum 20. Tag p.i. erkennen lässt (Grey, 1972). Die Entwicklung der Lieberkühn'schen Krypten lässt sich um den 17. Tag p.i.

anhand kleiner Epitheleinstülpungen, welche durch vermehrt mitotische Aktivität im Epithel zwischen den sich entwickelnden Zotten zustande kommen, beobachten (von Pap, 1933). Zum Zeitpunkt des Schlupfes sind die Krypten noch rudimentär, erreichen jedoch nach zwei bis drei Tagen ihre endgültige Form und Größe (Geyra et al., 2001). Nahezu alle Zellen, sowohl in den Krypten als auch entlang der Zotten, zeigen zum Zeitpunkt des Schlupfes Zellteilungsvorgänge (Uni et al., 1998). Diese bleiben im weiteren Verlauf der postnatalen Entwicklung jedoch mehr auf die Krypten beschränkt (Uni et al., 2000).

Im *Caecum* entwickeln sich am zehnten Tag p.i. aus wenigen ungleichen Erhebungen erste Falten. Diese wachsen partiell weiter aus und unterteilen die Falten in kleinere Vorwölbungen, die am vierzehnten Tag p.i. als erste Zotten bezeichnet werden können (Romanoff, 1960). Am sechzehnten Tag p.i. zeigt die Blinddarmbasis kurze Zotten mit abgerundeten Spitzen. Am 21. Tag p.i. ist eine Größenzunahme zu beobachten und die gut entwickelten Zotten, die nun eine weite Basis und eine sich verjüngende Spitze besitzen, stehen isoliert, ohne sich zu berühren. Ebenso lassen sich in dieser Zeit Öffnungen von Becherzellen erkennen (Sabatakou et al., 2003). Im distalen Teil des Caecums wird das Mesenchym am elften Tag p.i. passiv in ein paar große Falten aufgeworfen (von Pap, 1933). Am sechzehnten Tag p.i. lassen sich hier erste deutliche Zellgrenzen erkennen (Sabatakou et al., 2003), welche luminal eine hexagonale Form besitzen (Lim und Low, 1977). Am 21. Tag p.i. lassen sich erste Kryptenöffnungen finden (Sabatakou et al., 2003). Nach dem Schlupf zeigen die Blinddärme des Huhnes eine kontinuierliche Längenzunahme, welche gleichzeitig von einer Zunahme des Durchmessers begleitet wird (Kappelhoff, 1959). Die Zotten der Basis nehmen ab dem vierten Lebenstag an Länge zu und besitzen zunehmend eine spatelförmige Gestalt (Sabatakou et al., 2003).

Als besondere immunologische Einrichtung findet sich im Anfangsabschnitt der Blinddärme die Caecaltonsille (*Tonsilla caecalis*). Diese liegt zum Zeitpunkt des Schlupfes nur rudimentär vor (Hoffmann-Fezer, 1973; Gómez Del Moral et al., 1998), bereits am 13. Embryonaltag lassen sich jedoch immunologische Zellen nachweisen (Kajiwara et al., 2003). Am 14. Tag p.i. sind im Bereich der Caecaltonsille dünne Falten in der Schleimhautschicht zu erkennen (Islam et al., 2012).

Das Epithel des übrigen Dickdarmes zeigt bereits am Ende des vierten Tages p.i. verstärkte mitotische Aktivität (Romanoff, 1960), welche sich in kaudokranieler Richtung ausbreitet (von Pap, 1933). Um den sechsten Tag p.i. ragen drei oder vier große Falten in das Lumen des Dickdarmes, welche sich an ihren Spitzen berühren und so zu einem vollständigen

Darmverschluss führen. Dessen Rekanalisierung ist am zwölften Tag p.i. abgeschlossen (von Pap, 1933). Ab dem 17. Tag p.i. lassen sich kurze Zotten nachweisen, die jedoch nicht so gleichförmig und geordnet auftreten wie im Dünndarm (Lim und Low, 1977).

## 2.2 Makroskopische Anatomie

### 2.2.1 Morphologie

#### Dünn- und Dickdarm (*Intestinum tenue* und *Intestinum crassum*)

Anders als im Darm der Säuger beschrieben finden sich im gesamten Hühnerdarm Zotten (*Villi intestinales*) und Krypten (Hodges, 1974; King und McLelland, 1984). Trotz dieser fehlenden Unterscheidungsmöglichkeit wird der Darm der Vögel ebenso wie beim Säugetier in Dünndarm (*Intestinum tenue*) und Dickdarm (*Intestinum crassum*) unterteilt (Černý, 1993). Beim Vogel ist die Darmlänge im Verhältnis zur Körpergröße relativ gering und beträgt beim Huhn mit 152 cm bis 234 cm (Bergner und Ketz, 1969) etwa das Fünf- bis Sechsfache der Körperlänge (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Im Allgemeinen weisen körnerfressende Vögel einen längeren Darm auf als fleischfressende (König et al., 2009a).

Der Dünndarm wird beim Säuger in die Abschnitte Zwölffingerdarm (*Duodenum*), Leerdarm (*Jejunum*) und Hüftdarm (*Ileum*) unterteilt. Aufgrund des Fehlens klarer morphologischer Unterschiede zwischen Leerdarm (*Jejunum*) und Hüftdarm (*Ileum*) beim Vogel wird teilweise auch von einem „*Jejunioileum*“ gesprochen (König et al., 2009a). Andererseits wird das Meckel'sche Divertikel (*Diverticulum vitellinum*) von der *Nomina Anatomica Avium* (NAA) als künstliche Grenze zwischen beiden Darmabschnitten anerkannt (McLelland, 1993).

Der Zwölffingerdarm (*Duodenum*) beginnt am *Ostium ventriculopyloricum* des Muskelmagens (König et al., 2009a). Darauf folgt eine U-förmige Schleife (*Ansa duodenalis*), welche sich in einen absteigenden- (*Pars descendens*) und einen aufsteigenden Schenkel (*Pars ascendens*) unterteilen lässt. Diese Schleife endet am Übergang des Zwölffingerdarms in den Leerdarm in der *Flexura duodenojejunalis* (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). In dem zwischen beiden Duodenalschenkeln gelegenen *Mesoduodenum* befindet sich die Bauchspeicheldrüse (*Pancreas*). Diese mündet mit drei Ausführungsgängen (*Ductus cysticoentericus*) ebenso wie die zwei Gallengänge (*Ductus hepatoentericus*) auf der *Papilla duodeni* (König et al., 2009a), welche im aufsteigenden Schenkel des Zwölffingerdarms zu finden ist (Černý, 1993).

Die beiden Abschnitte Leerdarm und Hüftdarm liegen beim Huhn, anders als bei anderen Vogelarten, nicht in Schlingen, sondern in elf girlandenförmigen Windungen (King und McLelland, 1984). Zusammen sind Leerdarm und Hüftdarm mit 98-135 cm ca. viermal so lang wie das Duodenum (Bergner und Ketz, 1969). Die mittlere Windung, die an ihrem Scheitel das

Meckel'sche Divertikel trägt, wird als *Ansa axialis* bezeichnet (Černý, 1993). Die für viele andere Vogelarten gültige Einteilung, die alle Windungen proximal der *Ansa axialis* als *Ansaes jejunales* und alle distal davon befindlichen Windungen als *Ansaes ileales* benennt, trifft beim Huhn nur bedingt zu (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Ebenso fehlt die bei vielen anderen Vögeln aus der letzten Schlinge gebildete dorsal des Duodenums liegende Supraduodenalschlinge (*Ansa supraduodenalis*) (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Das Meckel'sche Divertikel ist ein Überrest des embryonalen Dottersackes, welcher vor dem Schlupf in die Leibeshöhle zurückgezogen wurde (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004), jedoch noch bis zu 120 Stunden nach dem Schlupf Ernährungsfunktion übernimmt (Noy und Sklan, 1998). In der weiteren Entwicklung bildet es sich zu einem lymphoepithelialen Organ um (Oláh et al., 1984). Von der zweiten und bis in die siebte Lebenswoche hinein ist das Meckel'sche Divertikel auch an der Bildung myeloischer Zellen (extramedulläre Myelopoese) beteiligt (Oláh und Glick, 1984). An seinem Übergang zum Darm besteht darüber hinaus eine sphinkterähnliche Verdickung der *Tunica muscularis* (Oláh und Glick, 1984).

Der Enddarm (*Rectum*), oder auch Colorectum genannt, geht beim Huhn mit einer Länge von 8-11 cm als gerade Fortsetzung des Hüftdarms in die Kloake über (Černý, 1993).

### Blinddärme (*Caeca*)

Die beim Huhn paarig vorhandenen Blinddärme (*Caeca*) entspringen beiderseits lateral bis ventrolateral am Übergang von Dün- zu Dickdarm und sind nach kranial gerichtet (McLelland, 1989). In ihrem weiteren Verlauf schlagen sie jedoch teilweise nach kaudoventral um (Černý, 1993). Sie besitzen eine Länge von 12-25 cm (Černý, 1993), wobei keine Längenunterschiede zwischen rechter und linker Seite festzustellen sind (Kitagawa et al., 1998). Auf ihrer gesamten Länge sind sie über Bänder (*Ligamenta iliocaecalia*) mit dem *Ileum* verbunden (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Anschluss an den übrigen Darm erhalten sie über jeweils eine Öffnung (*Ostium caeci*) (König et al., 2009a). Im Bereich des Übergangs des Ileums zum Rektum und der Mündungsstellen der *Caeca* befindet sich ein von der *Lamina muscularis mucosae* des Ileums gebildeter muskulöser Ring, welcher das Epithel in das Lumen vorwölbt und nach aboral gerichtet ist. Dadurch wird nicht nur die Verbindung zwischen *Ileum* und Rektum eingeeengt, sondern teilweise auch die Öffnungen der Blinddärme verlegt (Clarke, 1978). Von manchen Autoren wird dieser Ring daher auch als Sphinkter beschrieben (Hodges, 1974; Hill, 1983). An den Blinddärmen des Huhnes selbst lassen sich drei Regionen unterscheiden: die Blinddarmbasis

(*Basis caeci*), der Blinddarmkörper (*Corpus caeci*) und die Blinddarmspitze (*Apex caeci*) (Ferrer et al., 1991). Dabei ist die Blinddarmbasis, welche ca. ein Drittel der Gesamtlänge des Caecums einnimmt (Ferrer et al., 1991), relativ englumig (Sabatakou et al., 2003). An der Öffnungsstelle zum restlichen Darm (*Ostium caeci*) sind die Blinddärme zusätzlich mit einem Maschenwerk von länglichen, sich berührenden Zotten besetzt (Fenna und Boag, 1974). Weiter ist auf der Innenseite der ersten 4-18 mm der Blinddarmbasis die Caecaltonsille (*Tonsilla caecalis*) als eine Gewebevorwölbung zu finden (Clarke, 1978; Glick et al., 1981; Kitagawa et al., 1998). Die innere Oberfläche der restlichen Blinddarmbasis wird von spatelförmigen Zotten ausgekleidet (Strong et al., 1989), deren Breite an der Zottenbasis uneinheitlich ist und deren Spitze eine konische Form besitzt (Ferrer et al., 1991). Ihre Höhe beträgt im Mittel 853  $\mu\text{m}$  (Takeuchi et al., 1998). Demgegenüber sind die Lieberkühn'schen Krypten mit einer Tiefe von 131  $\mu\text{m}$  (Takeuchi et al., 1998) nur sehr kurz ausgebildet (Hodges, 1974).

Der Blinddarmkörper besitzt im Vergleich zur Blinddarmbasis eine dünnere Wand und ein größeres Lumen (Rezaian und Hamedi, 2007). Die innere Oberfläche lässt sich durch die Ausbildung longitudinaler Falten makroskopisch gut von der Blinddarmbasis unterscheiden. Die Falten sind an ihrer Oberfläche von kurzen und stumpfen Zotten bedeckt (Sabatakou et al., 2003), zwischen denen sich schlitzförmig die Lieberkühn'schen Krypten öffnen (Ferrer et al., 1991). Die Tiefe der Krypten beträgt hier nur 95  $\mu\text{m}$  (Takeuchi et al., 1998).

Der distale Teil des Caecums besitzt den größten Durchmesser (Hodges, 1974) und zeigt eine leicht blasenförmige Gestalt (Černý, 1993). Die innere Oberfläche trägt sowohl longitudinale als auch transversale Falten, die ein unregelmäßiges Netzwerk bilden (Ferrer et al., 1991). Zotten sind zwar vorhanden, aber im Vergleich zum Blinddarmkörper nochmals kürzer und plumper ausgebildet. Auch die Falten sind weniger gut entwickelt (Hodges, 1974). Die Kryptentiefe beträgt hier im Mittel 113  $\mu\text{m}$  (Takeuchi et al., 1998). Bei ca. 25 % der Hühner ist in der Blinddarmspitze ein apikales Blinddarmdivertikel zu finden, welches sich als eine kuppelartige Vorwölbung der Caecumwand darstellt und reichlich lymphatisches Gewebe enthält. (Kitagawa et al., 1996).

### 2.2.2 Immunologische Einrichtungen der Blinddärme

#### Caecaltonsille (*Tonsilla caecalis*)

Die *Tonsilla caecalis* stellt das größte lymphoide Organ des darmassoziierten Lymphgewebes (GALT, *gut-associated-lymphoid tissue*) beim Huhn dar (Gómez Del Moral et al., 1998). Es liegt in der medialen Wand beider *Caeca* (King und McLelland, 1984; Gómez Del Moral et al., 1998; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004) und persistiert zeitlebens (Yasuda et al., 2002). Durch die Verdickung und Zunahme des Wanddurchmessers ebenso wie durch ihre fleischige Farbe (Glick et al., 1978) kann die *Tonsilla caecalis* bereits makroskopisch von dem umliegenden Darmgewebe der Blinddarmbasis unterschieden werden (Rezaian und Hamedi, 2007). Anders als die flachen und gleichförmig angeordneten Zotten der übrigen Blinddarmbasis sind die Zotten im Bereich der *Tonsilla caecalis* konzentrisch angeordnet und von fingerförmiger Gestalt (Hoshi und Mori, 1973). Die Zotten werden hierbei durch kuppelartige Geweberegionen, den sog. „basic units“ voneinander getrennt (Glick et al., 1981). Diese stellen kugelförmige Einheiten dar, die durch lockeres Bindegewebe voneinander getrennt sind (Kitagawa et al., 1998). Insgesamt besteht die Caecaltonsille aus über 400 dieser „basic units“. In diesen sind neben einer zentralen Lieberkühn'schen Krypte mit mehreren Primäraufzweigungen hauptsächlich dichtes lymphatisches Gewebe und Keimzentren zu finden (Glick et al., 1981), wobei sich getrennte B- und T-Zellareale entwickeln (Jeurissen et al., 1989). Auch die Keimzentren, die einen Durchmesser von bis zu 250 µm erreichen, sind in der *Lamina propria mucosae* nicht gleichmäßig verteilt. Sie sind hier in mittleren und besonders in tiefen Bereichen, kurz oberhalb der *Lamina muscularis mucosae* anzutreffen. Ebenso konzentrieren sie sich in der Nähe der zentralen Krypte (Hoshi und Mori, 1973). B-Lymphozyten kommen primär in der subepithelialen Zone vor, sind aber auch in den Keimzentren und vereinzelt im Epithel zu finden (Vervelde und Jeurissen, 1993; Gómez Del Moral et al., 1998). Sie exprimieren an ihrer Oberfläche IgG und IgM sowie in geringer Anzahl auch IgA (Jeurissen et al., 1989). Die Verteilung der T-Lymphozyten ist von ihrer Zugehörigkeit zu einer Subpopulation abhängig. So enthalten das diffuse lymphatische Gewebe und die Keimzentren größtenteils T-Helferzellen und zytotoxische T-Lymphozyten. Dagegen finden sich im Epithel ausschließlich zytotoxische T-Lymphozyten und NK-Zellen (Gómez Del Moral et al., 1998). Im Bereich der „basic units“ enthält das Epithel der Caecaltonsille neben Enterozyten auch M-Zellen (Kato et al., 1992). Dies sind spezialisierte Zellen, die zur Weitergabe von luminalen Antigenen an Immunzellen in

tiefere Darmschichten befähigt sind und deren luminale Oberfläche durch zahlreiche Membraneinstülpungen gekennzeichnet ist (Gebert, 1997).

### Apikales Blinddarmdivertikel

An der Blinddarmspitze lässt sich bei ca. 25 % der Hühner das apikale Blinddarmdivertikel als eine Vorwölbung mit einem mittleren Durchmesser von 1,9 mm und einer mittleren Höhe von 1,2 mm finden. Sowohl die *Lamina propria mucosae* als auch die *Tela submucosa* des apikalen Blinddarmdivertikels besitzen gut entwickelte Lymphfollikel. Oberhalb dieser enthält das follikelassoziierte Epithel (FAE) neben resorptiven Enterozyten auch Zellen, die den M-Zellen ähnlich sind (Kitagawa et al., 1996). Solche Zellen sind auch in anderen lymphatischen Einrichtungen des Darmes beim Huhn wie den Peyer'schen Platten (Burns, 1982) und der *Tonsilla caecalis* zu finden (Kato et al., 1992).

### Unspezifische Abwehr – MUC Familie

Die gesamte Oberfläche des Vogeldarmes wird von einer schützenden Schleimschicht (*Mucus*) bedeckt (Smirnov et al., 2006). Gebildet wird diese größtenteils von Mucinen, welche von den im Epithel vorhandenen Becherzellen synthetisiert und sezerniert werden (Uni et al., 2003). Diese Schleimschicht stellt die erste Verteidigungslinie der Darmschleimhaut gegenüber Mikroorganismen dar (Van Klinken et al., 1995) und spielt somit eine besondere Rolle in der frühen Darmentwicklung des postnatalen Huhnes (Forder et al., 2007). Neben Abwehrfunktionen erfüllt sie auch die Funktion eines Mediums zum Molekültransport zwischen dem Darminhalt und den Enterozyten (Smirnov et al., 2006).

### 2.2.3 Gefäß- und Nervenversorgung der Blinddärme

#### Arterien

Die Aorta der Vögel entwickelt sich embryologisch anders als beim Säuger aus dem rechten Arterienbogen und der rechten Dorsalaorta (King und McLelland, 1984). Die ihr entspringende unpaare *Arteria (A.) coeliaca* hat ein wesentlich größeres Versorgungsgebiet als beim Säuger und ist neben der Versorgung des Darmes auch an der Versorgung des Magens und der Leber beteiligt. Die Versorgung der Blinddärme erfolgt durch die *A. ileocaecalis*, welche dem *Ramus dexter* der *A. coeliaca* entspringt (Ruberte et al., 2009). Auch die unpaare *A. mesenterica cranialis* gibt neben Ästen für das distale *Duodenum* und *Ileum* versorgende Äste an die Blinddärme ab (King und McLelland, 1984; Baumel, 1993). Darüber hinaus anastomosiert der kraniale Ast der unpaaren *A. mesenterica caudalis* im Bereich der Blinddarmbasis sowohl mit Ästen der *A. mesenterica cranialis* als auch mit Ästen der *A. coeliaca* (Salomon, 1993).

#### Venen

Der venöse Abfluss des Darmes wird über Venen gewährleistet, die in das Pfortadersystem der Leber (*Systema portale hepaticum*) münden (Salomon, 1993). Dieses Pfortadersystem besteht im Gegensatz zum Säuger jedoch aus zwei Pfortadern. Hierbei dient die linke Pfortader (*Vena [V.] portae sinistrae*) für den venösen Abfluss aus Drüsen- und Muskelmagen. Die rechte Pfortader (*V. portae dextrae*) hingegen ist für den venösen Abfluss aus Dünndarm, Rektum, Kloake (kraniale Anteile), *Pancreas*, Milz und *Caeca* verantwortlich. Nach Passage der Leber gelangt das Blut über die untere Hohlvene (*Vena cava caudalis*) zum Herzen (Ruberte et al., 2009).

#### Lymphgefäße

Der lymphatische Abfluss aus der Darmregion erfolgt über die beiden Lymphgefäße *Vas lymphaticum coeliacum* und *Vas lymphaticum mesentericum craniale*, welche in den paarigen *Truncus thoracoabdominalis* münden. Zwischen beiden Strängen des *Truncus thoracoabdominalis* bestehen zahlreiche Anastomosen (Berens von Rautenfeld, 1993). Mit seinem Mündungsabschnitt (*Pars thoracica*) mündet er in den Venenwinkel, der von der *V. jugularis* und *V. subclavia* gebildet wird (Budras et al., 2009). Im gesamten Darm des Vogels

ist sowohl in den Zotten als auch Falten kein zentrales Lymphgefäß, jedoch ein dichtes Netz aus Blutkapillaren nachweisbar (King und McLelland, 1984).

### Nervenversorgung

Die Blinddärme werden, ebenso wie die anderen Abschnitte des Darmes, durch das vegetative Nervensystem innerviert. Zu diesem werden auch die in der Darmwand befindlichen Ganglien des intramuralen Nervensystems gezählt (Seeger, 1993). Das vegetative Nervensystem wird in ein sympathisches (*thoracolumbales*) und parasympathisches (*craniosacrales*) System untergliedert (King und McLelland, 1984). Eine Besonderheit des Nervensystems des Vogels stellt der *Nervus (N.) intestinalis* oder auch Remak-Nerv dar. Er ist Teil des Sympathikus und entsteht aus dem *Plexus mesentericus cranialis* und *caudalis* sowie dem *Plexus aorticus* (König et al., 2009b) und besteht aus vielen Ganglien (Young, 1990). Er verläuft auf ganzer Länge des Darmes im *Mesenterium* und innerviert diesen sympathisch. An seinem kranialen und distalen Ende wird er jedoch meist auch von parasympathischen Fasern begleitet. Parasympathisch wird der Darm durch Anteile des *N.vagus* und *N. pudendus* innerviert (König et al., 2009b).

## 2.3 Mikroskopische Anatomie der Blinddärme

Der Darm besitzt auf seiner gesamten Länge einen einheitlichen mikroskopischen Grundaufbau (Hodges, 1974). Dieser lässt sich von innen nach außen in verschiedene, geschichtete Gewebe unterteilen. Die innerste Schicht wird von der Schleimhautschicht (*Tunica mucosa*), welche sich in das eigentliche Epithel (*Epithelium mucosae*), das Eigenblatt der Schleimhaut (*Lamina propria mucosae*) und das Muskelblatt der Schleimhaut (*Lamina muscularis mucosae*) gliedert, gebildet. Ihr folgen nach außen hin das Unterschleimhautgewebe (*Tela submucosa*), die Muskelschicht (*Tunica muscularis*) mit ihrer zirkulären Schicht (*Stratum circulare*) und ihrer Längsschicht (*Stratum longitudinale*). Nach außen hin findet die Schichtung ihren Abschluss in einem Serosaüberzug (*Tunica serosa*) (Liebich, 2010). Trotz übereinstimmender Grundstruktur zeigt die Blinddarmwand in ihren einzelnen Abschnitten zum Teil doch recht erhebliche Variationen (Hodges, 1974).

### 2.3.1 *Tunica mucosa*

Die *Tunica mucosa* der *Caeca* ist zur Oberflächenvergrößerung in charakteristischer Art in Falten gelegt und bildet mit darunter liegenden Schichten Zotten (*Villi intestinales*) aus, zwischen denen sich Lieberkühn'sche Krypten öffnen. So zeigt die Blinddarmbasis spatelförmige Zotten von unterschiedlicher Höhe (Hodges, 1974; Witlock et al., 1975; Ferrer et al., 1991), welche breiter und kürzer als die Zotten des Dünndarmes sind (Pohlmeyer, 2002). Durch die Höhe der Zotten nimmt die *Tunica mucosa* der Blinddarmbasis ca. ein Drittel der Gesamtdicke der Caecumwand ein. In den Regionen Blinddarmkörper und Blinddarmspitze werden die Zotten immer kürzer und nehmen eine stumpfere Form an. Dagegen zeigen diese beiden Abschnitte eine Vergrößerung der Oberfläche zweiter Ordnung durch Faltenbildungen (Ferrer et al., 1991). So finden sich im Blinddarmkörper Falten, welche von Calhoun (1954) als „*plicae circulares*“ bezeichnet werden, die jedoch längs verlaufen (Hodges, 1974). In der Blinddarmspitze sind zusätzlich zu diesen meist auch noch querverlaufende Falten zu finden, so dass sich ein irreguläres Netzwerk ergibt (Ferrer et al., 1991). Ein zentrales Lymphgefäß ist in den Zotten, anders als beim Säuger, im gesamten Darm des Huhnes nicht zu finden. Stattdessen existiert ein gut entwickeltes Netzwerk aus Blutkapillaren (King und McLelland, 1984).

### 2.3.1.1 Lamina epithelialis

Die *Lamina epithelialis* besteht im gesamten Darmkanal des Huhnes aus einem einschichtigen, hochprismatischen Epithel unterschiedlicher Zellen, die entlang der Zottenachse verteilt sind (Ferrer et al., 1991). Ihre Zellgrenzen bilden an der luminalen Oberfläche eine hexagonale Form (Sabatakou et al., 2003). Die unterschiedlichen Zellen differenzieren sich wie bei den Säugetieren aus den im Kryptenboden lokalisierten Stammzellen (Imondi und Bird, 1966; Clevers, 2013).

#### Hauptzellen

Die Hauptzellen (Enterozyten) sind die zahlenmäßig am stärksten vertretenen Zellen des Darmepithels (Chodnik, 1947). Sie sind von schmaler und hochprismatischer Form mit einer Breite von 8-10 µm und einer Höhe von bis zu 50 µm (Michael und Hodges, 1973). Die Größe variiert entsprechend dem Alter der Hühner, der Position auf der Zotte und der Darmregion (Hodges, 1974). Die apikale Membran bildet einen dichten Saum aus Mikrovilli, die gleichmäßig über die Oberfläche verteilt sind (Ferrer et al., 1991). Direkt unter den Mikrovilli ist eine enge, stark anfärbbare Zone lokalisiert (terminal web) (Hodges, 1974). Diese beherbergt die basalen Anteile der Mikrovilli-Fasern (Ferrer et al., 1991). Dichtere Regionen innerhalb dieser stark anfärbbaren Region repräsentieren Haftkomplexe (junctional complexes) zwischen benachbarten Zellen (Chodnik, 1947). Die Länge der Mikrovilli an der Zottenspitze nimmt von der Blinddarmbasis über den Blinddarmkörper hin zur Blinddarmspitze ab. Zusätzlich ist in der Blinddarmbasis auch eine Abnahme der Mikrovilli-Länge von der Zottenspitze hin zur Zottenbasis zu beobachten (Ferrer et al., 1991). Der bis zu 10 µm große Enterozytenzellkern ist oval bis langgezogen und im basalen Drittel der Zelle lokalisiert (Chodnik, 1947; Hodges, 1974). Zwischen Kern und Spitze der Zelle ist eine blass gefärbte Zone, die das negative Bild des Golgikomplexes widerspiegelt. Dieser selbst besteht aus einem retikulären Netzwerk mit verstreut enthaltenen Granula. Weiter sind in der Zelle an polaren Positionen Mitochondrien und filamentöse Granula zu finden. Die Hauptzellen der Kryptenbasis sind mit 25 µm wesentlich kürzer als die der Zotten und enthalten mehr basale Kerne und mehr basophiles Zytoplasma (Hodges, 1974).

Für *Basis* und *Corpus* der Blinddärme wird eine Zellerneuerungsrate von vier Tagen, für die Blinddarmspitze von drei Tagen angegeben (Takeuchi et al., 1998).

### Becherzellen

Becherzellen kommen im gesamten *Caecum* vor, wobei ihre Anzahl von der Blinddarmbasis zur Blinddarmspitze hin abnimmt (Hodges, 1974). Auch die Verteilung im Epithel ist nicht einheitlich. So sind zahlreiche Becherzellen sowohl im Epithel der Krypten als auch an der Basis und Seite der Zotten zu finden, weniger häufig jedoch an der Zottenspitze bzw. an Epithelfaltungen (Chodnik, 1947; Dantzer, 1989). Morphologisch besitzen die Becherzellen eine enge Basis, welche den Kern und den größten Teil des Zytoplasmas beinhaltet. Darüberhinaus sind verschiedene Funktionsstadien der Becherzellen zu finden. Dabei zeigen sie entweder ein geschwollenes oder ein nur sehr schmales und dünnes Erscheinungsbild (Chodnik, 1947).

### Enteroendokrine Zellen

Enterochromaffine Zellen lassen sich in geringer Anzahl in der Kryptenbasis und noch unregelmäßiger auch in den Zotten nachweisen (Hodges, 1974). Sie zeigen eine flaschenhalsartige Gestalt oder liegen als spindelartige Zellen zwischen den Enterozyten (Chodnik, 1947). Der supranukleär oder zum Teil paranukleär gelegene Golgikomplex schließt kleine Vesikel ein (Andrew, 1976).

### M-Zellen

Im follikelassoziierten Epithel (FAE) der Blinddärme finden sich M-Zellen, die einen engen Kontakt zu Lymphozyten besitzen und deren luminale Zellmembran in charakteristischer Weise in Falten gelegt ist (Kato et al., 1992). Bei diesen Zellen handelt es sich um spezialisierte Zellen, die luminale Antigene aufnehmen und in das darmassoziierte Lymphgewebe weiterleiten können (Kraehenbuhl und Neutra, 2000). Morphologisch zeichnen sich die M-Zellen durch ihre kürzeren und zahlenmäßig geringeren Mikrovilli an der apikalen Zellmembran aus (Jeurissen et al., 1999). Das apikale Zytoplasma beinhaltet dünne Filamente, freie Ribosomen, Mitochondrien, das raue endoplasmatische Retikulum sowie zahlreiche Vesikel (Kato et al., 1992). Das Zytoplasma ist weniger elektronendicht (Kato et al., 1992) und der Kern sowie der Zellkörper sind ein wenig größer als die der Enterozyten (Kitagawa et al., 2003). Trotz ähnlicher morphologischer und histochemischer Eigenschaften ist ihre aktive Aufnahme von Fremdmaterial nicht so gut entwickelt wie bei den M-Zellen der Säuger (Kato et al., 1992). Zur Herkunft der M-Zellen gibt

es beim Säuger zwei Hypothesen. Zum einen, dass sich M-Zellen aus reifen Enterozyten differenzieren (Smith und Peacock, 1980; Bhalla und Owen, 1982; Jacob et al., 1987; Smith und Peacock, 1992). Zum anderen, dass sie direkt aus undifferenzierten Krypten-Epithelzellen entstehen (Bye et al., 1984; Jepson et al., 1993; Gebert et al., 1996). Für das Huhn wird die letztgenannte Variante favorisiert (Takeuchi et al., 1998; Kitagawa et al., 2003). Für die M-Zellen wird eine ähnliche Zellerneuerungsrate angenommen wie für die Enterozyte, wobei sie einen Tag von der Kryptenbasis zum Krypteneingang benötigen und anschließend am fünften Tag aus dem FAE ausscheiden (Takeuchi et al., 1998). In diesem Verlauf differenzieren sie sich zu Enterozyten (Kitagawa et al., 2003).

### **2.3.1.2 Lamina propria mucosae**

Die die *Lamina epithelialis* unterlagernde *Lamina propria mucosae* besteht aus lockerem Bindegewebe und nimmt so an der Bildung von Oberflächenvergrößerungen teil (Hodges, 1974). Sie enthält neben Lymphozyten auch glatte Muskelzellen (Liebich, 2010). Die hier ebenfalls lokalisierten Lieberkühn'schen Krypten sind sehr kurz (Hodges, 1974).

In der Blinddarmspitze sind sowohl in der *Lamina propria mucosae* als auch in der *Tela submucosa* kleine Lymphfollikel (*Lymphonodi solitarii*) zu finden, wohingegen die *Lamina propria mucosae* des Blinddarmkörpers und der Blinddarmspitze zwar lymphatisches Gewebe, jedoch nur wenige Lymphfollikel enthält (Kappelhoff, 1959; Hodges, 1974). Auf die Gegebenheiten der Blinddarmbasis mit ihrer *Tonsilla caecalis* wurde bereits hingewiesen (Kapitel 2.2.2).

### **2.3.1.3 Lamina muscularis mucosae**

Die *Lamina muscularis mucosae* der Blinddärme besitzt sowohl eine Kreis- als auch eine Längsmuskelschicht (Clarke, 1978). Mit Ausnahme des Blinddarmkörpers, dessen Falten von der *Lamina muscularis mucosae* unterlagert werden, ist diese jedoch nur schwach entwickelt (Hodges, 1974).

### 2.3.2 Tela submucosa

Auch die *Tela submucosa* tritt unterhalb der *Lamina muscularis mucosae* der Darmwand nur als dünne Schicht in Erscheinung, wobei sie unter den Falten des Blinddarmkörpers und der Blinddarmspitze, an deren Bildung sie ebenfalls beteiligt ist, stärker ausgeprägt ist. Sie enthält neben lockerem Bindegewebe auch größere Blutgefäße und Nervengewebe (Clarke, 1978), darunter auch den *Plexus submucosus* (Ali und McLelland, 1978; Liebich, 2010), wodurch sie hier ebenfalls an Dicke zunimmt (Hodges, 1974).

### 2.3.3 Tunica muscularis

Weiter außen ist, wie bei den anderen Haustieren auch, eine zweischichtige Muskellage zu finden, die sich in einen stärker ausgeprägten inneren, zirkulären und einen äußeren, longitudinalen Anteil aufspaltet (Clarke, 1978). Hierbei ist die innere Lage in der Blinddarmbasis fünf bis sechsmal so stark, wie die äußere Muskellage. In Blinddarmkörper und Blinddarmspitze hingegen ist sie nur noch drei- bis viermal so stark (Hodges, 1974). Zwischen den beiden Muskellagen befindet sich ein Nervenplexus, der Auerbach-Plexus (Ali und McLelland, 1978; Liebich, 2010).

### 2.3.4 Tunica serosa

Den äußeren Abschluss der Blinddärme bildet ein Überzug aus *Serosa* (*Mesothelium serosae*), die durch eine dünne Schicht lockeren Bindegewebes (*Tela subserosa*) von der Muskelschicht getrennt ist (Hodges, 1974; Liebich, 2010).

## 2.4 Funktion / Physiologie

### 2.4.1 Füllung und Entleerung

Die kraniale Ausrichtung der Blinddärme entgegen der normalen Bewegungsrichtung des Darminhaltes sowie das relativ englumige *Ostium caeci* machen eine normale, anterograde Füllung schwierig (Hill, 1983). So erfolgt der Transport der Ingesta in die *Caeca* nach Füllung des Rektums und der Kloake unter weiterer Peristaltik des Dünndarmes und gleichzeitig einsetzender Antiperistaltik des Rektums (Akester et al., 1967; Fenna und Boag, 1974). Bei diesen retroperistaltischen Wellen wird auch Urin aktiv aus dem Koprodeum in die *Caeca* gespült (Akester et al., 1967; Björnhag, 1989; Braun und Campbell, 1989). Kleine Futterpartikel werden dabei von größeren Nahrungsbestandteilen getrennt und gelangen zusammen mit Elektrolyten und Harnsäure ebenfalls in die *Caeca* (Björnhag, 1989). Den langen fingerförmigen Zotten des relativ engen Caecumeingangs kommt hierbei eine gewisse Siebfunktion zu (Fenna und Boag, 1974). Bei den retroperistaltischen Wellen ist der Sphinkter der Ileum-Caecum-Colon-Verbindung geschlossen, so dass kein Material zurück in das *Ileum* gelangt (Hill, 1983). In Abhängigkeit vom Füllungsstatus der *Caeca* lassen sich unterschiedlich viele Aktionspotentiale, die zu einer Kontraktion führen, beobachten. So erfolgt eine Entleerung der *Caeca* nach einer 30-60 Sekunden dauernden Phase von Aktionspotentialen in Richtung auf die Ileum-Caecum-Colon-Verbindung, gefolgt von einer einzelnen langgezogenen Kontraktion von sehr großer Amplitude (Clench und Mathias, 1996). Auf 8-10 Enddarmleerungen folgt ein- bis zweimal täglich eine Entleerung der Blinddärme, wobei der Blinddarmkot separat vom Enddarmkot ausgeschieden wird (King und McLelland, 1984; Černý, 1993).

### 2.4.2 Verdauung und Resorption

In den Blinddärmen des Geflügels finden sich viele Mikroorganismen, welche Zellwandbestandteile abbauen können (von Engelhardt, 2010b). Als Endprodukt dieser fermentativen Abbauprozesse lassen sich leicht flüchtige Fettsäuren, insbesondere Acetat, Propionat und Butyrat nachweisen (Annison et al., 1968), die auch direkt im Blinddarm resorbiert werden können (Sudo und Duke, 1980). Eine weitere Stoffwechsellistung der Mikroorganismen in den Blinddärmen ist die Nutzung des Stickstoffs aus der Harnsäure zur Proteinsynthese (Barnes, 1972; Lee, 1977; Mead, 1989; Braun und Campbell, 1989; Karasawa,

1999). Darüberhinaus können, anders als beim Säuger, Aminosäuren über das Epithel aufgenommen werden (Moretó und Planas, 1989; Karasawa, 1999). Das Resorptionsvermögen der *Caeca* für Aminosäuren übersteigt sogar das der Zuckerresorption (Moretó und Planas, 1989), wobei die Aminosäure Prolin sowohl über einen natriumabhängigen Transport (Obst und Diamond, 1989) als auch wie Methionin natriumunabhängig aufgenommen werden kann (Moretó und Planas, 1989). Ähnlich wie im *Jejunum* erfolgt der Zuckertransport auch im *Caecum* natriumabhängig (Ferrer et al., 1986). Die Resorptionsleistung kann bei niedrigen Zuckerkonzentrationen sogar die Aufnahmeleistung des Jejunums übertreffen (Vinardell und Lopera, 1987). Beim Jungtier ist im gesamten *Caecum* eine Glucoseresorption möglich, wohingegen dies beim adulten Tier auf den proximalen Abschnitt begrenzt bleibt (Planas et al., 1986). Auch haben die *Caeca* des Vogels eine wichtige Funktion im Natrium-, Chlorid- und Wasser-Haushalt (Thomas und Skadhauge, 1989). Als Antwort auf aktive Transportvorgänge von Nahrungsbestandteilen wird Wasser passiv resorbiert (Denbow, 2000). Ebenso findet eine mikrobielle Synthese und Aufnahme von B-Vitaminen statt (Fuller und Coates, 1983; von Engelhardt, 2010b).

## 2.5 $\alpha$ - und $\gamma$ -Smooth Muscle Actin ( $\alpha$ -/ $\gamma$ -SMA)

Aktin nimmt an verschiedenen Formen der Zellmotilität und Struktur der zytoplasmatischen Matrix teil (Holmes und Kabsch, 1991). Das globulär vorliegende G-Aktin wird in der Zelle zu einem fadenförmigen Doppelstrang polymerisiert (F-Aktin) (Holmes et al., 1990). Diese polymerisierten Mikrofilamente formen das Aktinzytoskelett, welches essentiell für die Zellform, die passiven mechanischen Eigenschaften und aktive Motilität von eukariotischen Zellen ist (Mullins et al., 1996). Aktin gehört zwar zu den am meisten konservierten eukariotischen Proteinen, dennoch existieren sowohl beim Säuger als auch beim Vogel sechs Isoformen (Skalli et al., 1986). Es werden vier muskuläre Aktinisoformen und zwei nichtmuskuläre, zytoplasmatische Isoformen unterschieden (Garrels und Gibson, 1976). Zu den muskulären Isoformen gehören das  $\alpha$ -sarcomeric actin der quergestreiften Muskulatur, das  $\alpha$ -myocardial actin der Herzmuskulatur, sowie die beiden Isoformen der glatten Muskulatur  $\alpha$ - und  $\gamma$ -smooth muscle actin (Vanderkerckhove und Weber, 1979; Chang et al., 1984). Die einzelnen Isoformen besitzen zwar eine Gesamtsequenzhomologie von 90 %, in ihrer amino-terminalen

Region jedoch nur von 50-60 %, so dass diese Region zur immunhistochemischen Unterscheidung dient (Skalli et al., 1986).

Im *Caecum* des Huhnes ist die *Lamina muscularis mucosae* sowie die äußere longitudinale Schicht der *Tunica muscularis*  $\alpha$ -SMA positiv. Bei der inneren, zirkulären Schicht der *Tunica muscularis* ist nur eine dünne Schicht unter der *Tela submucosa* ebenfalls  $\alpha$ -SMA positiv. Demgegenüber sind alle Muskelschichten der Caecumwand  $\gamma$ -SMA positiv (Yamamoto et al., 1996).

## 2.6 Mucine (MUC-Familie)

Mucine bestehen aus großen Glykoproteinen, welche aus linearen oder verzweigten Oligosacchariden bestehen, die an ein Proteinrückgrat gebunden sind (Forstner et al., 1973). Dieses Proteinrückgrat besteht aus Doppelwiederholungen (*Tandem repeats*), die reich an den Aminosäuren Threonin, Prolin und Serin sind (Lang et al., 2006). Serin und Threonin besitzen in ihren Seitenketten Hydroxylgruppen, an die über O-glykosidische Bindungen Oligosaccharidketten gebunden sind (Van Klinken et al., 1995). Die Oligosaccharidketten bestehen aus den fünf Zuckern Fucose, Galactose, N-acetylgalactosamin, N-acetylglucosamin und Sialsäure (Ohara et al., 1993). Anhand histochemischer Eigenschaften lassen sich Mucine in die zwei großen Gruppen der neutralen und sauren Mucine einteilen. Wobei sich die sauren Mucine in die Sialo- und Sulfatomucine weiter unterteilen lassen (Deplanke und Gaskins, 2001; Forder et al., 2007). Die Becherzellen der Blinddärme des Huhnes sezernieren sowohl Sialo- als auch Sulfatomucine (Pastor et al., 1988). Heute werden die Mucine funktionell in membrangebundene und sekretorische Mucine unterteilt (Jiang et al., 2013). Benannt werden sie mit MUC, gefolgt von einer Zahl, die chronologisch nach ihrer Entdeckung vergeben wird (Dekker et al., 2002). Beim Menschen sind die Mucine MUC1, MUC3, MUC4, MUC12, MUC13, MUC16, MUC17 und MUC20 als membrangebunden, sowie die Mucine MUC2, MUC5B, MUC5AC, MUC6 und MUC19 als sekretorisch beschrieben (Lang et al., 2006). Zumindest MUC2, MUC5AC und MUC13 weisen beim Huhn hohe Homologien zu den entsprechenden humanen Mucinen auf und konnten im Hühnerdarm nachgewiesen werden (Smirnov et al., 2004; Lang et al., 2006; Smirnov et al., 2006; Jiang et al., 2013). Die Mucinbiosynthese wird durch verschiedene Faktoren beeinflusst, wie Veränderungen in der

Glykosylierung und Proteinbiosynthese bei Mangelernährung sowie der Differenzierung von unreifen zu reifen Becherzellen (Uni et al., 2003; Smirnov et al., 2004).

## **2.7 Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)**

Mathews et al. (1984) konnten nachweisen, dass das von Miyachi et al. (1978) als proliferating nuclear cell antigen beschriebene Protein (PCNA) identisch ist mit dem von Bravo und Celis (1980) gefundenen Cyclin. Weitere Untersuchungen zeigten, dass PCNA mit vielen Proteinen, die am Zellzyklus beteiligt sind, interagiert und somit eine Schlüsselrolle in der DNA Replikation einnimmt (Maga und Hübscher, 2003).

Bei PCNA handelt es sich um ein monomeres Protein, das zu einem Homotrimer zusammengefügt einen Ring bildet (Kong et al., 1992) und ein Molekulargewicht von ca. 35 kD besitzt (Mathews et al., 1984). Der außen negativ und innen positiv geladene Ring vermag die DNA sowohl zu umschließen als auch an ihr entlang zu gleiten (Krishna et al., 1994). Erst in dieser homotrimeren Konfiguration ist PCNA befähigt mit anderen Proteinen zu interagieren. Sowohl die Ringbildung um die DNA als auch eine Interaktion mit dieser ist von dem Replikationsfaktor C (RF-C) abhängig (Jónsson et al., 1995). PCNA ist im Zellzyklus in den Phasen G1, S, G2 und M nachweisbar, besitzt jedoch einen Höhepunkt in der G1 und S (Synthese)-Phase (Foley et al., 1993). In der S-Phase ist das Protein ausschließlich im Kern lokalisiert (Bravo und Macdonald-Bravo, 1985). PCNA konnte bereits in proliferierenden Zellen des Dünndarmes des Huhnes nachgewiesen werden (Uni et al., 1998).

## **2.8 Panleukozytenmarker (CD45)**

Alle reifen hämatopoetischen Zelllinien, mit Ausnahme von Plättchen und reifen Erythrozyten, tragen CD45 (Cluster of Differentiation 45), das leukocyte common antigen (Poppema et al., 1996; Dahlke et al., 2004). Bei CD45 handelt es sich um ein transmembranäres Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 180-220 kDa, das Tyrosin-Phosphatase-Aktivität besitzt (Thomas, 1994; Dahlke et al., 2004). Durch Dephosphorylierung von Signalmolekülen moduliert es zahlreiche intrazelluläre Effekte (Poppema et al., 1996). CD45 ist mit bis zu 10 % eines der häufigsten Glykoproteine, das an der Zelloberfläche von B- und T-Lymphozyten gebunden vorkommt (Sasaki et al., 2001). Vier verschiedene Isoformen mit unterschiedlichen amino-

terminalen Enden entstehen durch alternatives Splicing auf Stufe der mRNA (messenger-RNA) im Bereich der Exons 4-6 und sind in zellspezifischer Art auf funktionelle Subpopulationen der Lymphozyten verteilt (Kishihara et al., 1993; Sasaki et al., 2001). Aufgrund dieser Unterschiede lassen sich Antikörper sowohl gegen alle Leukozyten als auch gegen einzelne Subpopulationen immunhistochemisch nutzen (Hall et al., 1988; Poppema et al., 1996). CD45 scheint in verschiedener Form an der Entwicklung und Funktion von B- und T-Lymphozyten beteiligt zu sein. Ebenso wird eine spezifische Funktion der einzelnen Isoformen vermutet (Kishihara et al., 1993). In der Caecaltonsille des Huhnes konnten bereits CD45 positive interdigitierende dendritische Zellen nachgewiesen werden (Del Cacho et al., 2009).

## 2.9 T-Zellmarker (CD3)

CD3 (Cluster of Differentiation 3) ist ein Teil des T-Zell-Rezeptor (TCR) - CD3 Komplexes, welcher aus sechs Peptidketten besteht (Carson et al., 1991). Dieser Komplex setzt sich zusammen aus einem TCR $\alpha\beta$  Heterodimer, das genau mit einem CD3 $\gamma\epsilon$  Heterodimer, einem CD3 $\delta\epsilon$  Heterodimer und einem  $\zeta\zeta$  Dimer assoziiert ist (Call et al., 2004). Ein kleinerer Teil der T-Zellen trägt statt des TCR $\alpha\beta$  Heterodimers das TCR $\gamma\delta$  Heterodimer (Dave et al., 1997).

Der TCR dient mit den extrazellulären klonspezifischen variablen Anteilen seiner  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kette, bzw. seiner  $\gamma$ - und  $\delta$ -Kette der Bindung von Peptidantigenen, welche zusammen mit MHC-Proteinen (Major Histocompatibility Complex) an der Zelloberfläche von antigenpräsentierenden Zellen dargestellt werden. Bei CD3 wird vermutet, dass es für die Signaltransduktion in die Zelle verantwortlich ist. (Exley et al., 1991).

Im *Caecum* des Huhnes konnten bereits sowohl  $\alpha\beta$ -positive als auch  $\gamma\delta$ -positive T-Zellen immunhistochemisch dargestellt werden (Gómez Del Moral et al., 1998).

## 2.10 B-Zellmarker (L-Kette)

Anders als beim Säuger entstammen die meisten B-Lymphozyten des Vogels nicht dem Knochenmark, sondern der *Bursa fabricii* (Aliahmad et al., 2005).

B-Lymphozyten tragen an ihrer Oberfläche einen B-Zell-Antigenrezeptor (BCR), der aus einem 1:1 Verhältnis zwischen einem membrangebundenen Immunglobulinmolekül und einem nicht kovalent gebundenen Ig- $\alpha$ /Ig- $\beta$  Heterodimer besteht, welches über spezielle Proteine, sog.

ITAMS (immunoreceptor tyrosine-based activation motifs) zur Signaltransduktion in die Zelle beiträgt (Schamel und Reth, 2000).

Jedes Immunglobulin besteht aus insgesamt 4 Ketten: zwei leichten (L-) Ketten und zwei schweren (H-) Ketten, die über Disulfidbrücken verbunden sind und eine monomere Einheit bilden ( $H_2L_2$ ). Bei beiden Ketten lassen sich variable Regionen (V) sowie konstante Regionen mit geringer genetischer Variabilität unterscheiden (C). Die beiden variablen Anteile der leichten (VL) und der schweren Kette (VH) dienen dabei der Antigenbindung. Beim Huhn sind drei Antikörperklassen als Säugerhomolog beschrieben: IgM, IgG und IgA (Carlander et al., 1999). Homologe Immunglobuline zu den beim Säuger vorkommenden IgD und IgE sind beim Vogel nicht nachweisbar (Ratcliffe und Härtle, 2014). IgA ist beim Vogel analog zum Säuger im Serum und in Sekreten zu finden und die Mehrheit der B-Zellen des Huhnes trägt auf ihrer Zelloberfläche IgM (Ratcliffe, 2006; Härtle et al., 2014). IgG, das auch als Immunglobulin  $\gamma$  bezeichnet wird (Ratcliffe, 2006), besitzt ähnliche Eigenschaften wie das beim Säuger vorkommende Immunglobulin G (Tizard, 2002).

Mittels Antikörper gegen Teile der leichten Kette können B-Lymphozyten unabhängig von ihrem Subtyp immunhistochemisch markiert werden (Hudson, 1975; Rottach, 2012). Es konnten bereits zahlreiche Lymphozyten in der Caecaltonsille des Huhnes nachgewiesen werden (Hudson, 1975; Jeurissen et al., 1989; Vervelde und Jeurissen, 1993; Gómez Del Moral et al., 1998).

## **2.11 Plasmazellmarker (Plasma cell induced resident endoplasmic reticulum protein; RP-11)**

Nach Antigenkontakt differenzieren sich B-Lymphozyten unter der Wirkung des Transkriptionsfaktors XBP-1 zu immunglobulinproduzierenden Plasmazellen (Reimold et al., 2001). Hierbei kommt es zu einer massiven Vergrößerung von Zellorganellen, die direkt oder indirekt an der Synthese- und Sekretionsleistung der Zelle beteiligt sind (Van Anken et al., 2003). Erst durch die enorme Vergrößerung des rauen endoplasmatischen Retikulums und des Golgikomplexes (Wiest et al., 1990) ist eine Plasmazelle in der Lage, tausende von Immunglobulinen pro Sekunde zu synthetisieren (Shimizu et al., 2009).

Hierbei werden im endoplasmatischen Retikulum an den von Ribosomen neusynthetisierten Proteinen noch zahlreiche An- und Umbauvorgänge wie Glykosylierung, Oligomerisierung und Faltung durch Disulfidbrücken vorgenommen (Van Anken et al., 2009). Insbesondere eine

korrekte Faltung der Proteine ist für ihre spätere Funktionsfähigkeit von größter Bedeutung (Benham, 2012). Diese Faltungs- und Umbauvorgänge werden durch spezielle Hilfsproteine (Chaperone) und andere residente Proteine des endoplasmatischen Retikulums (plasma cell induced resident endoplasmic reticulum protein) realisiert (Van Anken et al., 2003; Araki und Nagata, 2011). Bis zu 75 Proteininteraktionen konnten bereits im endoplasmatischen Retikulum nachgewiesen werden (Jansen et al., 2012). Dabei ist bei einer Steigerung der Synthese von Immunglobulinen auch ein Anstieg der residenten Proteine des endoplasmatischen Retikulums zu beobachten (Van Anken et al., 2003; Shimizu et al., 2009; Van Anken et al., 2009). Somit können neben dem immunhistochemischen Nachweis von plasmazellspezifischen Oberflächenproteinen auch residente Proteine des endoplasmatischen Retikulums zum Nachweis von Plasmazellen herangezogen werden (Wiest et al., 1990; Rottach, 2012).

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Untersuchungsmaterial

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Blinddärme von vier adulten und 42 ein bis drei Wochen alten Hühnern der Rasse White und Brown Leghorn untersucht. Die adulten Tiere stammten aus der Versuchsstation für Tierhaltung, Tierzucht und Kleintierzucht "Unterer Lindenhof" der Universität Hohenheim. Die Tiere der Altersstufen vom ersten Lebenstag bis zur dritten Lebenswoche entstammten einer kommerziellen Brüterei (A.C. Weiss GmbH, 88486 Kirchberg). Alle Hühner waren zum Zeitpunkt der Probengewinnung klinisch gesund. Es erfolgte eine Einteilung der Hühner in 6 Altersstufen: Erster Lebenstag, dritter Lebenstag, erste Lebenswoche, zweite Lebenswoche, dritte Lebenswoche und adulte (> 2 Jahre) Tiere (Tab. 1).

**Tab. 1:** Übersicht über Altersstufen, Geschlecht und Anzahl verwendeter Tiere

<b>Altersstufe</b>	<b>Geschlecht</b>	<b>Anzahl</b>	<b>Gesamt</b>
<b>1. Lebenstag</b>	Männlich	6	9
	Weiblich	3	
<b>3. Lebenstag</b>	Männlich	6	9
	Weiblich	3	
<b>1. Lebenswoche</b>	Männlich	5	8
	Weiblich	3	
<b>2. Lebenswoche</b>	Männlich	5	8
	Weiblich	3	
<b>3. Lebenswoche</b>	Männlich	5	8
	Weiblich	3	
<b>Adult (&gt; 2 Jahre)</b>	Männlich	0	4
	Weiblich	4	
			<b>46</b>

Um aufzuchtbedingte Unterschiede in der Entwicklung auszuschließen, erfolgten bei den Altersstufen erster Lebenstag bis dritte Lebenswoche drei zeitlich getrennte Aufzucht- und Beprobungsdurchgänge.

Die Fütterung der adulten Hühner erfolgte mit einem gemahlene Alleinfuttermittel für Legehennen. Die Altersstufen des ersten Lebenstages bis zur dritten Lebenswoche erhielten Kükenstarterfutter.

Den Tieren standen bis zur Tötung Futter und Wasser *ad libitum* zur Verfügung. Auf ein Hungern der Tiere wurde aufgrund bereits beschriebener rasch einsetzender Veränderungen der luminalen Oberflächenmorphologie des Darmes verzichtet (Bayer et al., 1981; Yamauchi et al., 1996; Shamoto und Yamauchi, 2000).

### 3.2 Probenentnahme und Probenaufarbeitung

Die Hühner wurden durch intramuskuläre Injektion von Ketaminhydrochlorid (Ursotamin<sup>®</sup>, Fa. Serum-Werk Bernburg AG) und Xylazin (Rompun<sup>®</sup>, Fa. Bayer AG Leverkusen) in einer Mischspritze narkotisiert (Tab. 2) und anschließend durch Eröffnung der *Vv. jugulares* und *Aa. carotides* entblutet.

**Tab. 2:** Narkosedosierung

Altersstufe	Dosierung Ursotamin <sup>®</sup>	Dosierung Rompun <sup>®</sup>
1. Lebenstag	0,1 ml	0,1 ml
3. Lebenstag	0,1 ml	0,1 ml
1. Lebenswoche	0,2 ml	0,2 ml
2. Lebenswoche	0,3 ml	0,3 ml
3. Lebenswoche	0,5 ml	0,5 ml
Adult	0,75 ml	0,75 ml

Unmittelbar nach Eintritt des Todes wurden die Hüftgelenke exartikuliert und jedes Huhn in der Bauchregion gerupft. Ausgehend vom kaudalen Rand des Sternums wurde die gemeinsame Bauch- und Brusthöhle durch einen beidseitigen Schnitt entlang der Rippen nach dorsal bis zur

Wirbelsäule eröffnet. Anschließend wurde die Öffnung durch einen Schnitt in der Medianen bis zur Kloake erweitert und der Magen-Darm-Trakt *in toto* herauspräpariert.

Unabhängig von der Methode wurden die Blinddärme inkl. kurzer Anteile angrenzender Darmabschnitte sofort nach Entnahme in handwarmen PBS (Phosphate buffered Saline)-Puffer (pH 7,4) überführt. Um die Proben vor Veränderungen zu schützen, erfolgte auch die Eröffnung der Blinddärme und angrenzender Darmabschnitte der Länge nach in physiologischer Umgebung mit frischer Pufferlösung. Die Proben wurden anschließend mit Igelstacheln auf Kork oder in unterschiedlichen Dehnungsgraden auf Styroporhalbkugeln gespannt. Verunreinigungen und Schleim wurden durch gründliches drei- bis viermaliges Schwenken in frischer Pufferlösung entfernt. Um die Strukturen optimal zu erhalten und Degenerationen sowie Ablösungen von Epithelzellen zu begegnen, wurden die Proben zwischen dem ersten und zweiten Spülgang für ca. 15 Sekunden in dem jeweiligen Fixans anfixiert.

### **3.3 Rasterelektronenmikroskopie**

Die gereinigten und aufgespannten Proben wurden für die REM-Untersuchungen für 24 Stunden in 2,5 % Glutardialdehyd (GAH)-Lösung fixiert. Je nach Gesamtgröße wurden die *Caeca* als Ganzes oder in max. 1 cm x 1 cm großen Abschnitten dreimal in PBS-Puffer gespült und anschließend in einer aufsteigenden Alkoholreihe bis 100 % entwässert. Um auch kleinste Verunreinigungen und anhaftenden Schleim zu entfernen, wurden die Proben drei- bis viermal für 20 Sekunden in 100 % Ethanol in einem Ultraschallbad gereinigt. Um ein Ablösen oder eine Degeneration der Epithelzellen zu vermeiden, wurden die Proben zwischen den einzelnen Ultraschallreinigungsgängen hinsichtlich ihrer Sauberkeit unter einer Stereolupe begutachtet.

Die sich anschließende Trocknung der Proben erfolgte in einem Critical-Point-Dryer (Typ CPD 030, Fa. BAL-TEC, Witten). Bei der Critical-Point-Dry-Methode wird das als Zwischenmedium eingesetzte Ethanol in mehreren Spülgängen sukzessive durch Kohlendioxid (CO<sub>2</sub>) ersetzt. Anschließend wird die Probenkammer auf den für Kohlendioxid kritischen Punkt gebracht (31 °C und 72 bar), bei welchem es seinen Aggregatzustand von flüssig zu gasförmig ändert. Durch diese schonende Methode der Trocknung können Beschädigungen der Proben durch zu hohe Oberflächenspannungen vermieden werden.

Die getrockneten Proben wurden auf Probenteller (Fa. Agar Scientific Ltd., Essex) mittels Leit-C-Klebstoff (Fa. Neubauer, Münster) aufgeklebt. Nach einer Trocknungszeit von 12 Stunden wurden die Proben im Sputter Coater (Typ SCD 050, Fa. BAL-TEC, Witten) mittels Kathodenzerstäubung bei einer Stromstärke von 40 mA für jeweils 100 Sekunden unter reiner Argonatmosphäre jeweils viermal gerade und viermal schräg mit Gold bedampft. Der Arbeitsabstand zwischen Kathode und Präparatetisch (Anode) betrug hierbei 5,5 cm. Durch den Vorgang des Besputterns erhalten die Proben sowohl thermische als auch elektrische Leitfähigkeit.

### 3.4 Histologie

Die Gewebeproben für die histologischen Färbungen und immunhistochemischen Tests wurden nach der Entnahme ebenfalls auf Kork gespannt. Je Altersstufe wurden mehrere *Caeca* in Methanol/Eisessig im Verhältnis 2:1 für 24 Stunden (Mulisch und Welsch, 2010) und mehrere *Caeca* in Bouin'scher Lösung für 48 Stunden (Mulisch und Welsch, 2010) immersionsfixiert (Tab. 3). Anschließend wurden die verschiedenen Abschnitte der *Caeca* auf ca. 1 cm x 0,5 cm große Stücke zurechtgeschnitten und in einem Gewebeeinfiltrationsautomaten (TP 1020, Leica, Bensheim) in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert. Die Einbettung der Proben in Paraplast<sup>®</sup> (McCormick Scientific, LLC, St. Louis) wurde an einer Paraffinausgießstation (EG 1160, Fa. Leica, Solms) durchgeführt.

Von jedem Probenblock wurden mit einem Rotationsmikrotom (RM 2135, Fa. Leica, Bensheim) drei 2 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Superfrost<sup>®</sup> Objektträger (Fa. Langenbrinck, Emmendingen) bzw. für die Mikrowellenbehandlung auf Superfrost<sup>®</sup> -adhäsiv Objektträger (Fa. Langenbrinck, Emmendingen) aufgebracht. Als Übersichtsfärbung wurden diese Schnitte nach einem am Institut etablierten Protokoll mit Hämatoxylin-Eosin (HE-Färbung) zur lichtmikroskopischen Auswertung gefärbt (Mulisch und Welsch, 2010) und mit Deckgläsern und Entellan<sup>®</sup> (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckt. Nach mikroskopischer Bewertung wurden weitere Schnitte von geeigneten Blöcken auch zu immunhistochemischen Tests herangezogen.

**Tab. 3:** Übersicht über die Anzahl untersuchter Tiere und Fixationstechnik

	<b>GAH</b>	<b>Bouin</b>	<b>M/E</b>
<b>1. Lebenstag</b>	4	3	2
<b>3. Lebenstag</b>	4	3	2
<b>1. Lebenswoche</b>	4	2	2
<b>2. Lebenswoche</b>	4	2	2
<b>3. Lebenswoche</b>	4	2	2
<b>Adult</b>	2	1	1
<b>Gesamt</b>	<b>22</b>	<b>13</b>	<b>11</b>
	<b>46 Tiere</b>		

### 3.5 Immunhistochemie

Der immunhistochemische Nachweis von spezifischen antigenen Strukturen im *Caecum* des Huhnes erfolgte unter Verwendung der in Tabelle 4 aufgeführten Primärantikörpern. Hierbei kam die Labelled-Streptavidin-Biotin-(LSAB)-Methode zur Anwendung. Ihre vier- bis achtfach höhere Sensitivität gegenüber der Avidin-Biotin-Peroxidase-(ABC)-Methode beruht auf der hohen Affinität des Streptavidin für das Biotin des Sekundärantikörpers (Giorno, 1984). Nach Zugabe von 3,3-Diaminobenzidin (DAB) katalysiert das mit einer Meerrettichperoxidase enzymmarkierte Streptavidin im Bindungsbereich des Antikörpers die Umsetzung des farblosen DAB zu einem lichtmikroskopisch sichtbaren bräunlichen Farbstoffkomplex.

Die Durchführung der Immunhistochemie erfolgte nach dem am Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie der Haustiere der Universität Hohenheim etablierten Testprotokoll.

**Tab. 4:** Übersicht über die verwendeten Antikörper (AK)

<b>Antigen</b>	<b>Verdünnung Primär AK</b>	<b>Immunogen</b>	<b>Host</b>	<b>Sekundär AK</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Mikrowelle</b>
<b><math>\alpha</math>-SMA (monoklonal)</b>	1:500	N-terminales Dekapeptid des humanen $\alpha$ -SMA	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Dako Diagnostika GmbH, Hamburg	Ohne
<b><math>\gamma</math>-SMA (monoklonal)</b>	1:100	Hühnermuskelmagen Aktin	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Santa Cruz Biotechnology, Inc.	Ohne
<b>PCNA (monoklonal)</b>	1:500	Gereinigtes PCNA vom Kaninchen-Thymus	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Linaris, Wertheim-Bettingen	3x5 min, 700 Watt
<b>MUC1 (monoklonal)</b>	1:200	Synthetisches Peptid, abgeleitet aus dem zytoplasmatis. Ende des humanen MUC1	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Thermo Fisher Scientific, Freemont, USA	3x5 min, 700 Watt
<b>MUC2 (monoklonal)</b>	1:200	Rekomb. Protein des humanen MUC2	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Freemont, USA	3x5 min, 700 Watt
<b>L-Kette (monoklonal)</b>	1:50	Mouse IgG1	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Southern Biotechnology Associates, Birmingham, AL, USA	Ohne
<b>CD45 (monoklonal)</b>	1:5	Anti-Chicken CD45 (Klon 16-6)	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Prof. Kaspers, LMU München	Ohne
<b>CD3 (monoklonal)</b>	1:300	Humane CD-3 Epsilonkette	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Abcam, Cambridge, UK	3x5 min, 700 Watt
<b>RP-11 (polyklonal)</b>	1:200	Rekombinante Protein Epitope Signature Tag (PrEST)	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Sigma-Aldrich Inc., St. Louis, USA	1x5 min, 700 Watt

In einem ersten Schritt wurden die histologischen Schnitte in Xylol von Paraffin befreit. Daran schloss sich die Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe an.

Um eine zu starke Hintergrundfärbung zu verhindern, wurde die endogene Peroxidase durch Zugabe von zehnpromzentiger Hydrogenperoxidlösung gehemmt. Daraufhin wurden die Schnitte für 10 Minuten fließend gewässert und dreimal für fünf Minuten in PBS-Puffer gewaschen. Die sich anschließende 30-minütige Inkubation in 1:10 verdünntem Pferdeserum diente der Verhinderung unspezifischer Wechselwirkungen des Primärantikörpers mit dem Gewebe. Daraufhin wurde der verdünnte Primärantikörper auf die histologischen Schnitte pipettiert und über Nacht in einer Feuchtkammer (Fa. Shandon<sup>®</sup>, Frankfurt a. M.) im Kühlschrank bei 5 °C inkubiert.

Bei den in Tabelle 4 gekennzeichneten Antikörpertests schloss sich an die Rehydrierung eine Mikrowellenbehandlung in 10 mM Citratpuffer (pH 6) zur Freilegung spezifischer Antigenstrukturen an. Nach 30-minütiger Abkühlung wurden die Schnitte zur vollständigen Entfernung des Citratpuffers dreimal für je fünf Minuten in *Aqua dest.* gewaschen und daraufhin wie die übrigen Schnitte behandelt.

Am nächsten Tag wurde nach dreimaligem Waschen der Schnitte in PBS-Puffer der mit Biotin markierte und verdünnte Sekundärantikörper für 30 Minuten auf die Schnitte gegeben, wodurch dieser an das Immunglobulin G (IgG) des Primärantikörpers band. Nach erneutem dreimaligem Waschen in PBS-Puffer wurden die Schnitte anschließend für 30 Minuten mit der Streptavidin-Meerrettichperoxidase (DAKO, Hamburg) inkubiert, wodurch sich dieses mit dem Biotin des Sekundärantikörpers verband. Durch 10-minütiges Inkubieren mit 3,3-Diaminobenzidin (DAB)-Lösung konnte daraufhin die positive Antigen-Antikörperreaktion anhand eines braunen Farbniederschlags an Bindungsstellen des Primärantikörpers sichtbar gemacht werden. Nach erfolgter Kernfärbung mit Hämalaun (Mulisch und Welsch, 2010) und Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe wurden die histologischen Schnitte mit Deckgläsern und Entellan<sup>®</sup> (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckt.

Als Positivkontrolle dienten Schnitte, bei denen eine positive Reaktion mit den Primärantikörpern bekannt ist. Als Negativ- und Prozesskontrolle wurde bei jeweils einem Schnitt auf die Inkubation mit dem Primärantikörper (K1), dem Sekundärantikörper (K2) oder dem Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Komplex (K3) verzichtet.

### 3.6 Auswertung

Im Rahmen der makroskopischen Auswertung der *Caeca* kam eine Stereolupe des Typs Stemi 2000 - CS (Fa. Zeiss, Oberkochen) mit angeschlossener Digitalkamera zum Einsatz. Die Messung der Caecumlänge wurde unter Verwendung einer handelsüblichen Schieblehre bei allen 46 Tieren aus Tabelle 1 durchgeführt. Aus den Messwerten wurden daraufhin der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung berechnet.

Die Auswertung der Oberflächenstrukturen der *Caeca* erfolgte an einem Rasterelektronenmikroskop (Typ DSM 940 A, Zeiss, Oberkochen) mit PC-Anschluss, was eine digitale Bildverarbeitung ermöglichte. Untersucht wurden die luminalen Veränderungen der drei Blinddarmabschnitte *Basis caeci* mit *Tonsilla caecalis*, *Corpus caeci* und *Apex caeci* während der Entwicklung vom ersten Lebenstag bis zum adulten Tier.

Für die deskriptive Auswertung der histologischen und immunhistochemischen Schnitte wurde ein Mikroskop Typ Laborlux S (Leitz, Wetzlar) verwendet. Die bildhafte Dokumentation erfolgte an einem Mikroskop Typ DMRD (Fa. Leica, Bensheim) mit einer Digitalkamera Typ DFC 420 C (Fa. Leica, Bensheim) und einem Bildverarbeitungsprogramm "Image Processing and Analysis".

Mit dem Computerprogramm „Leica Application Suite“ Vers. 2.8.1 (Leica Microsystems CMS GmbH, Schweiz) wurden in den Altersstufen erster Lebenstag bis dritte Lebenswoche an jeweils acht *Caeca* Messungen vorgenommen. Um eine Tendenz für die Verhältnisse beim adulten Huhn zu erhalten, wurden zusätzlich vier *Caeca* der adulten Altersstufe vermessen.

In der Blinddarmbasis wurden so je *Caecum* zehn Zotten und Krypten morphometrisch erfasst. In den beiden distalen Abschnitten *Corpus* und *Apex* wurde die Faltenhöhe von jeweils fünf Falten gemessen und die Kryptentiefe ebenfalls an zehn Krypten bestimmt.

Aus den Messungen wurden der arithmetische Mittelwert sowie die Standardabweichung berechnet.

Zur Auswertung des Verhältnisses der Lymphozytensubpopulationen CD3 (T-Lymphozyten), L-Kette (B-Lymphozyten) und RP-11 (Aktivierte Plasmazellen) an der Gesamtpopulation der markierten Lymphozyten (CD45) wurde ein semiquantitatives Bewertungsschema angewandt (Grabinger, 2005; Telgen, 2009).

**Tab. 5:** Semiquantitatives Bewertungsschema für Lymphozytenmarker (Modifiziert nach Telgen, 2009)

<b>Bewertung</b>	<b>Anzahl positiver Zellen [%]</b>
--	0
+/-	< 15
+	< 30
++	< 75
+++	> 75

## 4 Ergebnisse

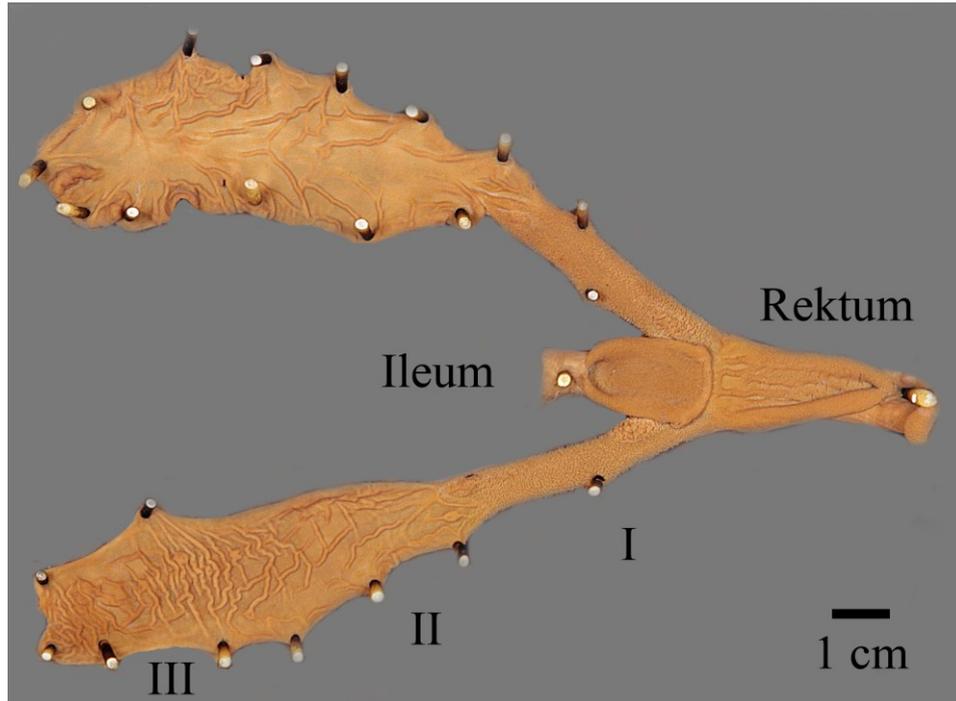
### 4.1 Makroskopische Morphologie

Die Blinddärme des Huhnes stellen sich makroskopisch als paarige, ventrolateral vom Übergang zwischen *Ileum* und Rektum abgehende blind endende Darmabschnitte dar (Abb. 1).

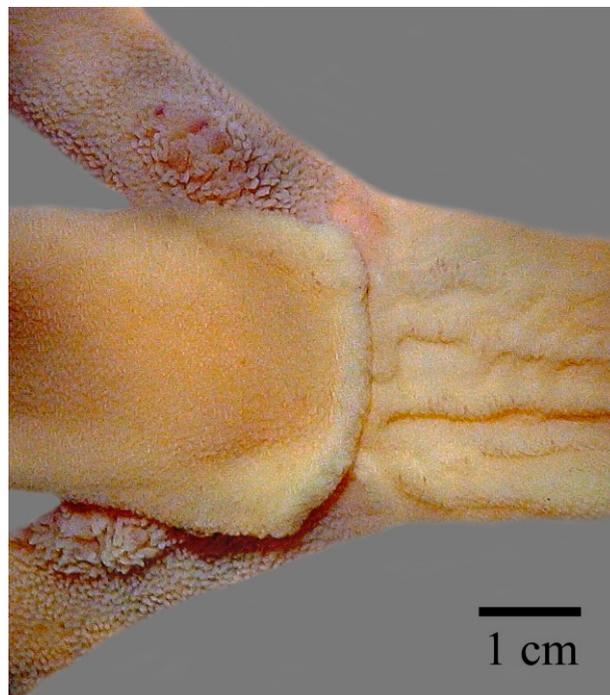
Ihr Anfangsteil, die Blinddarmbasis, besitzt einen geringen Durchmesser. Dieser ist sogar geringer als der der angrenzenden Darmabschnitte. Über den Blinddarmkörper zur Blinddarmspitze hin nimmt der Durchmesser jedoch stetig zu, so dass die Spitze eine blasenförmige Gestalt annimmt und dabei ca. das Zwei- bis Dreifache des Durchmessers der Blinddarmbasis erreicht. Beide *Caeca* sind in kranialer Richtung fest über Bänder mit dem *Ileum* verbunden. Im Bereich der Blinddarmspitze sind die Blinddärme leicht nach ventral eingerollt und die Bandadaption an das *Ileum* ist hier entsprechend weiter. Auch die Wanddicke nimmt von der Blinddarmbasis über den Blinddarmkörper zur Spitze hin ab, so dass in den beiden distalen Abschnitten zunehmend bräunlicher bis grünlicher Darminhalt durchscheint. Dieser war stets von dünnbreiiger Konsistenz und ohne erkennbare Strukturen.

Bei Eröffnung des Darmes lässt sich im Übergangsbereich des Ileums zum Rektum und den hier abgehenden Blinddärmen eine deutlich ausgeprägte Schleimhautfalte finden (Abb. 1). Diese ist leicht nach aboral orientiert und verdeckt teilweise die Mündungsstellen der Blinddärme (Abb. 2).

An den Blinddärmen selbst sind die einzelnen Abschnitte *Basis* (I), *Corpus* (II) und *Apex* (III) bereits makroskopisch zu unterscheiden (Abb. 1). Die Blinddarmbasis lässt hierbei eine samtartige Oberfläche erkennen und im Blinddarmkörper sind zahlenmäßig nicht einheitliche, longitudinal orientierte Falten zu beobachten, welche unter Zug nahezu vollständig verstreichen. Zu diesen kommen in der Blinddarmspitze zusätzlich querverlaufende, ebenfalls unter Zug verstreichende Falten hinzu, so dass sich hier ein Netzwerk unterschiedlich verlaufender Falten ausbildet. Im ersten Drittel der Blinddarmbasis grenzt sich ventromedial die Caecaltonsille deutlich als runde bis ovale Erhebung von der übrigen Blinddarmbasis ab (Abb. 2).



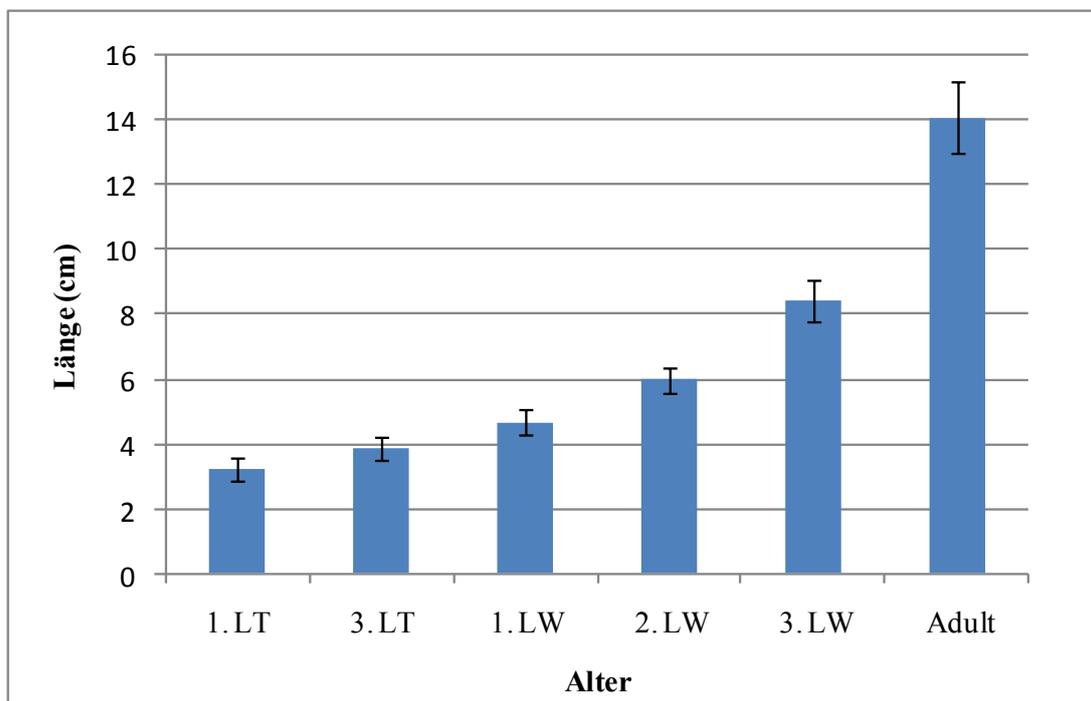
**Abb. 1:** Übergang *Ileum*-*Rektum* und *Caeca* eröffnet und aufgespannt. **I:** *Basis*, **II:** *Corpus*, **III:** *Apex*. 3. Lebenswoche, GAH Fixierung.



**Abb. 2:** Deutliche Vorwölbung der Caecaltonsille im Anfangsabschnitt der Blinddarmbasis und gut sichtbare, nach aboral orientierte Schleimhautfalte zwischen *Ileum* und *Rektum*. 3. Lebenswoche, GAH-Fixierung.

Die Länge der *Caeca* ändert sich mit den Entwicklungsstufen des Huhnes (Abb. 3). So besitzen die *Caeca* der Eintagesküken noch im Mittel eine Länge von 3,19 cm, während diese am dritten Lebenstag im Durchschnitt bereits 3,85 cm beträgt. In der Altersentwicklung nimmt die Länge weiter zu, bis sie beim ausgewachsenen Huhn im Mittel 14,06 cm erreicht (Abb. 3). Im gleichen Verlauf nimmt auch der Durchmesser zu, wobei das Verhältnis der Durchmesser der einzelnen Abschnitte zueinander keine Altersunterschiede zeigt.

Bei den Eintagesküken ist die Caecaltonsille bereits als kleine, rundliche Erhebung mit ca. 2 mm Durchmesser und knapp 1 mm Höhe deutlich von der übrigen Struktur der Blinddarmbasis abgrenzbar. In der weiteren Entwicklung nimmt diese an Größe zu, bis sie beim adulten Huhn eine Größe von bis zu 12 mm x 7 mm erreicht. Zusätzlich ändert sich ab der zweiten Lebenswoche zunehmend ihre Form. Sie nimmt eine in Darmlängsrichtung orientierte ovale Struktur an und besitzt nun im Mittel eine Größe von 6 mm x 9 mm. Ab der zweiten Lebenswoche ist auch eine deutlich rötlichere Färbung der Caecaltonsille im Vergleich zur Farbe des restlichen Caecums zu beobachten.

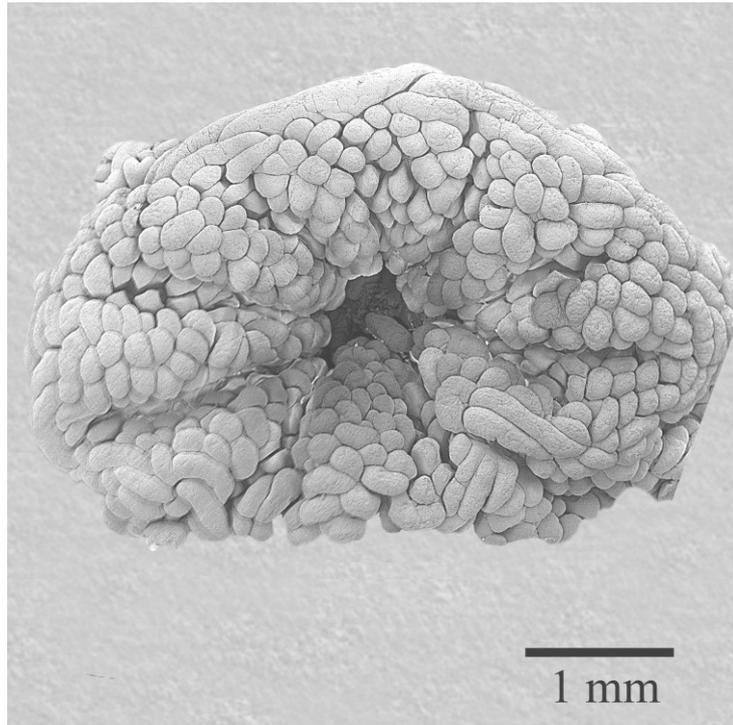


**Abb. 3:** Längenzunahme der *Caeca* in der Altersentwicklung (s.Tab A1). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

## 4.2 Rasterelektronenmikroskopie

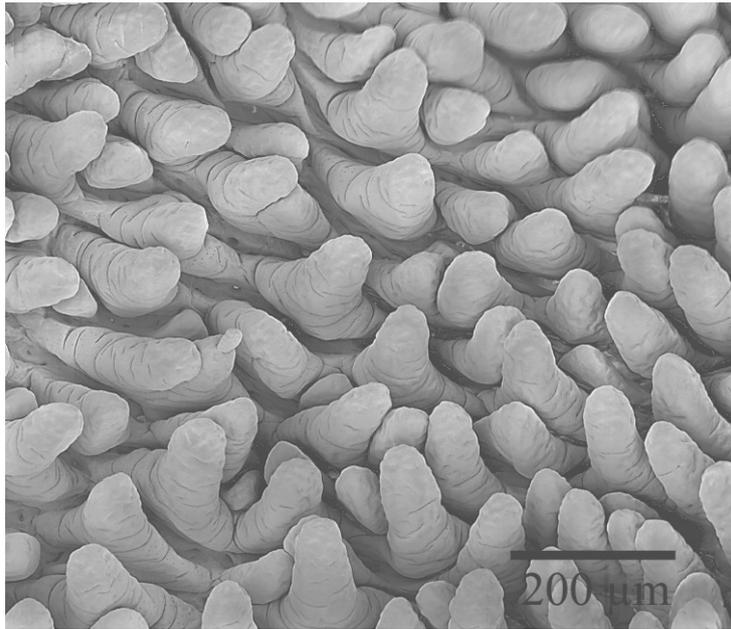
Die bereits makroskopisch sichtbaren strukturellen Unterschiede in der Oberflächenmorphologie der einzelnen Abschnitte des Caecums zeigen sich auch in den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen. So sind hier in der Blinddarmbasis Zotten und in dem Blinddarmkörper und *Apex* unterschiedlich angeordnete Falten zu finden. Durch das hohe Vergrößerungsvermögen des Rasterelektronenmikroskopes lassen sich noch viele weitere mikromorphologische Oberflächendetails erkennen und darstellen.

Im Mündungsbereich der *Caeca* ragt das ***Ostium caeci*** regelrecht papillenartig in das Lumen des Übergangsbereiches *Ileum*-Rektum vor. *In situ* wird diese Mündungsstelle von einer zwischen *Ileum* und Rektum lokalisierten und nach aboral orientierten Schleimhautfalte teilweise verdeckt. Als Beginn der Blinddärme wird die Vorwölbung durch einen runden Schleimhautwall, der sich sphinkterartig in Falten legt, gebildet. Dieser Wall ist sowohl an seiner Außenseite als auch in seinem Lumen von Zotten bedeckt, welche zum Teil länglich miteinander verwachsen sind. Betrachtungen des Lumens veranschaulichen den geringen Öffnungsdurchmesser des *Ostium caeci* von ca. 600 µm beim adulten Tier (Abb. 4).

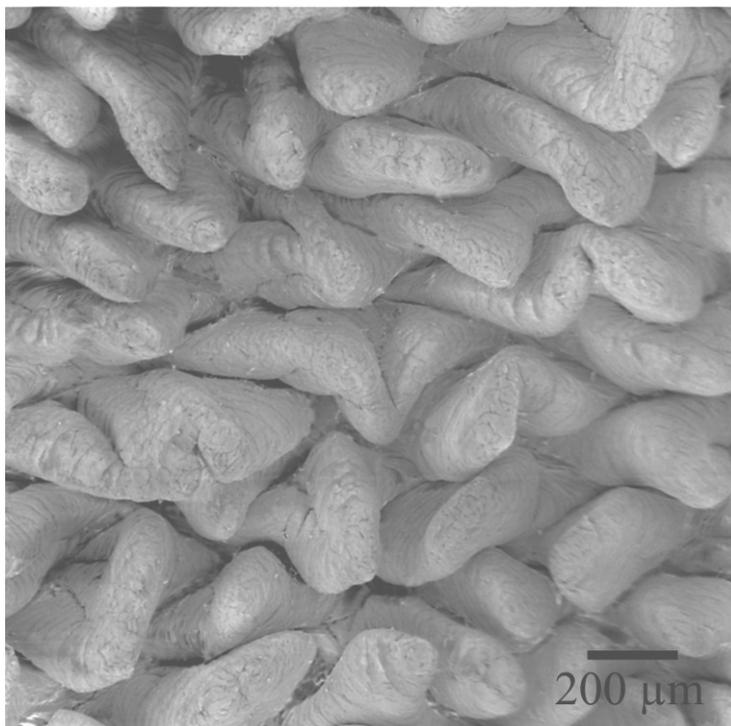


**Abb. 4:** *Ostium caeci*: Zottentragende und in Falten gelegte Oberfläche der sehr engen Caecumöffnung: Zotten teilweise länglich miteinander verwachsen. Adultes Tier, REM-Aufnahme.

Die **Blinddarmbasis**, welche ca. ein Drittel der Gesamtlänge des Caecums ausmacht, ist von zahlreichen, dicht stehenden Zotten bedeckt. Am ersten und dritten Lebenstag sind die Zotten noch fingerförmig und nur an ihrer Basis deutlich abgeplattet und verbreitert zu sehen (Abb. 5). Dies ändert sich mit zunehmendem Alter der Tiere. Die Zotten werden breiter und weisen mehr und mehr eine spatel- oder zungenförmige Gestalt auf (Abb. 6). Die Zottenbasis bleibt hierbei jedoch stets breiter als die Zotte selbst.



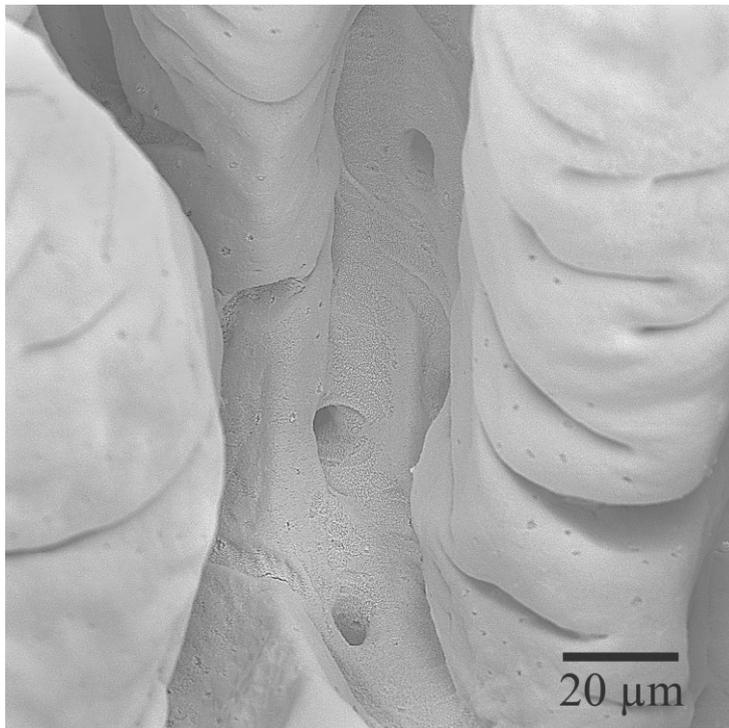
**Abb. 5:** *Basis caeci*: Fingerförmige Zotten mit verbreiteter Zottenbasis. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.



**Abb. 6:** Spatel- bis zungenförmige Zotten der Blinddarmbasis eines adulten Tieres. REM-Aufnahme.

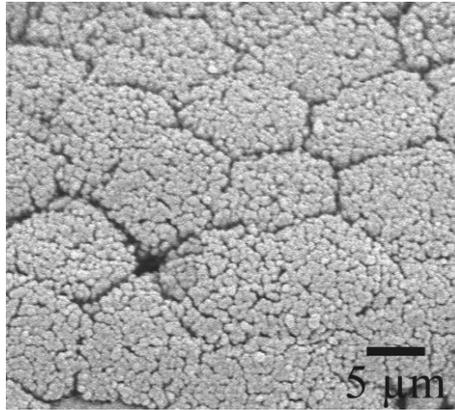
Das Epithel der Zottenoberfläche zeigt unregelmäßige Einfaltungen. Bei Proben ohne korrekte Schleimentfernung zeigt sich, dass diese Furchen vollständig von Schleim ausgefüllt sind und somit eine glatte Zottenoberfläche bilden. Ab der ersten Lebenswoche weisen die Zotten eine stärkere Furchung auf und zeigen in einzelnen Bereichen eine starke Vorwölbung. Diese Vorgänge sind in der zweiten Lebenswoche am stärksten ausgeprägt und nehmen in der dritten Lebenswoche wieder ab. Bei den adulten Tieren ist eine recht unauffällige Furchung vergleichbar mit der des ersten und dritten Lebenstages zu beobachten.

Zwischen den einzelnen Zotten lassen sich bei allen Altersstufen runde bis schlitzförmige Öffnungen der Lieberkühn'schen Krypten erkennen. Diese sind nicht regelmäßig angeordnet und, da die Zotten sehr eng stehen, nur bei gedehnten Proben zu sehen (Abb. 7).



**Abb. 7:** Tief zwischen den eng stehenden Zotten der Blinddarmbasis gelegene, rundliche bis schlitzförmige Kryptenöffnungen. 1. Lebenstag, leicht gedehnte Probe, REM-Aufnahme.

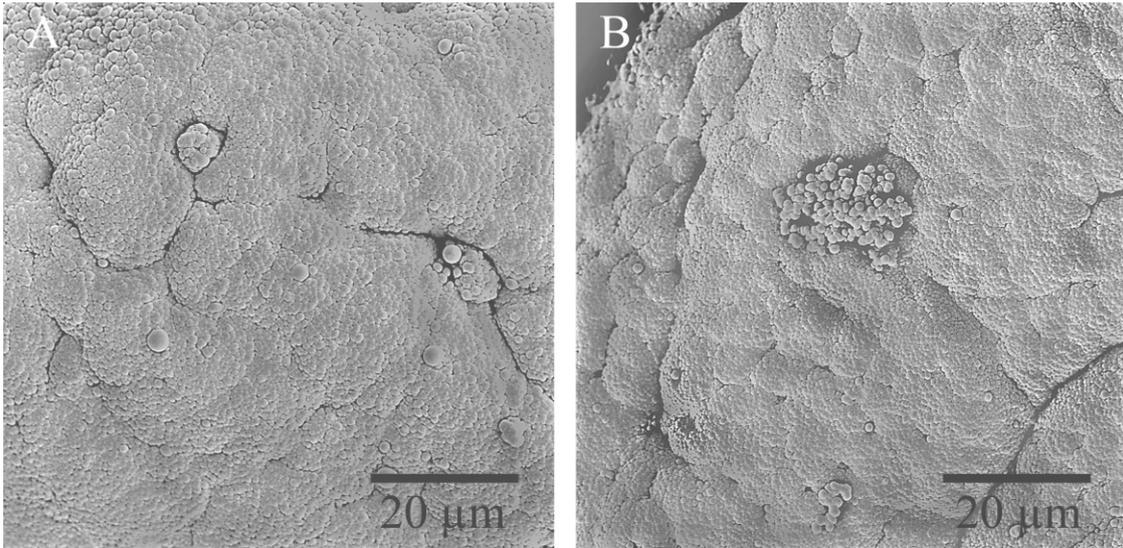
Das Epithel zeigt gleichmäßig große, hexagonale Enterozyten mit einem Oberflächendurchmesser von ca. 10  $\mu\text{m}$ . Auf ihrer luminalen Oberfläche sind sie mit einem dichten Saum aus Mikrovilli besetzt (Abb. 8).



**Abb. 8:** Luminal Oberfläche der Enterozyten mit dichtem Mikrovillibesatz und hexagonalen Zellgrenzen. Dazwischen sind unregelmäßig Becherzellöffnungen zu erkennen. Adultes Tier, REM-Aufnahme.

Zwischen den Enterozyten lassen sich im Epithel zusätzlich unregelmäßig verteilte Becherzellen unterschiedlicher Funktionsstadien erkennen.

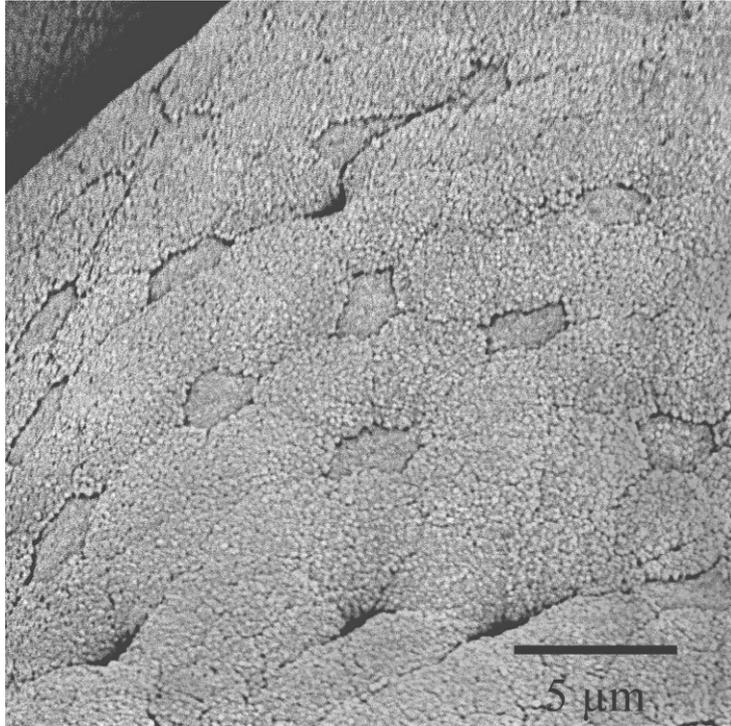
Diese wölben sich teilweise regelrecht über das Epithel hinaus vor oder erscheinen unterhalb des Epithelniveaus abgesunken (Abb. 9). Abhängig vom Grad der Vorwölbung sind auch an der luminalen Oberfläche der Becherzellen lange Mikrovilli zu beobachten (Abb. 9 B). Die Verteilung der Becherzellen entlang der Zottenachse ist uneinheitlich. So sind sie an der Zottenspitze der Blinddarmbasis und an der Spitze von Epithelfaltungen im Blinddarmkörper und der Blinddarmspitze seltener zu finden als in basalen und lateralen Bereichen der Zotten und Falten. Auch lässt sich eine absolute Abnahme der Anzahl der Becherzellen von der Blinddarmbasis über den Blinddarmkörper hin zur Blinddarmspitze feststellen.



**Abb. 9:** Becherzellen in unterschiedlichen Funktionsstadien. **A:** Tief eingesunkene Becherzellen. **B:** Sich über die Epitheloberfläche vorwölbende Becherzelle mit gut erkennbaren Mikrovilli. 3. Lebenswoche, REM-Aufnahme.

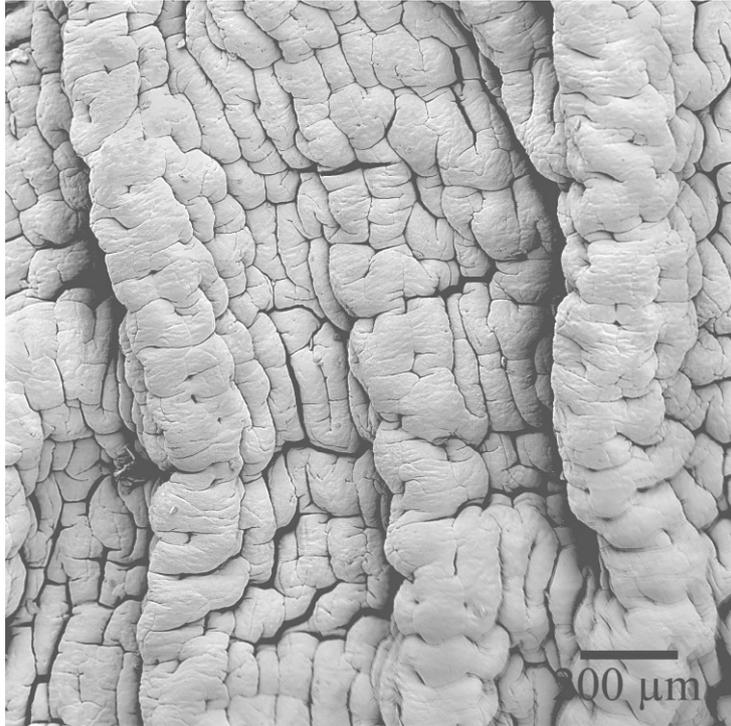
Die Zotten der *Tonsilla caecalis* zeigen in allen Altersstufen eine lange, fingerförmige Gestalt. Ihre Basis ist jedoch ebenfalls stets verbreitert und zwischen den einzelnen Zotten finden sich unregelmäßig verteilt kleine Dome, die häufig auch in die verbreiterte Zottenbasis übergehen. Durch das Auftreten der Dome erscheinen die Zotten auseinandergerückt und sind zahlenmäßig geringer als in der übrigen Blinddarmbasis.

Das Epithel der Zotte selbst zeigt keine Unterschiede zur übrigen Blinddarmbasis. Auf den Domen oder auch an der verbreiterten Zottenbasis finden sich jedoch neben Enterozyten und Becherzellen auch M-Zellen. Diese besitzen ebenfalls eine hexagonale Form, sind jedoch im Vergleich zu den Enterozyten mit einem Oberflächendurchmesser von ca. 7 µm etwas kleiner und tragen an ihrer luminalen Oberfläche deutlich weniger und kürzere Mikrovilli (Abb. 10).



**Abb. 10:** Oberflächenepithel eines Domes im Bereich der *Tonsilla caecalis*. Neben hexagonalen Enterozyten sind M-Zellen zu erkennen, die mit kürzeren und weniger Mikrovilli besetzt sind. Adultes Huhn, REM-Aufnahme.

Anders als in der Blinddarmbasis sind in den beiden distalen Abschnitten *Corpus* und *Apex* keine Zotten nachzuweisen (Abb. 11; Abb. 12). Der Übergang von zottentragenden Bereichen der Blinddarmbasis zum zottenlosen **Blinddarmkörper** erfolgt dabei relativ abrupt. Die Oberflächenmorphologie des *Corpus caeci* ist durch das Auftreten mehrerer zahlenmäßig nicht einheitlicher, longitudinal verlaufender Falten gekennzeichnet, die in der Altersentwicklung eine kontinuierliche Größenzunahme zeigen. Sowohl auf als auch zwischen den Falten wird die Oberfläche durch gut sichtbare Kryptenöffnungen unterbrochen. Die Öffnungen besitzen, vergleichbar mit den Kryptenöffnungen der Blinddarmbasis, eine runde bis schlitzförmige Form und sind relativ englumig. Durch Einziehungen an den Falten, die denen an den Zotten der Blinddarmbasis ähnlich sind, und die leichte Vorwölbung des Epithels zwischen den Kryptenöffnungen zeigt die Gesamtoberfläche ein hirnwindungsartiges Erscheinungsbild (Abb. 11).

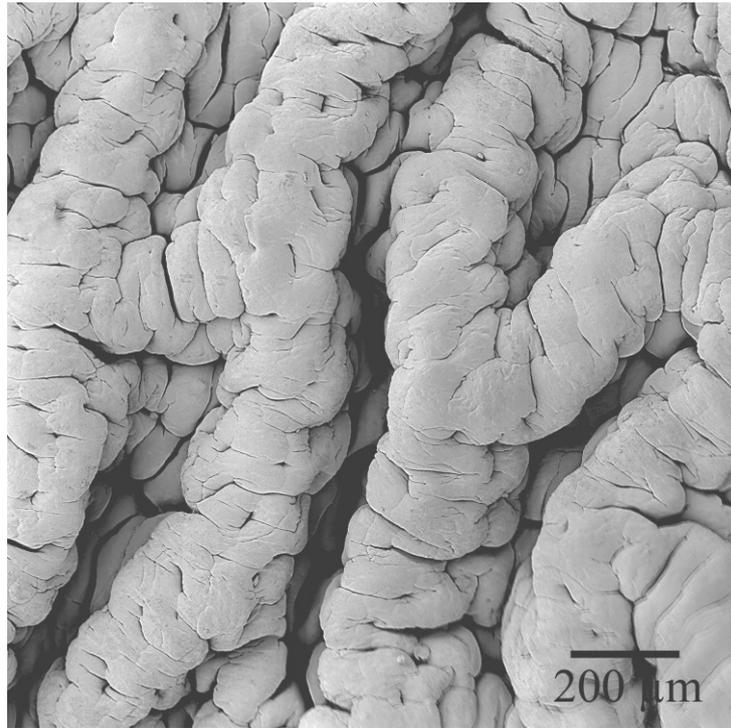


**Abb. 11:** *Corpus caeci*: Longitudinal verlaufende Falten mit gut sichtbaren Kryptenöffnungen. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.

Die **Blinddarmspitze** ist in ihrer Grundstruktur mit der des *Corpus* vergleichbar. Zusätzlich zu den bereits im Blinddarmkörper vorhandenen longitudinalen Falten lassen sich jedoch auch querverlaufende Falten beobachten (Abb. 12). Die Grenze zwischen diesen beiden distalen Abschnitten ist jedoch nicht eindeutig zu ziehen und variiert teilweise recht erheblich. Auch die Falten der Blinddarmspitze nehmen in der Altersentwicklung kontinuierlich an Größe zu.

Besondere Oberflächenstrukturen immunologischer Einrichtungen, wie das apikale Blinddarmdivertikel, konnte in der Blinddarmspitze in keiner Altersstufe nachgewiesen werden.

Das Epithel sowohl des Blinddarmkörpers als auch der Blinddarmspitze ist mit dem der Blinddarmbasis identisch. Jedoch lassen sich in den beiden distalen Abschnitten deutlich weniger Becherzellen und keine M-Zellen beobachten.



**Abb. 12:** *Apex caeci*: Longitudinal und transversal verlaufende Falten bilden ein Netzwerk. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.

### 4.3 Histomorphologie

Hinsichtlich der Oberflächenstruktur der einzelnen Blinddarmabschnitte decken sich die Ergebnisse aus der Makroskopie und Rasterelektronenmikroskopie mit den lichtmikroskopischen Beobachtungen.

In der Altersentwicklung ist eine deutliche Zunahme der Wanddicke in allen Blinddarmabschnitten zu beobachten. Gleichzeitig ist die Wanddicke der einzelnen Abschnitte unterschiedlich. So nimmt sie von der Blinddarmbasis über den *Corpus* zur Spitze hin stets ab.

Im Lichtmikroskop lässt sich von innen nach außen eine klassische Schichtung der Darmwand erkennen. Die ***Tunica mucosa*** mit ihren Anteilen *Lamina epithelialis*, *Lamina propria mucosae* und *Lamina muscularis mucosae* macht hierbei ein Drittel bis zur Hälfte der Gesamtdicke der Darmwand aus.

Die ***Lamina epithelialis*** besteht hauptsächlich aus Enterozyten. Diese besitzen einen schlanken Körper mit einer Höhe von bis zu 80 µm und einer Breite von ca. 8 µm. Ihre Höhe variiert jedoch je nach Lokalisation im Epithel. So sind Enterozyten in den Krypten und an den Zottenspitzen der Blinddarmbasis um ca. ein Drittel niedriger als an den Zottenseiten (Abb. 13). Auch in den zottenlosen Abschnitten *Corpus* und *Apex* lassen sich unterschiedliche Enterozytenhöhen beobachten. So sind die Enterozyten hier am Kryptenboden und in luminal gelegenen Epithelanteilen ebenfalls um ca. ein Drittel niedriger als in der Kryptenmitte, wo sie ca. 80 µm erreichen. Weiter besitzen auch die Eintagesküken mit nur ca. 40 µm eine niedrigere Enterozytenhöhe. Diese entspricht jedoch bereits am dritten Lebenstag den Gegebenheiten der übrigen Altersstufen.

Luminal sind die Enterozyten von einem gut entwickelten Bürstensaum aus Mikrovilli bedeckt (Abb. 13). Der längsovale Zellkern ist mit ca. 10 µm x 3 µm relativ groß und liegt in der Mitte oder im basalen Drittel der Zelle (Abb. 13).

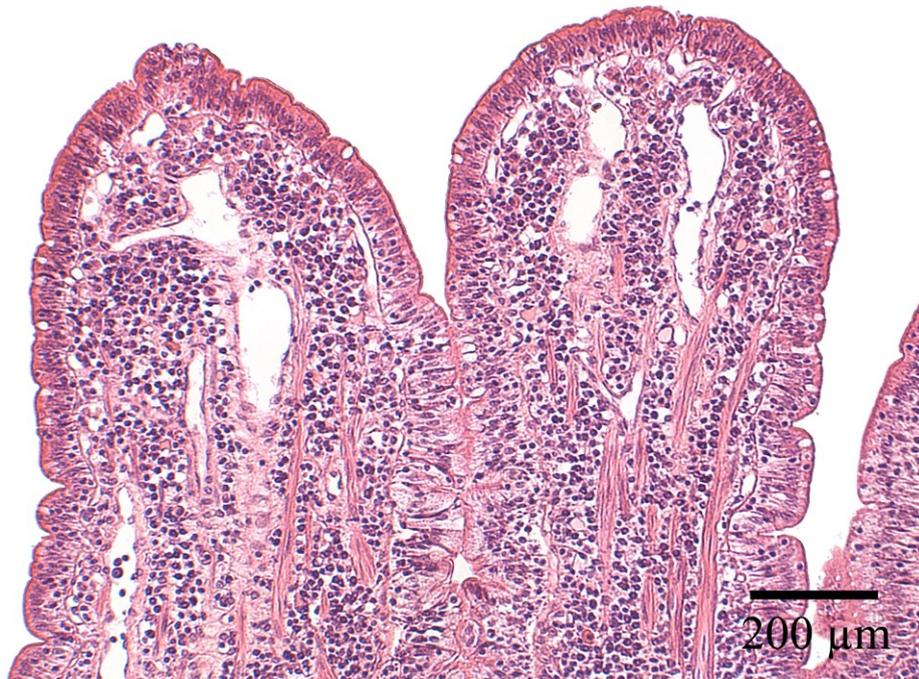
Neben Enterozyten finden sich auch zahlreiche Becherzellen im Epithel. Ihre Verteilung ist jedoch nicht einheitlich. So sind sie zahlreicher in den Krypten und der seitlichen Wand der Zotte zu beobachten, wohingegen sie nur vereinzelt an der Zottenspitze der Blinddarmbasis (Abb. 13) bzw. den luminalen Anteilen des Epithels im *Corpus* und *Apex* nachweisbar sind. Ebenso ist eine Abnahme der absoluten Zahl an Becherzellen von der Blinddarmbasis über den Blinddarmkörper zur Blinddarmspitze hin festzustellen. Die Becherzellen selbst besitzen durch ihren engen basalen Anteil und ihre - je nach Funktionszustand - deutliche Verbreiterung im

oberen Drittel des Epithels eine charakteristische kelchartige Form. Ihr Kern ist im Vergleich zu dem der Enterozyten deutlich kleiner und tief im basalen Anteil lokalisiert.

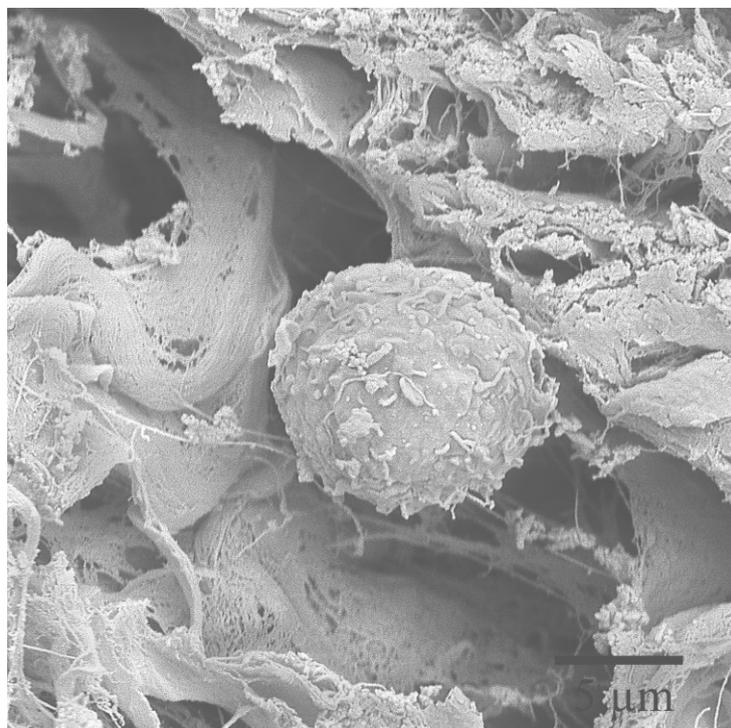
Weiter sind im Epithel einzelne Lymphozyten zu finden, die mit einem kleinen, dunkel gefärbten Zellkern und wenig Zytoplasma ein charakteristisches Erscheinungsbild zeigen.

Daneben können in Dombereichen der Caecaltonsille sehr vereinzelt M-Zellen in engem basolateralen Kontakt zu Lymphozyten beobachtet werden. Der Bürstensaum dieser Zellen ist im Vergleich zu Enterozyten deutlich geringer ausgeprägt.

Die *Lamina propria mucosae* bildet die Grundlage der Zotten der Blinddarmbasis und ist an der Bildung von Falten im Blinddarmkörper und in der Spitze beteiligt. Im Bereich der Caecaltonsille ist sie durch zahlreiche Lymphozyten (Abb. 14) stark verbreitert. Sonst ist die *Lamina propria mucosae* jedoch im Verhältnis zu anderen Schichten der Darmwand relativ dünn ausgebildet. Auch in den anderen Blinddarmabschnitten lässt sich hier lymphatisches Gewebe nachweisen, wobei ab der zweiten Lebenswoche teilweise auch Lymphfollikel zu finden sind. Die charakteristische Ausprägung des Lymphgewebes bleibt jedoch auf die Caecaltonsille (s.u.) beschränkt. Im Bereich der Zottenspitze und apikalen Anteilen der Falten lassen sich subepithelial in der *Lamina propria mucosae* sehr gut ausgeprägte Kapillaren nachweisen. Weiter sind hier in den Zotten der Blinddarmbasis auch größere Venen zu finden (Abb. 13).



**Abb. 13:** Deutlich ausgebildete, subepithelial gelegene Kapillarschlingen im Bereich der Zottenspitze sowie große Venen in der *Lamina propria mucosae*. Starke Muskelzüge der *Lamina muscularis mucosae* reichen bis weit in die Zottenspitze. Blinddarmbasis, Adultes Huhn, HE-Färbung.



**Abb. 14:** Einzelner Lymphozyt im Bindegewebe der Blinddarmbasis. Adultes Huhn, REM-Aufnahme.

Die *Lamina muscularis mucosae* stellt sich als mehrlagige, sowohl längs- als auch querverlaufende Muskellage dar, die bereits am ersten Lebenstag und in allen Blinddarmabschnitten gut entwickelt ist. Von ihr ziehen starke Muskelzüge bis weit in die Zotten der Blinddarmbasis (Abb. 13). Im Bereich des *Corpus* und *Apex* verläuft sie im Bereich der Falten weiter in enger räumlicher Nähe zum Epithel und nimmt so an der Bildung der Falten teil. Auch gibt sie in diesen beiden distalen Blinddarmabschnitten nur feine Muskelzüge in die zwischen den Krypten gelegenen Anteile der *Lamina propria mucosae* ab.

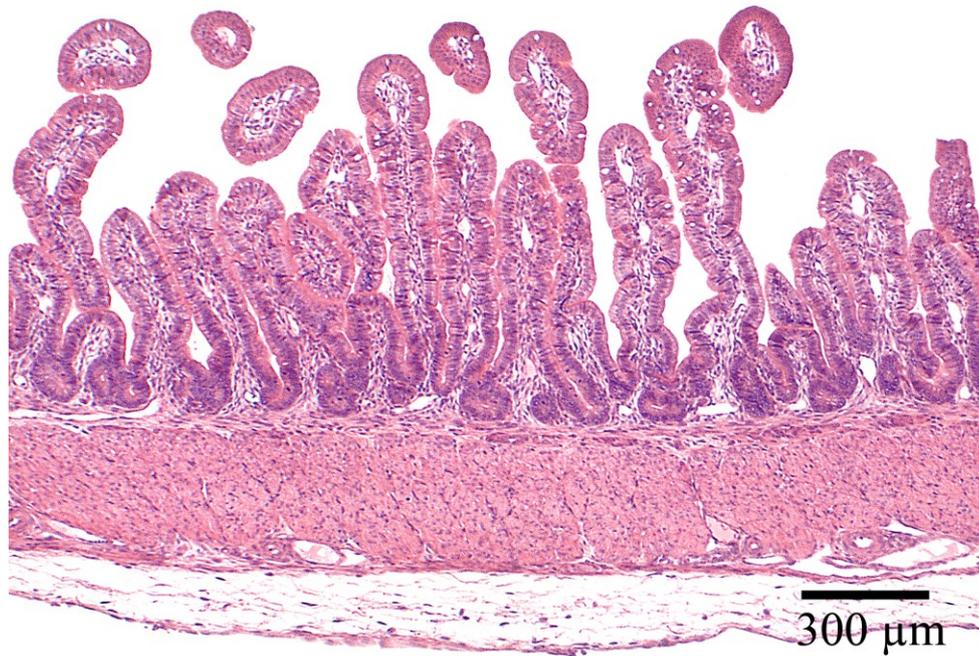
Die *Tela submucosa* ist im Verhältnis zu den anderen Schichten in allen Blinddarmabschnitten auffallend dünn ausgebildet. Als formende Struktur in den Falten des Blinddarmkörpers und der Spitze ist sie jedoch deutlich verbreitert. In ihr lassen sich größere Arterien und Venen sowie ein *Plexus submucosus* nachweisen, wodurch sie auch hier deutlich verbreitert ist.

Die *Tunica muscularis* ist in allen drei Blinddarmabschnitten sehr deutlich entwickelt und macht in etwa die Hälfte der Dicke der Darmwand aus. Sie besteht aus einer sehr stark ausgebildeten inneren zirkulären und einer äußeren longitudinalen Schicht, welche aber nur ca. ein Viertel bis ein Drittel der Dicke der *Tunica muscularis* ausmacht.

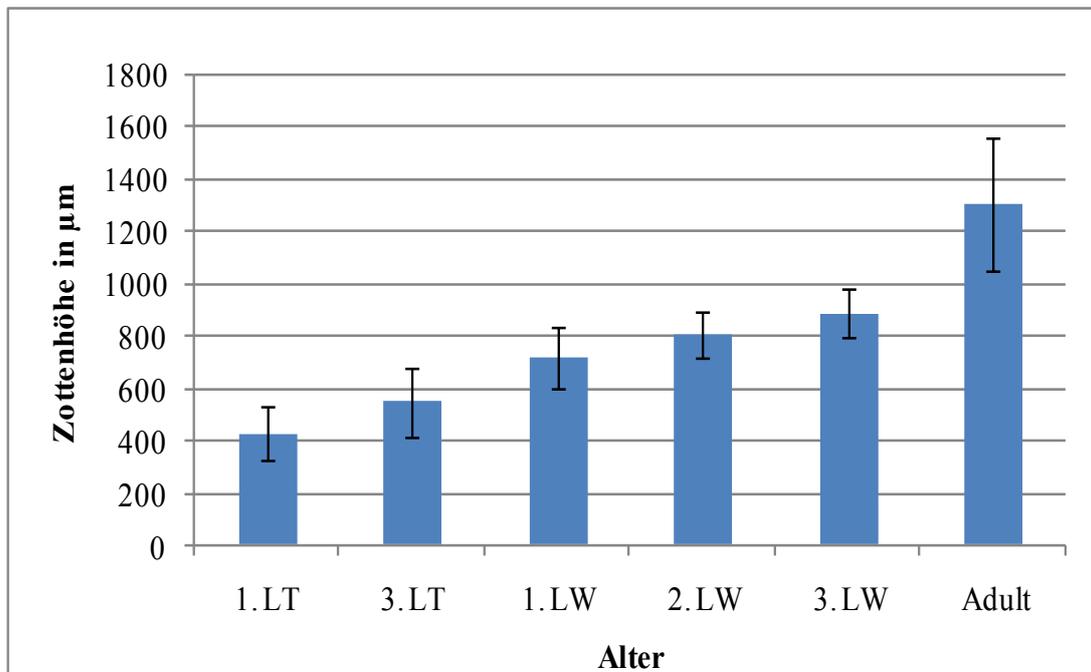
Zwischen beiden Muskellagen lässt sich ein gut entwickelter *Plexus myentericus* erkennen.

Ihren äußeren Abschluss finden die Blinddärme durch ein einschichtiges Plattenepithel, die *Tunica serosa*. Diese wird durch lockeres Bindegewebe von der *Tunica muscularis* getrennt.

Die **Blinddarmbasis** zeigt, wie auch bereits in der Rasterelektronenmikroskopie beobachtet, eng stehende Zotten (Abb. 15). Diese sind am ersten Lebenstag im Mittel 426  $\mu\text{m}$  hoch, zeigen jedoch ein kontinuierliches Wachstum bis zu einer Höhe von durchschnittlich 1304  $\mu\text{m}$  beim adulten Huhn (Abb. 16). Die Krypten der Blinddarmbasis sind demgegenüber mit im Mittel 106  $\mu\text{m}$  am ersten Lebenstag und 253  $\mu\text{m}$  beim adulten Tier vergleichsweise kurz (Tab. A5).



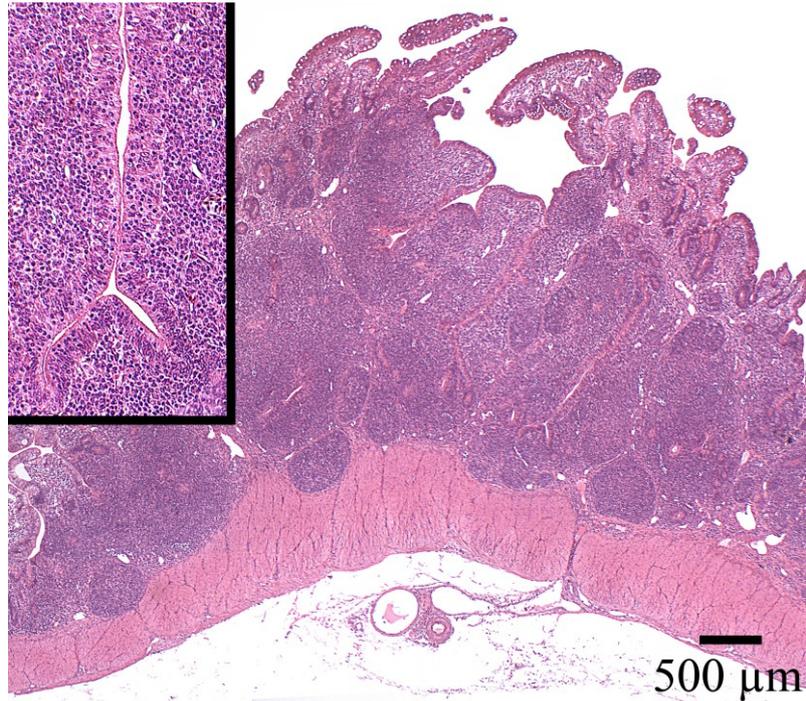
**Abb. 15:** Lange, schlanke Zotten und kurze Krypten in der Blinddarmbasis außerhalb der Caecaltonsille. 1. Lebenstag, HE-Färbung.



**Abb. 16:** Längenentwicklung der Zotten in der Blinddarmbasis (s. Tab. A2). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.

Die **Caecaltonsille** tritt als eine prominente Verbreiterung der *Lamina propria mucosae* deutlich über die Oberfläche des restlichen Gewebes hervor (Abb. 17). Luminal finden sich sowohl bei den Eintagesküken als auch den drei Tage alten Tieren im Vergleich zur übrigen Blinddarmbasis sehr hohe Zotten. Diese werden an ihrer Basis teilweise durch kleine kuppelartige Domregionen voneinander getrennt. Mit zunehmender Entwicklung der *Tonsilla caecalis* nehmen diese Zotten jedoch sowohl in ihrer Gesamtanzahl als auch in der Höhe ab.

Die *Lamina propria mucosae* besteht im Bereich der Caecaltonsille hauptsächlich aus Lymphozyten. Die *Lamina muscularis mucosae* ebenso wie die *Tela submucosa* sind hier nicht als einzeln abgrenzbare Schichten nachweisbar. Ab der zweiten Lebenswoche sind auch Lymphfollikel zu beobachten. Diese sind meist in basalen Anteilen der *Lamina propria mucosae* lokalisiert und durch eine dünne bindegewebige Schicht von den übrigen Lymphozyten getrennt. Häufig erreichen sie durch ihre basale Lage auch Anteile der *Tunica muscularis*. Dabei besitzen sie eine runde Form und einen Durchmesser von bis zu 400 µm. Unterteilt wird die Caecaltonsille weiter durch sehr tiefe Krypten, welche jedoch Primäraufzweigungen besitzen und ebenfalls beinahe die *Tunica muscularis* erreichen (Abb. 17).



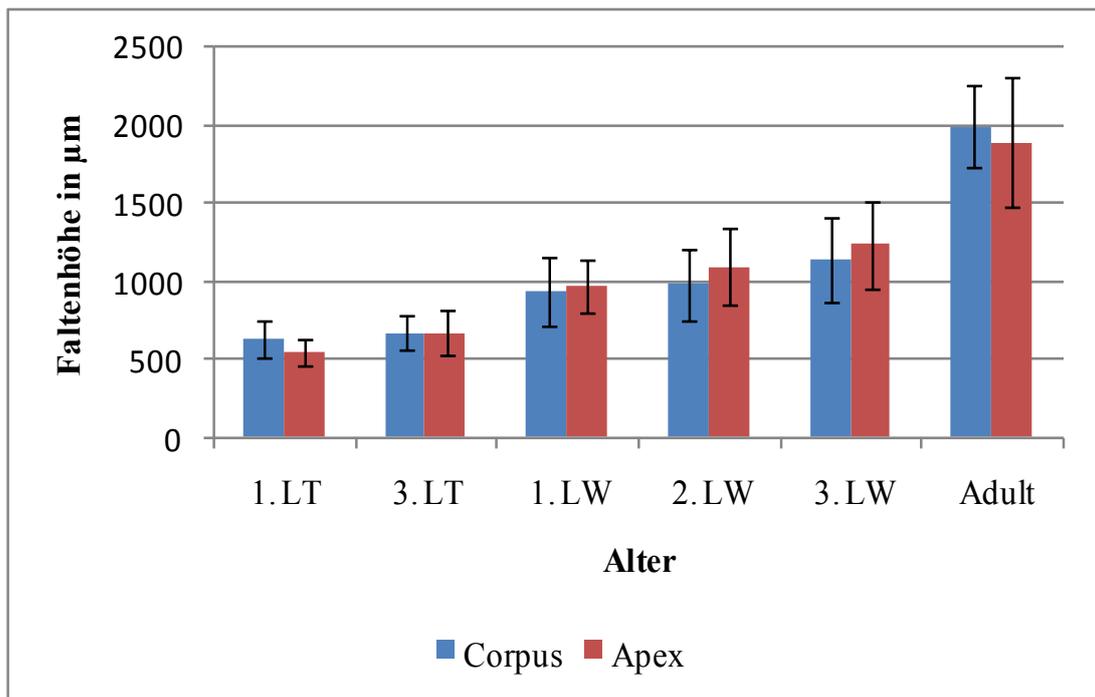
**Abb. 17:** Stark verbreiterte *Lamina propria mucosae* im Bereich der Caecaltonsille. Es sind zahlreiche Lymphozyten und bindegewebig abgegrenzte Lymphfollikel, die bis an die *Tunica muscularis* reichen, zu sehen. Weiter lassen sich sehr tiefe Krypten mit Primäraufzweigungen beobachten (Insert). 3. Lebenswoche, HE-Färbung.

Die im **Blinddarmkörper und -spitze** vorhandenen Falten zeigen in der Altersentwicklung eine deutliche Zunahme der Höhe. So nimmt diese im Blinddarmkörper von im Mittel 623 µm am ersten Lebenstag bis zu 1993 µm bei den adulten Tieren zu (Abb. 18).

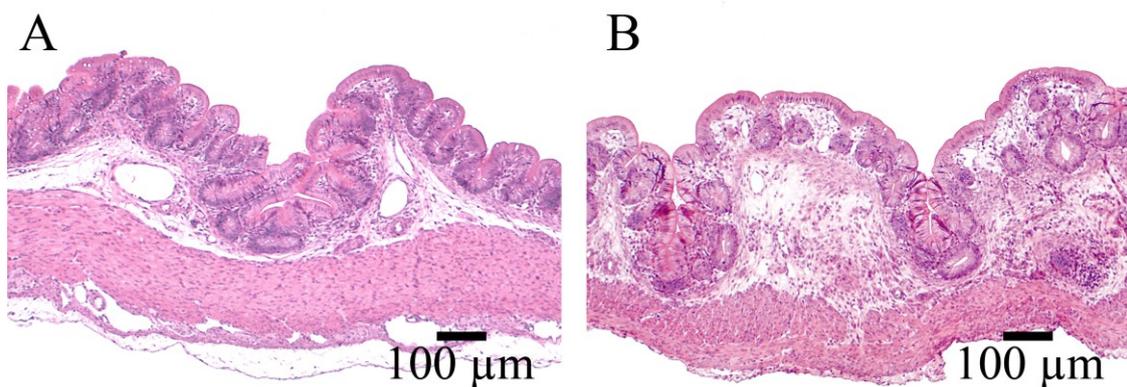
Das Epithel ist durch zahlreiche Krypten „unterbrochen“ (Abb. 19). Die Kryptentiefe ist mit durchschnittlich 199 µm am ersten Lebenstag und 346 µm beim adulten Tier in der Blinddarmspitze mit der Kryptentiefe des Blinddarmkörpers weitgehend identisch (Tab. A6; Tab. A7).

Die Krypten der beiden distalen Blinddarmabschnitte zeigen im Vergleich zu den Verhältnissen in der Blinddarmbasis eine deutlich größere Tiefe.

Neben den bereits angesprochenen diffus verteilten Lymphozyten und der Lymphfollikelbildung in der *Lamina propria mucosae* sind in *Corpus* und *Apex* keine weiteren, besonders strukturierte lymphatische Einrichtungen wie ein apikales Blinddarndivertikel zu beobachten.



**Abb. 18:** Höhe der Falten in den Abschnitten *Corpus* und *Apex* in der alters-abhängigen Entwicklung (s. Tab. A3; Tab. A4). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.



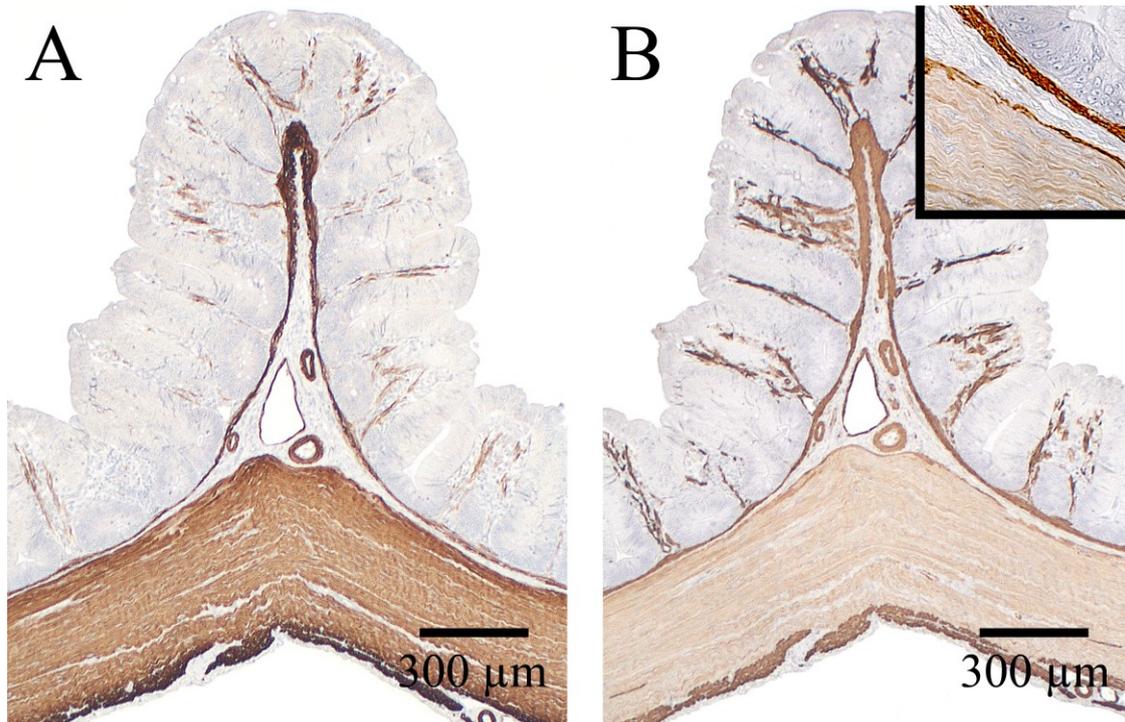
**Abb. 19:** Falten des Blindarmkörpers (A) und der Blinddarmspitze (B). Epithel durch Krypten „unterbrochen“. Im Bereich der Falten deutlich verbreiterte *Tela submucosa* mit großen Gefäßen. 1. Lebenstag, HE-Färbung.

## 4.4 Immunhistochemie

### $\alpha$ - und $\gamma$ -SMA

In allen Abschnitten und Altersstufen des Caecums ist eine sehr kräftig ausgeprägte *Lamina muscularis mucosae* sowohl mit  $\alpha$ -, als auch  $\gamma$ -SMA-Antikörpern nachweisbar. Hierbei sind mehrere Muskellagen sowie quer und längs angeschnittene Muskelfasern zu beobachten. Weiter gibt die *Lamina muscularis mucosae* relativ starke Muskelzüge bis weit in die Zottenspitze der Blinddarmbasis ab. Im Blinddarmkörper und der Blinddarmspitze sind feine Muskelzüge zu beobachten, die in zwischen den Krypten gelegene Anteile der *Lamina propria mucosae* ziehen (Abb. 20). Neben der *Lamina muscularis mucosae* können auch glatte Muskelzellen der Blutgefäße eindeutig sowohl  $\alpha$ -, als auch  $\gamma$ -SMA positiv markiert werden. Diese Beobachtung trifft sowohl für die subepithelial in der *Lamina propria mucosae* gelegenen Gefäße, als auch für die größeren Gefäße der *Tela submucosa* zu.

Die *Tunica muscularis* zeigt in allen Altersstufen und Abschnitten eine uneinheitliche Verteilung des  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Aktins. Hier sind sowohl die innere Kreis- als auch die äußere Längsmuskelschicht stark  $\gamma$ -SMA positiv. Demgegenüber weist der anti  $\alpha$ -SMA-Antikörper zwar eine starke Reaktion mit der äußeren Längsmuskelschicht auf, jedoch eine deutlich schwächere für die innere Kreismuskelschicht. Eine Besonderheit stellt hierbei jedoch eine sehr dünne Schicht der innersten Kreismuskulatur dar, die ebenfalls stark  $\alpha$ -SMA positiv markiert ist (Abb. 20).



**Abb. 20:** Immunhistochemischer Nachweis von  $\gamma$ -SMA (**A**) und  $\alpha$ -SMA (**B**) im Blinddarmkörper. Während alle Muskelanteile  $\gamma$ -SMA positiv markiert sind (**A**), ist die zirkuläre Schicht der *Tunica muscularis* mit Ausnahme eines dünnen Anteils ihrer innersten Schicht (Insert) deutlich geringer  $\alpha$ -SMA positiv markiert (**B**). 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

### PCNA

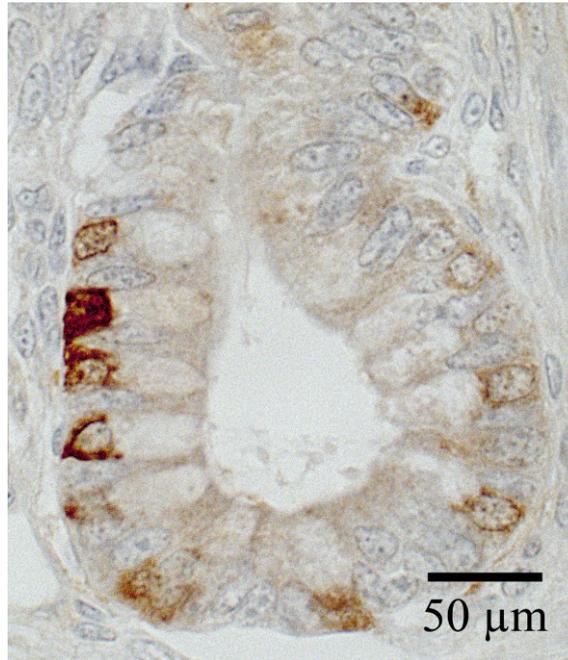
Mit Hilfe des PCNA-Antikörpers lassen sich mitotisch aktive Zellen markieren. Im *Caecum* des Huhnes sind so in der Blinddarmbasis in allen Altersstufen nahezu im gesamten Kryptenbereich teilungsaktive Zellen nachweisbar. Im Verlauf der Krypte nimmt die Mitoseaktivität jedoch ab, so dass kurz vor Erreichen des Lumens keine Zellteilungen mehr zu beobachten sind (Abb. 21). In den zottenlosen Abschnitten *Corpus* und *Apex* sind nur am Kryptenboden PCNA positive Zellen zu finden. Im Bereich der Caecaltonsille zeigen einzelne Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae* bereits am ersten Lebenstag eine positive Markierung, die mit der Größenzunahme der *Tonsilla caecalis* in den anderen Altersstufen noch zunimmt. Erst bei adulten Hühnern ist ein Nachlassen der Teilungsaktivität festzustellen. Auch andere unspezifisch begrenzte Lymphozytenansammlungen im Blinddarmkörper und in der Blinddarmspitze weisen eine mit den Lymphozyten der Caecaltonsille vergleichbare Teilungsaktivität auf.



**Abb. 21:** Nahezu die gesamte Krypte im Bereich der Blinddarmbasis zeigt proliferierende, PCNA positive Zellen. Insert: einzelne Krypte mit PCNA positiv markierten Zellen. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

### MUC 1

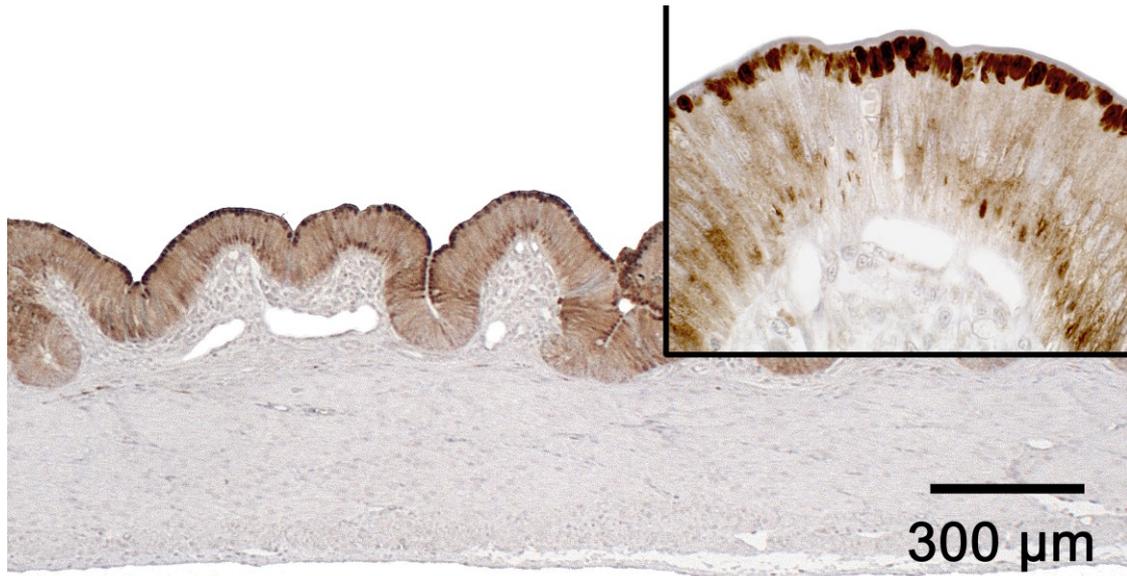
Durch den Einsatz eines polyklonalen Antikörpers aus dem Kaninchen war es möglich MUC1-Protein synthetisierende Zellen im Epithel des Caecums nachzuweisen. Bei diesen Zellen handelt es sich um Becherzellen, deren basaler Anteil und nicht die kelchartige Erweiterung stark angefärbt ist (Abb. 22). Da nicht alle Becherzellen positiv markiert sind, ergibt sich ein charakteristisches Verteilungsmuster. So lassen sich im Kryptenboden und der unteren Hälfte der Zotten der Blinddarmbasis zahlreiche MUC1 positive Becherzellen beobachten. Im Blinddarmkörper und der Blinddarmspitze sind positive Becherzellen ausschließlich in tiefen Kryptenbereichen zu finden, wobei es große Unterschiede hinsichtlich der einzelnen Altersstufen in der Anzahl der markierten Becherzellen gibt. So zeigen der Blinddarmkörper und die Blinddarmspitze des ersten und dritten Lebenstages ebenso wie die dritte Lebenswoche und die adulten Tiere nur sehr vereinzelt positive Becherzellen. Demgegenüber sind in diesen Bereichen in der ersten und zweiten Lebenswoche zahlreiche MUC1 positive Becherzellen nachweisbar.



**Abb. 22:** MUC1 positiv markierte Becherzellen im Kryptenepithel der Blinddarmbasis. Nur basale Zellanteile werden angefärbt. 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

### MUC2

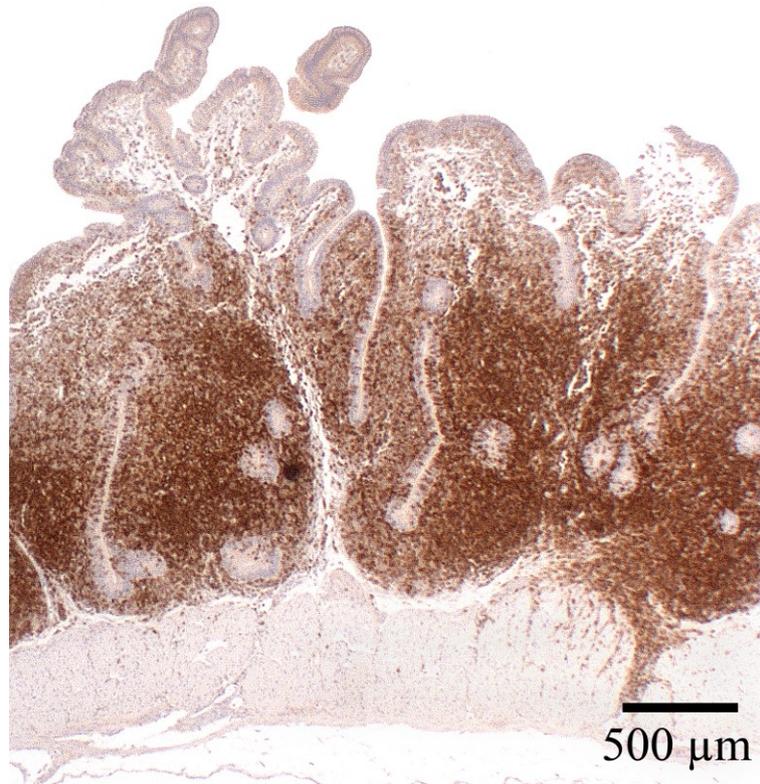
In den Altersstufen erster und dritter Lebenstag sind in der Blinddarmbasis keine immunhistochemisch MUC2 positiv markierten Zellen zu beobachten. Erst von der ersten Lebenswoche an können hier MUC2-Protein sezernierende Enterozyten nachgewiesen werden. Demgegenüber lässt sich in den Abschnitten *Corpus* und *Apex* in allen Altersstufen eine MUC2 positive Reaktion beobachten. In der Blinddarmbasis zeigt sich, dass die Kryptenzellen negativ sind und die Zellen erst entlang der Zottenachse zunehmend MUC2 exprimieren und schließlich an der Zottenspitze am stärksten markiert sind. Auch im Blinddarmkörper und in der Blinddarmspitze sind basale Kryptenanteile wenig bis kaum angefärbt, die Intensität der Färbung nimmt jedoch mit zunehmendem Erreichen des Lumens zu. Die Enterozyten besitzen insbesondere am apikalen Zellpol durch den Antikörper stark positiv markierte intrazytoplasmatische Einschlüsse (Abb. 23).



**Abb. 23:** MUC2 positiv markierte Enterozyten in der Blinddarmspitze. Insert: Stark positive Reaktionen von vesikelähnlichen Strukturen direkt unterhalb der luminalen Zelloberfläche. 2. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.

#### CD45

Mit Hilfe des gegen CD45 gerichteten Antikörpers sind Lymphozyten in der Caecaltonsille bereits am ersten Lebenstag nachweisbar (Abb. 24). Mit fortschreitendem Alter nimmt die absolute Anzahl der Lymphozyten ebenso wie die Dicke der *Lamina propria mucosae* im Bereich der Caecaltonsille deutlich zu. Einige wenige CD45 positive Zellen sind bereits am ersten Lebenstag auch im Epithel zu beobachten. Ihre Zahl wird auch hier mit fortschreitendem Alter stetig größer. Neben den CD45 positiv markierten Zellen der Caecaltonsille lassen sich auch außerhalb davon Lymphozyten in der übrigen Blinddarmbasis und den beiden distalen Abschnitten nachweisen. Ihre Anzahl ist dort aber deutlich geringer, so dass nur wenige, verstreute Zellen in der *Lamina propria mucosae* und teilweise auch im Epithel zu finden sind. In einzelnen Bereichen der beiden distalen Abschnitte sind ab der ersten Lebenswoche auch Anhäufungen von Lymphozyten zu beobachten, ohne jedoch die *Lamina propria mucosae* deutlich zu verbreitern. Ab der zweiten Lebenswoche können hier ebenfalls einzelne Lymphfollikel beobachtet werden, die von dem übrigen Gewebe durch eine dünne Lage aus Bindegewebe getrennt sind.

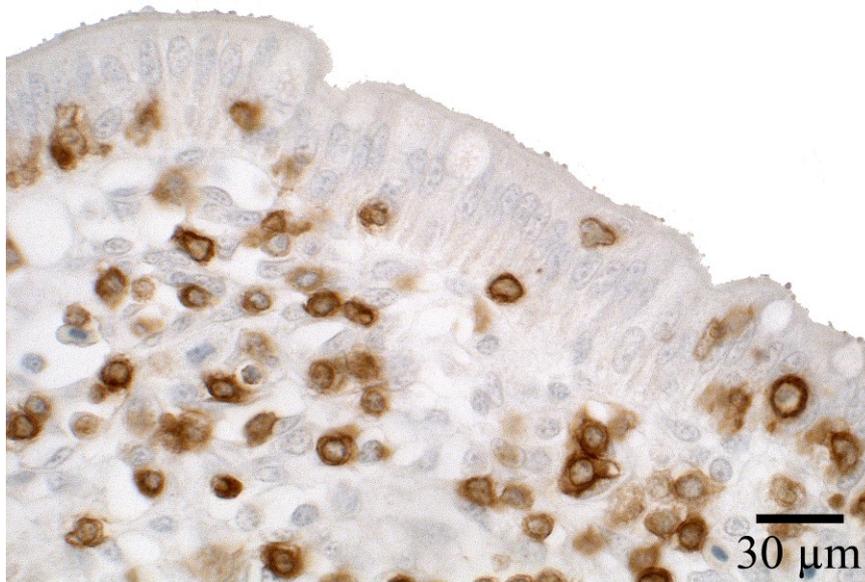


**Abb. 24:** Zahlreiche CD45 positiv markierte Lymphozyten in der Caecaltonsille. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

### CD3

Zur Detektion von T-Lymphozyten kam ein gegen CD3 gerichteter Antikörper aus dem Kaninchen zur Anwendung. Immunhistochemisch kann so gezeigt werden, dass die Mehrzahl der CD45 positiv markierten Lymphozyten T-Lymphozyten sind (Tab. 6). Bei der adulten Altersstufe lässt sich weiter beobachten, dass ihre Anzahl im Verhältnis zu den übrigen Immunzellen geringfügig kleiner wird. Neben deutlichen Ansammlungen in der *Lamina propria mucosae* sind T-Lymphozyten auch im Epithel nachweisbar (Abb. 25). Diese entsprechen zahlenmäßig den durch CD45 markierten intraepithelialen Lymphozyten.

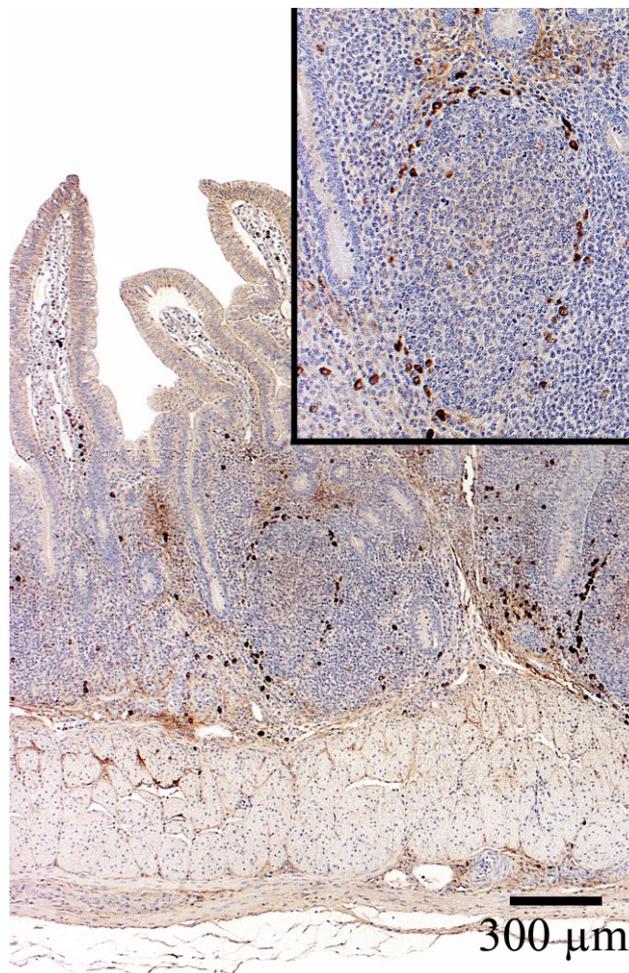
Auch die Lymphozytenansammlungen im Blinddarmkörper und der Blinddarmspitze zeigen ein ähnliches Bild. Dort sind die meisten Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae* sowie vereinzelt auch intraepithelial CD3 positiv markiert.



**Abb. 25:** CD3 positiv markierte T-Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae* und im Epithel der Caecaltonsille. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

L-Kette

Anders als die T-Lymphozyten sind B-Lymphozyten anhand ihrer L-Kette am ersten Lebenstag nicht nachweisbar. Erst ab dem dritten Lebenstag lassen sich vereinzelt positiv markierte B-Lymphozyten im Bereich der Caecaltonsille und des übrigen Caecums beobachten (Tab. 6). Ihre Zahl wird jedoch mit fortschreitendem Alter schnell größer. Dennoch erreicht ihr Anteil bei den adulten Tieren in der Caecaltonsille nur ca. einen Prozentsatz von unter 30 % aller Lymphozyten (Tab. 6). Anders als die T-Lymphozyten können im Epithel keine B-Lymphozyten nachgewiesen werden, wodurch ihre Verteilung auf Areale der *Lamina propria mucosae* beschränkt bleibt (Abb. 26). In den Lymphfollikeln sind B-Lymphozyten meist nur im Randbereich zu finden (Abb. 26).



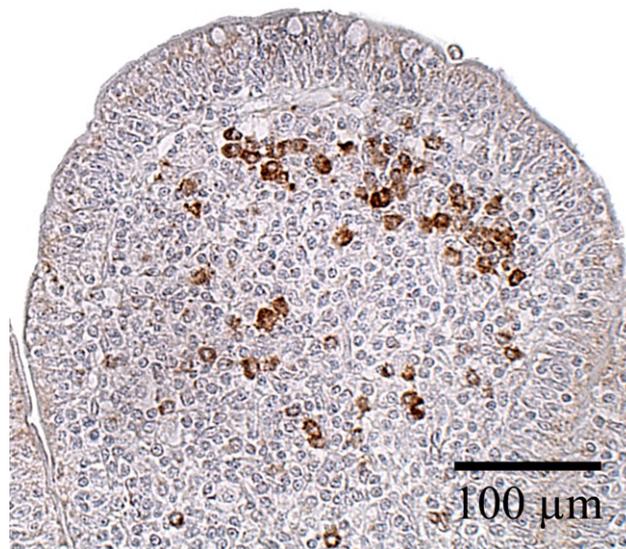
**Abb. 26:** L-Kette positiv markierte B-Lymphozyten im Bereich der Caecaltonsille. Insert: Konzentrische Anordnung von B-Lymphozyten um einen Lymphfollikel. 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

### RP-11

Ab dem dritten Lebenstag können aktivierte Plasmazellen mittels eines Antikörpers gegen plasma cell induced resident endoplasmic reticulum protein (RP-11) nachgewiesen werden. Ihre Zahl ist jedoch mit einem Anteil von deutlich unter 10 % an der Gesamtzahl aller Lymphozyten zu diesem Zeitpunkt sehr gering (Tab. 6). In der weiteren Altersentwicklung nimmt ihre Zahl stetig zu, erreicht jedoch auch bei den adulten Tieren nur ca. 15 % der positiv markierten Lymphozyten.

Bei den detektierten Plasmazellen färbt sich insbesondere das endoplasmatische Retikulum intrazellulär stark an.

Aktivierte Plasmazellen sind stark gehäuft subepithelial in luminalen Abschnitten der Caecaltonsille zu finden, deutlich weniger jedoch in tieferen Bereichen der *Lamina propria mucosae* (Abb. 27). Ebenso wie die B-Lymphozyten sind im Epithel keine RP-11 positiven Zellen zu beobachten. Auch in den Abschnitte *Corpus* und *Apex* können vereinzelt aktivierte Plasmazellen nachgewiesen werden.



**Abb. 27:** RP-11 positiv markierte Plasmazellen an der Zottenspitze im Bereich der Caecaltonsille. Auffallend ist die deutliche subepitheliale Häufung. Adultes Huhn, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.

**Tab. 6:** Übersicht über Anteile der B- und T-Lymphozytensubpopulationen an der Gesamtzahl der Lymphozyten der Caecaltonsille. Dargestellt ist die Anzahl positiv markierter Zellen.

<b>Alter</b>	<b>T-Lymphozyten (CD3)</b>	<b>B-Lymphozyten (L-Kette)</b>	<b>Aktivierte Plasmazellen (RP-11)</b>
<b>1. LT</b>	+++	--	--
<b>3. LT</b>	+++	+-	+-
<b>1. LW</b>	+++	+-	+-
<b>2. LW</b>	+++	+-	+-
<b>3. LW</b>	+++	+-	+-
<b>Adult</b>	++	+	+-
(--: 0 %; + -: <15 %; +: <30 %; ++: <75 %; +++: >75 %)			

## 5 Diskussion

Die sehr langen und paarig vorhandenen Blinddärme beim Huhn stehen im Widerspruch zur Gewichtsreduktion als Anpassungsleistung an das Flugvermögen und werfen daher die Frage nach der Funktion und der Notwendigkeit dieser Darmabschnitte auf.

Ziel dieser Arbeit war es, anhand morphologischer Betrachtungen mittels der Rasterelektronenmikroskopie, der Histologie und der Immunhistochemie die strukturellen Grundlagen der Blinddärme in der postnatalen Entwicklung nachzuverfolgen. Aufgrund der engen Beziehung zwischen Struktur und Funktion soll somit ein Beitrag zum Verständnis der Blinddärme des Huhnes geleistet werden.

In dieser Arbeit konnte im Bereich des Übergangs von *Ileum* zu Rektum mit den beiden ventrolateral abgehenden Blinddärmen eine nach aboral orientierte Schleimhautfalte beobachtet werden. Diese war bereits am ersten Lebenstag und nachfolgend in allen Altersstufen makroskopisch nachweisbar, was bisher nur durch die Untersuchungsergebnisse von Clarke (1978) an Hühnern älter drei Wochen aufgezeigt wurde. Aufgrund der morphologischen Struktur und räumlichen Anordnung dieser Schleimhautfalte ist daher von einem „echten Sphinkter“ auszugehen. Diese Vermutung wird durch den nicht feststellbaren Rücktransport von Darminhalt in das *Ileum* (Hill, 1983) bei der retrograden Füllung der *Caeca* (Akester et al., 1967; Fenna und Boag, 1974) weiter unterstützt.

Der geringe Öffnungsdurchmesser des zottenbesetzten *Ostium caeci* und die langen Zotten der Blinddarmbasis bei ebenfalls geringem Lumen verstärken dabei die Ansicht von Fenna und Boag (1974), dass dieser Anfangsabschnitt eine gewisse Siebfunktion besitzt. Auch die in dieser Arbeit beobachtete dünnbreiige Konsistenz des Blinddarminhaltes, ohne strukturierte Bestandteile, lässt die Aufnahme größerer Nahrungsbestandteile in die Blinddärme als zweifelhaft erscheinen.

Die bei eigenen Untersuchungen festgestellte kontinuierliche Größenzunahme der *Caeca* in der Altersentwicklung entspricht den Beobachtungen aus der Literatur (Kappelhoff, 1959; Baranyiová, 1971). Wobei durchaus eine zusätzliche Beeinflussung durch die Futteraufnahme nachgewiesen werden konnte (Baranyiová, 1971).

Da zwischen der luminalen Oberflächenstruktur des Darmes und seiner absorptiven Oberfläche ein direkter Zusammenhang besteht (Kisielinski et al., 2002), stellen die in dieser Arbeit

beobachteten Zotten in der Blinddarmbasis, wie auch Zottenbildungen des Säugers, eine Oberflächenvergrößerung des Darmes dar. Zusammen mit dem ebenfalls zu beobachtenden dichten Besatz an Mikrovilli ist eine große resorptive Kapazität der Blinddarmbasis anzunehmen, die auch für Zucker, Aminosäuren und leicht flüchtige Fettsäuren in der Blinddarmbasis nachgewiesen werden konnte (Sudo und Duke, 1980; Planas et al., 1986; Vinardell und Lopera, 1987; Moretó und Planas 1989). Histologisch und rasterelektronenmikroskopisch ließen sich Veränderungen hinsichtlich der Zottenform und -höhe bei der Altersentwicklung beobachten. So waren die Zotten der Eintagesküken von fingerförmiger Gestalt, welche jedoch mit fortschreitendem Alter eine Zungen- oder Spatelform annahmen. Die Zottenhöhe in der Blinddarmbasis und auch die Höhe der Leisten oder Falten im Blinddarmkörper und der Blinddarmspitze nahmen mit zunehmendem Alter zu. Ähnliche Ergebnisse konnten auch Hamedi et al. (2013) in der Altersentwicklung des Darmes von Japanwachteln vor und nach der Pubertät bzw. Geschlechtsreife beobachten.

Neben der Altersentwicklung konnten verschiedene Autoren (Bayer et al., 1981; Yamauchi et al., 1996; Shamoto und Yamauchi, 2000) zeigen, dass auch die Fütterung eine große Rolle bei der Ausbildung der Zottenhöhe spielt. So sind bereits nach wenigen Stunden des Hungerns deutlich verkürzte Zotten zu finden. Maiorka et al. (2003) konnten zudem nach einem Futter- und Wasserentzug unmittelbar nach dem Schlupf zusätzlich zu einer Zottenverkürzung eine Zunahme der Zottenanzahl beobachten. Ähnliche Entwicklungen sind auch beim Säuger beschrieben. So werden beim Schwein die Zotten in der Altersentwicklung ebenfalls dicker, gleichzeitig nimmt jedoch anders als beim Huhn die Zottenhöhe ab (Cera et al., 1988; Hall und Byrne, 1989). Als Ursachen für Zottenveränderungen werden beim Schwein neben dem Absetzalter und der Futterzusammensetzung auch die unterschiedliche Ausbildung einer Mikroflora genannt (Cera et al., 1988; Pluske et al., 1997).

Gerade die Ausbildung einer Mikroflora spielt in den Blinddärmen des Huhnes mit seinen fermentativen Abbauvorgängen eine große Rolle. So konnten auch von Barnes (1972) und Mead (1989) in Untersuchungen bei Hühnern eine Vielzahl von Mikroorganismen in den Blinddärmen nachgewiesen werden. Hierbei machen Gram positive anaerobe Kokken gefolgt von Gram negativen *Bacteroidaceae* den größten Anteil aus (Mead, 1989).

Die in den beiden distalen Blinddarmabschnitten *Corpus* und *Apex* gefundene Grundstruktur mit ihren Faltegebilden bestätigen die Beobachtungen von Kappelhoff (1959), Hodges (1974), und Ferrer et al. (1991). Die vielfach vertretene Meinung, dass im Blinddarmkörper und in der Blinddarmspitze Zotten vorhanden seien (Hodges, 1974; Ferrer et al., 1991) ist jedoch nach den

eigenen Untersuchungen strittig. So beobachteten auch Kappelhoff (1959), Witlock et al. (1975) und Dantzer (1989), dass in histologischen Schnitten lediglich aufgrund der Unterbrechung der *Lamina propria mucosae* durch die Lieberkühn'schen Krypten der Eindruck von Zotten entsteht. Eigene rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigten diese Beobachtung. Die damit im Vergleich zur Blinddarmbasis deutlich geringere Oberfläche kann als Ausdruck geringerer resorptiver Kapazität verstanden werden.

Wie bereits von Kappelhoff (1959) angedeutet, müssen diese Faltengebilde, da sie unter Zug fast vollständig verstreichen, als Funktionszustände des Caecums angesehen werden. So ist auch nach eigener Ansicht eine Epithelreserve für auftretende Dehnung denkbar. Interessant ist hierbei das Auftreten von zusätzlichen Querfalten in der Blinddarmspitze, die zusammen mit den längs verlaufenden Falten ein ballonartiges Ausdehnen ermöglichen. Demgegenüber ist im Blinddarmkörper mit den ausschließlich in Darmlängsrichtung verlaufenden Falten nur eine zirkuläre Vergrößerung des Durchmessers realisierbar. Durch das Fehlen von Falten in der Blinddarmbasis kann dort von nur einer geringen Dehnungsmöglichkeit ausgegangen werden. Auch aufgrund der von King und McLelland (1984) beschriebenen geringen Entleerungsfrequenz der *Caeca* von einmal täglich ist insbesondere für die Blinddarmspitze und in geringerem Maße auch für den Blinddarmkörper eine große Speicherkapazität anzunehmen.

Die von Annison et al. (1968) und von Engelhardt (2010b) beschriebenen mikrobiellen Abbauvorgänge, die Volumenvergrößerung und die lange Verweildauer von Ingesta bis zu 24 Stunden (King und McLelland, 1984) lassen Parallelen zu anderen Fermentationskammern des Magen-Darm-Traktes der Säugetiere erkennen. So sind auch bei Kaninchen, Hamster, Meerschweinchen und Pferd als „Dickdarmverdauung“ entsprechende Abschnitte des Dickdarmes in charakteristischerweise zu Gärkammern umgebaut (von Engelhardt, 2010a).

Auch in der Verteilung proliferierender Zellen ließen sich altersunabhängige Unterschiede zwischen der Blinddarmbasis und den beiden distalen Abschnitten finden. So konnte nahezu in der gesamten Krypte in der Blinddarmbasis eine große Zahl mitotisch aktiver Zellen mittels des immunhistochemischen Nachweises von PCNA markiert werden. Entlang der Zottenachse waren auch bei Eintagesküken, anders als im Dünndarm (Uni et al., 1998), keine PCNA positiv markierten Zellen zu beobachten.

Die Mitoseaktivität in den Abschnitten *Corpus* und *Apex* ist gegenüber der Blinddarmbasis deutlich geringer und nur im Kryptenboden nachzuweisen.

Die große Zahl an mitotisch aktiven Zellen im Kryptenbereich der Blinddarmbasis kann mit der bekannten, sehr hohen Zellerneuerungsrate von 3-4 Tagen (Takeuchi et al., 1998) in

Kombination mit den sehr langen Zotten von bis zu 1400 µm beim adulten Huhn begründet werden. Demgegenüber ist in den Abschnitten *Corpus* und *Apex* aufgrund der fehlenden Zotten und der damit einhergehenden geringeren Oberfläche eine absolut geringere Menge an Zellnachschub nötig und somit auch weniger sich teilende Zellen.

Die zahlreich gefundenen PCNA positiv markierten Lymphozyten im Bereich der Caecaltonsille und in geringerem Umfang auch in den anderen Abschnitten der Blinddärme sind Ausdruck des sich durch den Kontakt mit Antigenen entwickelnden Immunsystems.

Die nach dem Schlupf unmittelbar auftretende Exposition gegenüber Antigenen, auch mit pathogener Potenz aus der Umwelt in Kombination mit der enormen Schleimhautoberfläche des Darmes, machen neben einem wirksamen Schutz durch passive Abwehrmechanismen auch ein sich schnell entwickelndes adaptives Immunsystem nötig (Bar-Shira et al., 2003; Szabó, 2012). Bei der passiven Immunität durch maternale Antikörper spielt insbesondere das im Dotter enthaltene IgG eine wichtige Rolle (Kowalczyk et al., 1985). Eine Aufnahme von Immunglobulinen in das Blut ist jedoch nur für maximal 72 Stunden nach dem Schlupf über eine bestehende Blut-Dottersackverbindung möglich (Noy et al., 1996).

Das sich entwickelnde Immunsystem in den Blinddärmen und hier besonders in der Caecaltonsille als Teil des GALT (Gut associated lymphoid tissue) war Gegenstand eigener Untersuchungen.

So konnte die von Glick et al. (1981) beschriebene und näher charakterisierte Caecaltonsille im ventromedialen Bereich der Blinddarmbasis in allen Altersstufen auch bei eigenen Untersuchungen makroskopisch und mikroskopisch nachgewiesen werden. Wobei sie am ersten Lebenstag nicht die, für spätere Altersstufen charakteristische Gestalt besitzt, sondern eine ungeordnete Lymphozytenansammlung in der *Lamina propria mucosae* und *Tela submucosa* darstellt. Tiefere Krypten mit Aufzweigungen sind in dieser Altersstufe ebenfalls nicht zu beobachten. Diese Beobachtungen entsprechen den Untersuchungsergebnissen von Kappelhoff (1959).

Die in dieser Arbeit als M-Zellen bezeichneten Zellen im follikelassoziierten Epithel der Dome im Bereich der Caecaltonsille zeigten deutlich weniger und niedrigere Mikrovilli als die umgebenden Enterozyten. Diese Ergebnisse bestätigen die Beobachtungen von Kato et al. (1992).

Die bei Haussäugetern vorkommenden M-Zellen im Bereich der Peyer'schen Platten lassen ähnliche, morphologische Eigenschaften wie beim Huhn erkennen. So konnte Zappe (2005) bereits M-Zellen mittels des Rasterelektronen- und Lichtmikroskopes bei Rind und Schwein

nachweisen. Große morphologische Ähnlichkeiten zeigen auch die von Owen et al. (1986) im Bereich der Peyer'schen Platten des Kaninchens beobachteten M-Zellen. Darüberhinaus konnten sie auch den Antigentransport mittels eines Transmissionselektronenmikroskopes darstellen.

Das von Kitagawa et al. (1996) beschriebene und in seinen Untersuchungen bei ca. 25 % aller untersuchter Hühner auftretende apikale Blinddarmdivertikel konnte im Rahmen dieser Arbeit in keiner Altersstufe weder makroskopisch noch mikroskopisch beobachtet werden. Jedoch waren auch außerhalb der Caecaltonsille zahlreiche Immunzellen in den Blinddärmen zu finden. Wie bereits von Kappelhoff (1959) und Hodges (1974) beschrieben, waren so auch in den beiden distalen Blinddarmabschnitten, Lymphfollikel-Bildungen nachweisbar, ohne dass von einer apikalen Divertikelbildung gesprochen werden kann.

Die beobachtete altersabhängige Zunahme lymphatischen Gewebes sowohl in der Caecaltonsille als auch in Blinddarmkörper und Blinddarmspitze bestätigen damit insgesamt die Untersuchungen von Bar-Shira et al. (2003), welche im darmassoziierten Lymphgewebe von Broilern ebenfalls einen Anstieg der Lymphozytenpopulationen in der Altersentwicklung beobachten konnten.

Eigene Untersuchungen mit einem Antikörper gegen die Leichte Kette des membrangebundenen Immunglobulinmoleküls, das als B-Zell-Rezeptor fungiert, zeigten, dass erst ab dem dritten Lebenstag reife, rezeptortragende B-Lymphozyten nachweisbar waren. Demgegenüber waren CD3 positive T-Lymphozyten und CD45 positiv markierte Lymphozyten bereits am ersten Lebenstag zu beobachten. Somit ist zumindest bei nicht allen Immunzellen von einer zeitlich einheitlichen Ausprägung der Oberflächenrezeptoren auszugehen. Auch von Bar-Shira et al. (2003) konnte eine zumindest funktionelle Reifung der Lymphozyten innerhalb der ersten Lebenswoche nachgewiesen werden. Neben einer ausbleibenden aktiven humoralen Immunantwort auf eine Immunisierung am ersten Lebenstag (Mast und Goddeeris, 1999) zeigten auch *in vitro* Untersuchungen von Lowenthal et al. (1994) bei einen Tag alten aviären Immunzellen nach vorangegangener Immunstimulation keine Sekretion von Zytokinen. Erst in der weiteren Entwicklung konnten sie zwischen dem zweiten und vierten Lebenstag eine Immunantwort nachweisen, die mit der ersten Lebenswoche das gleiche Niveau wie beim adulten Tier erreichte.

Bei eigenen Untersuchungen ließen sich sowohl in der *Tonsilla caecalis* als auch in den übrigen Blinddarmabschnitten in der *Lamina propria mucosae* altersabhängig B-Lymphozyten nachweisen. Beobachtungen von Bienenstock et al. (1973) und Jeurissen et al. (1989) bestätigen diese Ergebnisse. Darüberhinaus war es ihnen möglich, die B-Lymphozyten in weitere

Subpopulationen zu klassifizieren und teil zu quantifizieren. So zeigten ihre Untersuchungen, dass die Caecaltonsille primär IgG positive Zellen enthält, gefolgt von IgM positiven und nur sehr wenigen IgA positiven Lymphozyten.

In dieser Arbeit waren T-Lymphozyten im *Caecum* sowohl intraepithelial als auch in der *Lamina propria mucosae* und darüberhinaus im Bereich der Caecaltonsille auch in der *Tela submucosa* nachweisbar. Diese Beobachtungen entsprechen den Untersuchungsergebnissen von Gómez Del Moral et al. (1998), die bei ihrer Forschungsarbeit weiter feststellen konnten, dass die im Epithel liegenden T-Lymphozyten ausschließlich vom  $\gamma\delta$ -Rezeptortyp oder NK-Zellen waren, wohingegen T-Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae* und *Tela submucosa* den  $\alpha\beta$ -Rezeptortyp tragen.

Durch die oberflächennahe Lage der intraepithelialen T-Lymphozyten sind diese in besonderer Weise an der frühzeitigen Abwehr antigener Strukturen beteiligt, bevor diese die Epithelbarriere und Basalmembran durchbrechen können.

So zeigen Untersuchungen von Ismail et al. (2011), dass gerade die intraepithelialen T-Lymphozyten vom  $\gamma\delta$ -Rezeptortyp an der Homöostase der Darmflora beteiligt sind und in der Frühphase einer bakteriellen Exposition eine wichtige Rolle spielen. Boismenu und Havran (1994) berichten weiter, dass aktivierte  $\gamma\delta$  T-Lymphozyten das epitheliale Mitogen KGF (Keratinocyte growth factor) exprimieren und so an der Reparatur beschädigten Epithels beteiligt sind.

Erstmal konnten im Rahmen dieser Arbeit aktivierte Plasmazellen im *Caecum* des Huhnes mit einem RP-11 Antikörper nachgewiesen werden. Diese waren, ebenso wie die B-Lymphozyten, jedoch erst ab dem dritten Lebenstag zu beobachten. In allen Blinddarmabschnitten konnte eine deutliche subepitheliale Häufung der Plasmazellen festgestellt werden, was auch Thorbecke et al. (1957) mit histologischen Standardverfahren möglich war. Weiter konnten sie in ihren Untersuchungen beobachten, dass in keimfrei gehaltenen Tieren die Menge an Plasmazellen deutlich geringer ist und sich auch deutlich weniger Lymphaggregate bilden. Dies lässt den Rückschluss zu, dass die Entwicklung des Immunsystems und besonders der Plasmazellen vom Kontakt mit Antigenen als exogenem Stimulus abhängig ist. In Korrelation zu einer längeren Lebenszeit und damit einer längeren und vielfältigeren Auseinandersetzung des Caecumepithels mit Antigenen ist eine Zunahme der Plasmazellen und auch der übrigen Lymphozyten zu erklären. Weiter scheinen die aktivierten Plasmazellen mit ihrer Immunglobulinproduktion aufgrund ihrer subepithelialen Häufung eine wichtige Rolle als spezifische Verteidigungslinie gegen eindringende Antigene zu spielen.

Gerade in Darmabschnitten mit einer geringen Passagezeit, die damit einem erhöhten Keimdruck ausgesetzt sind, bzw. sogar Kommensalen als Fermentationskammer dienen, ist eine wirksame, ständige und spezifische Immunpräsenz äußerst wichtig. Neben dem geschlossenen Epithel (Mabbot et al., 2013) besitzt das Huhn noch weitere weitgehend unspezifische, passive Abwehrmechanismen, zu welchen auch die in der Schleimschicht enthaltenen und von Zellen der Darmmukosa gebildeten Mucine zählen (Kim und Ho, 2010). Der in vorliegender Arbeit erstmalig erfolgte immunhistochemische Nachweis von MUC2-Proteinen im *Caecum* des Huhnes deckt sich allgemein mit den Ergebnissen von Smirnov et al. (2006), Aliakbarpour et al. (2012) und Jiang et al. (2013), die die Expression von MUC2 bereits mit molekularbiologischen Methoden im Hühnerdarm nachweisen konnten. Als MUC2 sezernierende Zellen werden sowohl im Dünndarm des Huhnes als auch im Darm anderer Spezies die Becherzellen beschrieben (Gum et al., 1999; Makkink et al., 2002; Smirnov et al., 2006; Aliakbarpour et al., 2012). In dieser Arbeit konnten in den Blinddärmen des Huhnes jedoch ausschließlich Enterozyten immunhistochemisch MUC2 positiv markiert werden. Dies jedoch in einer altersabhängigen Entwicklung. In der Blinddarmbasis war das MUC2 Protein erst ab der ersten Lebenswoche nachweisbar, wohingegen es in den beiden distalen Blinddarmabschnitten bereits am ersten Lebenstag und nachfolgend in allen Altersstufen zu finden war. Die charakteristische Verteilung sowohl in der Altersentwicklung als auch im Bezug auf die Lokalisation der MUC2 exprimierenden Zellen lassen einen Zusammenhang mit der Zunahme von Mikroorganismen vermuten. So ist in den beiden distalen Blinddarmabschnitten eine frühere und intensivere Besiedelung mit fermentativen Mikroorganismen anzunehmen als für die Blinddarmbasis mit ihren überwiegend resorptiven Aufgaben. Weiter sind große Ansammlungen von Mikroorganismen eher in Substratnähe zu vermuten, als tief zwischen den Zotten bzw. in den Krypten. Smirnov et al. (2006) konnten ebenfalls eine altersabhängige Expression von MUC2 beim Huhn nachweisen. So stieg die MUC2 mRNA Expression im Dünndarm vom 17. Tag p.i. bis zum 3. Lebenstag an. Weiter konnten Aliakbarpour et al. (2012) auch eine erhöhte Expression von MUC2 nach Gabe von *Bacillus subtilis*- und Buttersäurebakterienprobiotika nachweisen. Auch weitere fütterungsbedingte Veränderungen in der Mucinexpression konnten im Darm des Huhnes gefunden werden (Smirnov et al., 2004; 2006).

Atuma et al. (2001) konnten in Untersuchungen an Ratten zusätzlich eine Zweischichtigkeit des Mukus feststellen. Hierbei zeigte die Arbeit von Johansson et al. (2009), dass beide Schichten hauptsächlich von MUC2 gebildet werden. Zuvor konnten Johansson et al. bereits 2008 beobachten, dass die innere Schicht des Mukus frei von Bakterien ist und diese daher keinen

Kontakt zum darunter liegenden Epithel erhalten. MUC2 übernimmt somit eine wichtige Schutzfunktion für die Darmmukosa. Dies zeigten auch Untersuchungen von Van der Sluis et al. (2006) an MUC2 knockout Mäusen, bei welchen ein signifikant erhöhtes Risiko für die Ausbildung einer Colitis (Van der Sluis et al., 2006), ebenso wie für die Entstehung eines colorektalen Tumors (Kawashima, 2012) zu beobachten war.

Neben der Schutzfunktion der inneren Mukusschicht bildet die äußere Schicht zusätzlich einen Lebensraum für Kommensalen (Johansson et al., 2011), was insbesondere in Darmbereichen mit fermentativen Abbauvorgängen von Bedeutung ist.

Eine MUC1-Expression ist im Hühnerdarm in der Literatur bislang nicht beschrieben. Im Rahmen dieser Arbeit konnte das MUC1-Protein erstmals in Becherzellen der Blinddärme des Huhnes nachgewiesen werden. Bei anderen Spezies ist MUC1 weit verbreitet und wird als membrangebundenes Protein (Hollingsworth und Swanson, 2004; Lang et al., 2006) in Epithelzellen verschiedener Gewebearten wie dem Gastrointestinaltrakt, der Milchdrüse, dem Respirations- sowie Harn- und Reproduktionstrakt exprimiert (Gendler, 2001)

Funktionell dient MUC1 ebenso wie MUC2 als Gleitschicht sowie dem Schutz vor Infektionen (McAuley et al., 2007). MUC1 scheint durch seine Bildung in Becherzellen jedoch anders als beim Säuger nicht membrangebunden zu sein, sondern als aktiv sezerniertes Protein seine Funktion im Darmlumen zu erfüllen. Die Tatsache, dass in dieser Arbeit MUC1-Proteine nur in basalen Anteilen der Becherzellen zu finden waren und nicht in gespeicherter Form in der kelchartigen Erweiterung, ist durch posttranslationale Umbauvorgänge zu erklären, die ein Erkennen der antigenen Strukturen für den Antikörper erschweren.

In dieser Arbeit konnte mit Antikörpern gegen  $\alpha$ - und  $\gamma$ -SMA Antigene eine charakteristische Verteilung von  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Aktin im *Caecum* des Huhnes nachgewiesen werden. Die Schichten *Lamina muscularis mucosae* sowie die longitudinale Schicht der *Tunica muscularis* reagierten hierbei mit beiden Antikörpern positiv. Demgegenüber zeigte die innere, zirkuläre Schicht der *Tunica muscularis* eine stark positive Reaktion mit dem gegen  $\gamma$ -SMA gerichteten Antikörper. Eine Ausnahme stellte hierbei jedoch eine dünne innerste Lage der zirkulären Schicht dar, die stark  $\alpha$ -SMA positiv markiert wurde. Die Ergebnisse eigener Untersuchungen decken sich mit Beobachtungen von Yamamoto et al. (1996), die diese charakteristische Verteilung neben dem *Caecum* auch im übrigen Darm sowie dem *Oesophagus* des Huhnes nachweisen konnten. Fatigati und Murphy konnten bereits 1984 eine gewebe- und nicht speziesspezifische Verteilung der beiden unterschiedlichen Aktinisoformen beobachten. Zugleich konnten Fatigati und Murphy

(1984) sowie Malmqvist und Arner (1990) bei abnehmender  $\alpha$ -Aktinmenge stets eine Zunahme der  $\gamma$ -Aktinmenge feststellen. Bis heute war es jedoch nicht möglich einen direkten Zusammenhang zwischen den einzelnen Aktinisoformen der glatten Muskulatur und ihrer Funktion nachzuweisen. Es gibt jedoch hinsichtlich der Aktinverteilung interessante Einzelbeobachtungen an Hohlorganen, die gewisse Rückschlüsse auf die Funktion erlauben. So kommt es unter dem Einfluss bestimmter Krafrichtungen zu einer Veränderung der Aktinzusammensetzung. Goldman et al. (2003) konnten so in glatten Muskelzellen von Venen eine Abnahme von  $\alpha$ -SMA als Antwort auf mechanische Dehnung finden. Diese ließ sich nur bei einer zirkumferenziellen, nicht jedoch bei einer axial verlaufenden Dehnung beobachten. Auch bei verschiedenen Erkrankungen des Darmes sind bereits Alterationen in der Aktinzusammensetzung beschrieben. So wurde bei Patienten mit CIIP (Chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction) eine Veränderung der Aktinzusammensetzung des Dünndarmes beschrieben (Smith et al., 1992; Knowles et al., 2004). Hier war die zirkuläre Schicht der *Tunica muscularis* mit Ausnahme eines kleinen inneren Anteils ebenfalls  $\alpha$ -SMA negativ. Das Kontrollgewebe zeigte demgegenüber eine durchgehende  $\alpha$ -SMA positive Reaktion. Hier besteht jedoch neben der Möglichkeit, dass die Aktinzusammensetzung durch passive Dehnung als Folge der verringerten Darmmotilität zustande kommt, auch die Möglichkeit, dass eine veränderte Kontraktionsfähigkeit für die Pseudoobstruktion ursächlich ist.

Auch bei zur Ausdehnung befähigten, ballonartigen Hohlorganen lassen sich analoge Veränderungen in der Aktinverteilung nachweisen. So stellten Kim et al. (1994) in der Harnblase eine deutliche Zunahme von  $\gamma$ -SMA als Antwort auf eine obstruktionsinduzierte Harnblasenhypertrophie fest.

Insbesondere aufgrund der bereits angesprochenen strukturellen Gegebenheiten in Blinddarmkörper und Blinddarmspitze mit gut ausgeprägten Reservefalten muss die Aktinverteilung des Caecums vor dem Hintergrund der Dehnung, bzw. der Dehnbarkeit des Gewebes gesehen werden.

Zusammenfassend verdeutlichen die Ergebnisse dieser Arbeit die Sonderstellung der Blinddärme des Huhnes. Erstaunlich ist zum einen ihre große Länge im Verhältnis zur Gesamtdarmlänge, aber auch ihre kraniale Ausrichtung, die eine normale anterograde Füllung unmöglich macht. Anhand morphologischer Strukturen konnte gezeigt werden, dass insbesondere die beiden distalen Blinddarmabschnitte zur Speicherung großer Volumina befähigt sind, was eine lange Verweildauer und somit den intensiven mikrobiellen Aufschluss von komplexen, für das Huhn

sonst unverdaulichen Kohlenhydraten ermöglicht. Die deutlich geringere Fähigkeit zur Ausdehnung der Blinddarmbasis und ihre langen Zotten spiegeln demgegenüber eine große resorptive Kapazität wieder. Die lange Verweildauer in Kombination mit dem mikrobiellen Abbau macht besonders in diesem Darmabschnitt eine wirkungsvolle Immunabwehr nötig. Diese wird zum einen durch spezielle Strukturen, wie der *Tonsilla caecalis* mit einer starken Anhäufung von Immunzellen, als auch durch unspezifische Abwehrmechanismen, wie der Mucinsynthese, realisiert.

## 6 Zusammenfassung

### **Licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie zur postnatalen Entwicklung der Blinddärme des Huhnes (*Gallus domesticus*)**

Ziel dieser Arbeit war es mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie, Histologie und Immunhistochemie den Feinbau der Blinddärme (*Caeca*) des Huhnes in der postnatalen Entwicklung nachzuverfolgen. Hierzu wurden Blinddärme von 46 Tieren der Altersstufen 1. Lebenstag, 3. Lebenstag, 1. Lebenswoche, 2. Lebenswoche, 3. Lebenswoche und adulte Tiere untersucht.

Im Übergangsbereich des Ileums zum Rektum und den hier ventrolateral abgehenden paarigen Blinddärmen konnte eine sich in das Lumen nach aboral vorwölbende Schleimhautfalte nachgewiesen werden, welche die Blinddarmöffnungen teilweise verlegt. Der Übergang in die Blinddärme erfolgte über eine relativ englumige, zottenbesetzte Öffnung (*Ostium caeci*). In der sich anschließenden Blinddarmbasis (*Basis*) ließen sich zahlreiche, eng stehende Zotten beobachten. Demgegenüber waren in den weiter distal liegenden Abschnitten Blinddarmkörper (*Corpus*) und Blinddarmspitze (*Apex*) keine Zotten, sondern zahlenmäßig nicht einheitliche, unter Zug verstreichende Falten nachweisbar. Waren die Zotten des ersten und dritten Lebensstages noch von fingerförmiger Gestalt, so ließen sich ab der ersten Lebenswoche zunehmend spatelförmige Zotten finden. Sowohl die Zotten als auch die Falten zeigten, ebenso wie die Gesamtlänge und der Durchmesser, in der Altersentwicklung eine kontinuierliche Größenzunahme.

PCNA-positive Zellen konnten altersunabhängig in der Blinddarmbasis nahezu in der gesamten Krypte nachgewiesen werden, wohingegen in den beiden distalen, zottenlosen Abschnitten nur Zellen am Kryptenboden eine positive Reaktion zeigten. Diese geringere mitotische Aktivität korrelierte mit der geringeren Oberflächenvergrößerung in den beiden distalen Abschnitten.

Bei weiteren immunhistochemischen Untersuchungen konnte eine charakteristische Verteilung der Aktinisoformen der glatten Muskulatur beobachtet werden. So war die zirkuläre Muskellage der *Tunica muscularis* stark  $\gamma$ -SMA positiv, während hier nur eine schwache Reaktion für  $\alpha$ -SMA zu beobachten war. Eine schmale Schicht des innersten Anteils der zirkulären Schicht war jedoch auch  $\alpha$ -SMA positiv markiert. Die übrigen Muskelschichten reagierten sowohl  $\alpha$ - als auch  $\gamma$ -SMA positiv. Diese charakteristische Aktinverteilung ist, zusammen mit den unter Zug

verstreichenden Reservefalten, vor dem Hintergrund des Dehnungsvermögens der *Caeca* zu sehen.

Bereits am ersten Lebenstag ließ sich die Caecaltonsille als rundliche Erhebung im ersten Drittel der Blinddarmbasis makroskopisch nachweisen. Hier zeigte sich die *Lamina propria mucosae* durch eine starke Infiltration mit Lymphozyten und die Bildung von Lymphfollikeln, die ab der zweiten Lebenswoche auftraten, deutlich verbreitert. Im *Corpus* und im *Apex* konnten ab der zweiten Lebenswoche ebenfalls Lymphfollikelbildungen nachgewiesen werden, ohne jedoch die für die Caecaltonsille charakteristische Menge und Ausprägung an lymphatischem Gewebe zu erreichen. Spezielle immunologische Einrichtungen, wie ein apikales Blinddarmdivertikel, waren somit außerhalb der Caecaltonsille nicht zu finden. Mit einem Panleukozytenmarker gegen CD45 konnte während der Entwicklung sowohl in der Caecaltonsille als auch in den übrigen Blinddarmabschnitten eine starke Zunahme an Lymphozyten nachgewiesen werden. Den größten Teil der Lymphozyten machten hierbei CD3 positive T-Zellen aus, die sowohl in der *Lamina propria mucosae* als auch intraepithelial zu beobachten waren. Reife B-Lymphozyten (L-Kette) und aktivierte Plasmazellen (RP-11) ließen sich erst ab dem dritten Lebenstag nachweisen. Aktivierte Plasmazellen waren dabei deutlich gehäuft in subepithelialer Lage zu beobachten

Durch den Nachweis von Mucinen konnten auch unspezifische, angeborene Mechanismen der Immunabwehr aufgezeigt werden. Erstmals wurde so eine MUC1-Expression im Hühnerdarm nachgewiesen. Diese war in Becherzellen aller Blinddarmabschnitte und Altersstufen zu detektieren. Demgegenüber wurde MUC2 besonders von luminalen Enterozyten sezerniert und war in der Blinddarmbasis erst ab der ersten Lebenswoche nachweisbar. Die beiden distalen Abschnitte *Corpus* und *Apex* hingegen zeigten in allen Altersstufen eine positive MUC2 Expression.

## 7 Summary

### **Light and scanning electron microscopic study on postnatal development of chicken ceca (*Gallus domesticus*)**

The purpose of the present study was to examine the detailed morphology of chicken ceca during postnatal development using scanning electron microscopy, histology and immunohistochemistry. Ceca of 46 chickens ranging in age between one day and adult were studied.

In the transitional area between *ileum* and *rectum* and the ventrolaterally branched off paired ceca, an aboral orientated mucosal membrane fold was found, which was partially overlaying the cecal openings. Access to each cecum was maintained via a narrow villi covered opening (*ostium caeci*). The proximal part of the cecum (*basis*) exhibited numerous densely packed villi. Instead of villi the further distal sections body (*corpus*) and tip (*apex*) were covered by a varying number of folds, which were flattened under tension. The villi were finger-like during the first three days of life and transformed to a more spatula-like appearance after the first week. Both, villi and folds as well as total length and diameter showed a continuous increase in size throughout development.

A test for proliferating cells with PCNA did not reveal any age dependent differences. In the proximal part of the cecum almost the entire crypt epithelium exhibited positive cells, whereas in the two distal, non villous sections only cells at the base of the crypt were tested positive. This lower mitotic activity was correlated with the far smaller enlargement of the internal surface area in the two distal sections.

Further immunohistochemical analyses demonstrated a characteristic distribution of actin isoforms. The circular layer of the *tunica muscularis* was strongly  $\gamma$ -SMA positive, while  $\alpha$ -SMA only gave a weak signal. However, a narrow band within the innermost part of the circular layer was clearly  $\alpha$ -SMA positive. The remaining muscular layers reacted both to  $\alpha$ - and  $\gamma$ -SMA. This characteristic actin distribution in combination with folds in the two distal cecal sections must be seen in the context of stretching capacities.

Cecal tonsil was detectable macroscopically from day one as a round elevation in the first third of the proximal cecum. In this area the *lamina propria mucosae* became significantly larger by a strong infiltration of lymphocytes and lymphoid follicles which could be observed from week

two onwards. Lymphoid follicles were also found in the distal sections, but without reaching the amount and the characteristics of the lymphoid tissue in the cecal tonsil. Thus, no further lymphoid organs, such as an apical cecal diverticulum, were detectable outside the cecal tonsil. With a marker against the leucocyte common antigen (CD45) a strong increase of positive cells could be observed in the cecal tonsil and the other sections of ceca during development. The majority of these lymphocytes were CD3 positive T-lymphocytes, which could be found in the *lamina propria mucosae* as well as intraepithelial. Mature B-lymphocytes (L-chain) and activated plasma cells (RP-11) were not detectable before day three. In this context, activated plasma cells were always seen accumulated in subepithelial regions.

By testing for mucins, it was possible to show also nonspecific, innate immune mechanisms. For the first time MUC1 expression was demonstrated in the gut of chicken. A positive reaction was observed in goblet cells of all age groups and sections of the ceca. In contrast MUC2 was secreted by luminal enterocytes and only detectable in the proximal cecum after seven days. The further distal sections *corpus* and *apex*, on the other hand, showed MUC2 expression throughout development.

## 8 Verzeichnisse

### 8.1 Literaturverzeichnis

**Akester A.R., Anderson R.S., Hill K.J., Osbaldiston G.W.** (1967)

A radiographic study of urine flow in the domestic fowl.  
*Br Poult Sci*, **8**(3): 209-212

**Ali H.A., McLelland J.** (1978)

Avian enteric nerve plexuses. A histochemical study.  
*Cell Tissue Res*, **189**(3): 537-548

**Aliahmad P., Pike K.A., Ratcliffe M.J.** (2005)

Cell surface immunoglobulin regulated checkpoints in chicken B cell development.  
*Vet Immunol Immunopathol*, **108**(1-2): 3-9

**Aliakbarpour H.R., Chamani M., Rahimi G., Sadeghi A.A., Qujeq D.** (2012)

The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performances in broilers.  
*Asian Australas J Anim Sci*, **25**(9): 1285-1293

**Andrew A.** (1976)

Intestinal endocrine cells of chicks around the time of hatching.  
*Cell Tissue Res*, **172**(4): 541-551

**Annison E.F., Hill K.J., Kenworthy R.** (1968)

Volatile fatty acids in the digestive tract of the fowl.  
*Br J Nutr*, **22**(2): 207-216

**Araki K., Nagata K.** (2011)

Protein folding and quality control in the ER.  
*Cold Spring Harb Perspect Biol*, **3**(11): a007526

**Atuma C., Strugula V., Allen A., Holm L.** (2001)

The adherent gastrointestinal mucus gel layer: thickness and physical state in vivo.  
*Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **280**(5): G922-G929

**Baranyiová E.** (1971)

Influence of deutectomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching.  
*Acta Vet Brno*, **41**: 373-384

**Bar-Shira E., Sklan D., Friedman A. (2003)**

Establishment of immune competence in the avian GALT during the immediate post-hatch period.

*Dev Comp Immunol*, **27**(2): 147-157

**Barnes E.M. (1972)**

The avian intestinal flora with particular reference to the possible ecological significance of the cecal anaerobic bacteria.

*Am J Clin Nutr*, **25**(12): 1475-1479

**Baumel J.J. (1993)**

Systema cardiovasculare.

In: Baumel J.J., King A.S., Breazile J.E., Evans H.E., Vanden Berge J.C. (Hrsg.): Handbook of avian anatomy - Nomina Anatomica Avium.

2. Auflage, Nuttal Ornithological Club, Cambridge, Massachusetts: 407-475

**Bayer R.C., Rittenburg J.H., Bird F.H., Chawan C.B., Allen M. (1981)**

Influence of short term fasting on chicken alimentary canal mucosa.

*Poult Sci*, **60**(6): 1293-1302

**Benham A.M. (2012)**

Protein secretion and the endoplasmic reticulum.

*Cold Spring Harb Perspect Biol*, **4**(8): a012872

**Berens von Rautenfeld D. (1993)**

Systema lymphaticum et splen.

In: Baumel J.J., King A.S., Breazile J.E., Evans H.E., Vanden Berge J.C. (Hrsg.): Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium.

2. Auflage, Nuttal Ornithological Club, Cambridge, Massachusetts: 477-491

**Bergner H., Ketz H.A. (1969)**

Verdauung, Resorption, Intermediärstoffwechsel bei landwirtschaftlichen Nutztieren.

*VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin*

**Bhalla D.K., Owen R.L. (1982)**

Cell renewal and migration in lymphoid follicles of Peyer's patches and cecum – an autoradiographic study in mice.

*Gastroenterology*, **82**(2): 232-242

**Bienenstock J., Gauldie J., Perey D.Y. (1973)**

Synthesis of IgG, IgA, IgM by chicken tissues: Immunofluorescent and <sup>14</sup>C amino acid incorporation studies.

*J Immunol*, **111**(4): 1112-1118

**Björnhag G. (1989)**

Transport of water and food particles through the avian ceca and colon.

*J Exp Zool Suppl*, **3**: 32-37

- Boismenu R., Havran W.L.** (1994)  
Modulation of epithelial cell growth by intraepithelial gamma delta T cells.  
*Science*, **266**(5188): 1253-1255
- Braun E.J., Campbell C.E.** (1989)  
Uric acid decomposition in the lower gastrointestinal tract.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 70-74
- Bravo R., Celis J.E.** (1980)  
A search for differential polypeptide synthesis throughout the cell cycle of HeLa cells.  
*J Cell Biol*, **84**(3): 795-802
- Bravo R., Macdonald-Bravo H.** (1985)  
Changes in the nuclear distribution of cyclin (PCNA) but not its synthesis depend on DNA replication.  
*EMBO J*, **4**(3): 655-661
- Budras K.-D., König H.E., Korbel R.** (2009)  
Immunsystem und lymphatische Organe (Organa lymphopoetica).  
In: König H.E., Korbel R., Liebich H.-G.(Hrsg.): Anatomie der Vögel.  
2. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart: 191-198
- Burgess D.R.** (1975)  
Morphogenesis of intestinal villi. II. Mechanism of formation of previllous ridges.  
*J Embryol Exp Morphol*, **34**(3): 723-740
- Burns R.B.** (1982)  
Histology and immunology of Peyer's patches in the domestic fowl (*Gallus domesticus*).  
*Res Vet Sci*, **32**(3): 359-367
- Bye W.A., Allan C.H., Trier J.S.** (1984)  
Structure, distribution, and origin of M cells in Peyer's patches of mouse ileum.  
*Gastroenterology*, **86**(5 Pt 1): 789-801
- Calhoun M.L.** (1954)  
Microscopic anatomy of the digestive system of the chicken.  
*Iowa State College Press, Ames, Iowa*
- Call M.E., Pyrdol J., Wucherpfennig K.W.** (2004)  
Stoichiometry of the T-cell receptor-CD3 complex and key intermediates assembled in the endoplasmic reticulum.  
*EMBO J*, **23**(12): 2348-2357
- Carlander D., Stålberg J., Larsson A.** (1999)  
Chicken antibodies: a clinical chemistry perspective.  
*Ups J Med Sci*, **104**(3): 179-189

- Carson G.R., Kuestner R.E., Ahmed A., Petty C.L., Concino M.F.** (1991)  
Six chains of the human T cell antigen receptor CD3 complex are necessary and sufficient for processing the receptor heterodimer to the cell surface.  
*J Biol Chem*, **266**(12): 7883-7887
- Cera K.R., Mahan D.C., Cross R.F., Reinhart G.A., Whitmoyer R.E.** (1988)  
Effect of age, weaning and postweaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine.  
*J Anim Sci*, **66**(2): 574-584
- Černý H.** (1993)  
Verdauungssystem.  
In: Salomon, F.-V. (Hrsg.): Lehrbuch der Geflügelanatomie.  
1. Auflage, *Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart*: 131-159
- Chang K.S., Zimmer W.E. Jr., Bergsma D.J., Dodgson J.B., Schwartz R.J.** (1984)  
Isolation and characterization of six different chicken actin genes.  
*Mol Cell Biol*, **4**(11): 2498-2508
- Chodnik K.S.** (1947)  
A cytological study of the alimentary tract of the domestic fowl, *Gallus domesticus*.  
*Q J Microsc Sci*, **88**(Pt 4): 419-443
- Chuai M., Hughes D., Weijer C.J.** (2012)  
Collective epithelial and mesenchymal cell migration during gastrulation.  
*Curr Genomics*, **13**(4): 267-277
- Clarke P.L.** (1978)  
The structure of the ileo-caeco-colic junction of the domestic fowl (*Gallus gallus* L.).  
*Br Poult Sci*, **19**(5): 595-600
- Clench M.H., Mathias J.R.** (1996)  
Myoelectric activity of the cecum in fed and fasted domestic fowl (*Gallus* sp.).  
*Comp Biochem Physiol A Physiol*, **115**(3): 253-257
- Clevers H.** (2013)  
The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment.  
*Cell*, **154**(2): 274-284
- Coulombre A.J., Coulombre J.L.** (1958)  
Intestinal Development. I. Morphogenesis of the villi and musculature.  
*J Embryol Exp Morphol*, **6**(3): 403-411
- Dahlke M.H., Larsen S.R., Rasko J.E., Schlitt H.J.** (2004)  
The biology of CD45 and its use as a therapeutic target.  
*Leuk Lymphoma*, **45**(2): 229-236
- Dantzer, V.** (1989)  
Ultrastructural differences between the two major components of chicken ceca.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 21-31
-

**Dave V.P., Cao Z., Browne C., Alarcon B., Fernandez-Miguel G., Lafaille J., de la Hera A., Tonegawa S., Kappes D.J.** (1997)

CD3 delta deficiency arrests development of the alpha beta but not the gamma delta T cell lineage.

*EMBO J*, **16**(6): 1360-1370

**Dekker J., Rossen J.W., Büller H.A., Einerhand A.W.** (2002)

The MUC family: an obituary.

*Trends Biochem Sci*, **27**(3): 126-131

**Del Cacho E., Gallego M., Lillehoj H.S., López-Bernard F., Sánchez-Acedo C.** (2009)

Avian follicular and interdigitating dendritic cells: isolation and morphologic, phenotypic, and functional analyses.

*Vet Immunol Immunopathol*, **129**(1-2): 66-75

**Denbow D.M.** (2000)

Gastrointestinal anatomy and physiology.

In: Whittow G.C. (Hrsg.): *Sturkie's Avian Physiology*.

5. Auflage, *Academic Press, London*: 299-325

**Deplancke B., Gaskins H.R.** (2001)

Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer.

*Am J Clin Nutr*, **73**(6): 1131S-1141S

**Engelhardt W. von** (2010a)

Vergleichende Aspekte der Vormagen- und Dickdarmverdauung.

In: Engelhardt W. von (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*.

3. Auflage, *Enke Verlag, Stuttgart*: 443-446

**Engelhardt W. von** (2010b)

Besonderheiten der Verdauung bei Vögeln.

In: Engelhardt W. von (Hrsg.): *Physiologie der Haustiere*.

3. Auflage, *Enke Verlag, Stuttgart*: 447-450

**Exley M., Terhorst C., Wileman T.** (1991)

Structure, assembly and intracellular transport of the T cell receptor for antigen.

*Semin Immunol*, **3**(5): 283-297

**Fatigati V., Murphy R.A.** (1984)

Actin and tropomyosin variants in smooth muscles. Dependence on tissue type.

*J Biol Chem*, **259**(23): 14383-14388

**Fenna L., Boag D.A.** (1974)

Filling and emptying of the galliform caecum.

*Can J Zool*, **52**(4): 537-540

**Ferrer R., Planas J.M., Moretó M.** (1986)

Characteristics of the chicken proximal cecum hexose transport system.

*Pflugers Arch*, **407**(1): 100-104

- Ferrer R., Planas J.M., Durfort M., Moretó M.** (1991)  
Morphological study of the caecal epithelium of the chicken (*Gallus gallus domesticus* L.).  
*Br Poult Sci*, **32**(4): 679-691
- Foley J., Ton T., Maronpot R., Butterworth B., Goldsworthy T.L.** (1993)  
Comparison of proliferating cell nuclear antigen to tritiated thymidine as a marker of proliferating hepatocytes in rats.  
*Environ Health Perspect*, **101** Suppl. 5: 199-205
- Forder R.E., Howarth G.S., Tivey D.R., Hughes R.J.** (2007)  
Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry.  
*Poult Sci*, **86**(11): 2396-2403
- Forssner H.** (1907)  
Die angeborenen Darm- und Ösophagus Atresien.  
*Anat Hefte, Abt. 1*, **34**: 1-163
- Forstner J., Taichman N., Kalnins V., Forstner G.** (1973)  
Intestinal goblet cell mucus: isolation and identification by immunofluorescence of a goblet cell glycoprotein.  
*J Cell Sci*, **12**(2): 585-602
- Fuller R., Coates M.E.** (1983)  
Influence of the intestinal microflora on nutrition.  
In: Freeman B.M. (Hrsg.): *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*.  
4. Auflage, *Academic Press, London, New York*: 51-61
- Garrels J.I., Gibson W.** (1976)  
Identification and characterization of multiple forms of actin.  
*Cell*, **9**(4 Pt 2): 793-805
- Gebert A., Rothkötter H.J., Pabst, R.** (1996)  
M cells in Peyer's patches of the intestine.  
*Int Rev Cytol*, **167**: 91-159
- Gebert A.** (1997)  
The role of M cells in the protection of mucosal membranes.  
*Histochem Cell Biol*, **108**(6): 455-470.
- Gendler S.J.** (2001)  
MUC1, the renaissance molecule.  
*J Mammary Gland Biol Neoplasia*, **6**(3): 339-353
- Geyra A., Uni Z., Sklan D.** (2001)  
Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick.  
*Poult Sci*, **80**(6): 776-782

**Giorno, R.** (1984)

A comparison of two immunoperoxidase staining methods based on the avidin-biotin interaction.

*Diagn Immunol*, **2**(3): 161-166

**Glick B., Holbrook K.A., Olah I., Perkins W.D., Stinson R.** (1978)

A scanning electron microscope study of the caecal tonsil: the identification of a bacterial attachment to the villi of the caecal tonsil and the possible presence of lymphatics in the caecal tonsil.

*Poult Sci*, **57**(5): 1408-1416

**Glick B., Holbrook K.A., Olah I., Perkins W.D., Stinson R.** (1981)

An electron and light microscope study of the caecal tonsil: the basic unit of the caecal tonsil.

*Dev Comp Immunol*, **5**(1): 95-104

**Goldman J., Zhong L., Liu S.Q.** (2003)

Degradation of alpha-actin filaments in venous smooth muscle cells in response to mechanical stretch.

*Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **284**(5): H1839-H1847

**Gómez Del Moral M., Fonfría A., Varas A., Jiménez E., Moreno J., Zapata A.G.** (1998)

Appearance and development of lymphoid cells in the chicken (*Gallus gallus*) caecal tonsil.

*Anat Rec*, **250**(2): 182-189

**Grabinger S.M.** (2005)

Postnatale Expression von Steroidrezeptoren in Nebenhoden und Akzessorischen Geschlechtsdrüsen des Ebers – eine histologische und immunhistochemische Studie.

*Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München*

**Grey R. D.** (1972)

Morphogenesis of intestinal villi. I. Scanning electron microscopy of the duodenal epithelium of the developing chick embryo.

*J Morphol*, **137**(2): 193-213

**Gum J.R. Jr., Hicks J.W., Gillespie A.M., Carlson E.J., Kömüves L., Karnik S., Hong J.C., Epstein C.J., Kim Y.S.** (1999)

Goblet cell-specific expression mediated by the MUC2 mucin gene promoter in the intestine of transgenic mice.

*Am J Physiol*, **276**(3 Pt 1): G666-G676

**Härtle, S., Magor K.E., Göbel T.W., Davison F., Kaspers B.** (2014)

Structure and evolution of avian immunoglobulins.

In: Schat K.A., Kaspers B., Kaiser P. (Hrsg.): Avian Immunology.

2. Auflage, *Academic Press, London*: 103-120

- Hall L.R., Streuli M., Schlossmann F., Saito H. (1988)**  
Complete exon-intron organization of the human leukocyte common antigen (CD45) gene.  
*J Immunol*, **141**(8): 2781-2787
- Hall G.A., Byrne T.F., (1989)**  
Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets.  
*Res Vet Sci*, **47**(3): 387-392
- Hamed S., Shomali T., Akbarzadeh A. (2013)**  
Prepubertal and pubertal caecal wall histology in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*).  
*Bulg J Vet Med*, **16**(2): 96-101
- Hill K.J. (1983)**  
Physiology of the digestive tract.  
In: Freeman B.M. (Hrsg.): *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*.  
**4. Auflage**, *Academic Press, London, New York*: 31-49
- Hodges R.D. (1974)**  
The digestive system.  
In: Hodges R.D. (Hrsg.): *The histology of the fowl*  
**1. Auflage**, *Academic Press, London, New York*: 35-112
- Hoffmann-Fezer G. (1973)**  
Histologische Untersuchungen an lymphatischen Organen des Huhnes (*Gallus domesticus*) während des ersten Lebensjahres.  
*Z Zellforsch Mikrosk Anat*, **136**(1): 45-58
- Hollingsworth M.A., Swanson B.J. (2004)**  
Mucins in cancer: protection and control of the cell surface.  
*Nat Rev Cancer*, **4**(1): 45-60
- Holmes K.C., Popp D., Gebhard W., Kabsch W. (1990)**  
Atomic model of the actin filament.  
*Nature*, **347**(6288): 44-49
- Holmes K.C., Kabsch W. (1991)**  
Muscle proteins: actin.  
*Curr Opin Struct Biol*, **1**(2): 270-280
- Hoshi H., Mori T. (1973)**  
Identification of the bursa-dependent and thymus-dependent areas in the tonsilla caecalis of chickens.  
*Tohoku J Exp Med*, **111**(4): 309-322
- Hudson L. (1975)**  
Immunoglobulin-bearing lymphocytes of the chicken. I. Heavy chain immunoglobulin commitment and organ distribution.  
*Eur J Immunol*, **5**(10): 694-698
-

- Imondi A.R., Bird F.H. (1966)**  
The turnover of intestinal epithelium in the chick.  
*Poult Sci*, **45**(1): 142-147
- Islam M.N., Khan M.Z., Jahan M.R., Fujinaga R., Yanai A., Kokubu K., Shinoda K. (2012)**  
Histomorphological study on prenatal development of the lymphoid organs of native chickens of Bangladesh.  
*Pak Vet J*, **32**(2): 175-178
- Ismail A.S., Severson K.M., Vaishnava S., Behrendt C.L., Yu X., Benjamin J.L., Ruhn K.A., Hou B., DeFranco A.L., Yarovinsky F., Hooper L.V. (2011)**  
Gammadelta intraepithelial lymphocytes are essential mediators of host-microbial homeostasis at the intestinal mucosal surface.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*, **108**(21): 8743-8748
- Jacob E., Baker S.J., Swaminathan S.P. (1987)**  
'M' cells in the follicle-associated epithelium of the human colon.  
*Histopathology*, **11**(9): 941-952
- Jansen G., Määttänen P., Denisov A.Y., Scarffe L., Schade B., Balghi H., Dejgaard K., Chen L.Y., Muller W.J., Gehring K., Thomas D.Y. (2012)**  
An interaction map of endoplasmic reticulum chaperons and foldases.  
*Mol Cell Proteomics*, **11**(9): 710-23
- Jepson M.A., Clark M.A., Simmons N.L., Hirst B.H. (1993)**  
Epithelial M cells in the rabbit caecal lymphoid patch display distinctive surface characteristics.  
*Histochemistry*, **100**(6): 441-447
- Jeurissen S.H., Janse E.M., Koch G., De Boer G.F. (1989)**  
Postnatal development of mucosa-associated lymphoid tissues in chickens.  
*Cell Tissue Res*, **258**(1): 119-124
- Jeurissen S.H., Wagenaar F., Janse E.M. (1999)**  
Further characterization of M cells in gut-associated lymphoid tissues of the chicken.  
*Poult Sci*, **78**(7): 965-972
- Jiang Z., Applegate T.J., Lossie A.C. (2013)**  
Cloning, annotation and developmental expression of the chicken intestinal MUC2 gene.  
*PLOS ONE*, **8**(1): e53781
- Johansson M.E., Phillipson M., Petersson J., Velcich A., Holm L., Hansson G.C. (2008)**  
The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(39): 15064-15069
- Johansson M.E., Thomsson K.A., Hansson G.C. (2009)**  
Proteomic analyses of the two mucus layers of the colon barrier reveal that their main component, the Muc2 mucin, is strongly bound to the Fcgbp Protein.  
*J Proteome Res*, **8**(7): 3549-3557

- Johansson M.E., Larsson J.M., Hansson G.C. (2011)**  
The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*, **108** Suppl 1: 4659-4665
- Jónsson Z.O., Podust V.N., Podust L.M., Hübscher, U. (1995)**  
Tyrosine 114 is essential for the trimeric structure and the functional activities of human proliferating cell nuclear antigen.  
*EMBO J*, **14**(22): 5745-5751
- Kajiwara E., Shigeta A., Horiuchi H., Matsuda H., Furusawa S. (2003)**  
Development of Peyer's patch and cecal tonsil in gut-associated lymphoid tissues in the chicken embryo.  
*J Vet Med Sci*, **65**(5): 607-614
- Kappelhoff W. (1959)**  
Zum mikroskopischen Bau der Blinddärme des Huhnes (*Gallus domesticus* L.) unter besonderer Berücksichtigung ihrer postembryonalen Entwicklung.  
*Vet Med Diss, Justus-Liebig-Universität Gießen*
- Karasawa Y. (1999)**  
Significant role of the nitrogen recycling system through the ceca occurs in protein-depleted chickens.  
*J Exp Zool*, **283**(4-5): 418-425
- Kato A., Hashimoto Y., Kon Y., Sugimura M. (1992)**  
Are there M cells in the cecal tonsil of chickens ?  
*J Vet Med Sci*, **54**(5): 999-1006
- Kawashima H. (2012)**  
Roles of the gel-forming MUC2 mucin and its O-glycosylation in the protection against colitis and colorectal cancer.  
*Biol Pharm Bull*, **35**(10):1637-1641
- Kersten A. (1912)**  
Die Entwicklung der Blinddärme bei *Gallus domesticus* unter Berücksichtigung der Ausbildung des gesamten Darmkanals.  
*Arch mikrosk Anat*, **79**(1): 114-174
- Kim Y.S., Wang Z., Levin R.M., Chacko S. (1994)**  
Alterations in the expression of the beta-cytoplasmic and the gamma-smooth muscle actins in hypertrophied urinary bladder smooth muscle.  
*Mol Cell Biochem*, **131**(2): 115-124
- Kim Y.S., Ho S.B. (2010)**  
Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress.  
*Curr Gastroenterol Rep*, **12**(5): 319-330

**King A.S., McLelland J.** (1984)

Birds - Their structure and function.  
2. Auflage, *Baillière Tindal, London*

**Kishihara K., Penninger J., Wallace V.A., Kündig T.M., Kawai K., Wakeham A., Timms E., Pfeffer K., Ohashi P.S., Thomas M.L., Furlonger C., Paige C.J., Mak T.W.** (1993)

Normal B lymphocyte development but impaired T cell maturation in CD45-exon6 protein tyrosine phosphatase-deficient mice.  
*Cell*, **74**(1): 143-156

**Kisielinski K., Willis S., Prescher A., Klosterhalfen B., Schumpelick V.** (2002)

A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat.  
*Clin Exp Med*, **2**(3): 131-135

**Kitagawa H., Imagawa T., Uehara M.** (1996)

The apical caecal diverticulum of the chicken identified as a lymphoid organ.  
*J Anat*, **189**(Pt 3): 667-672

**Kitagawa H., Hiratsuka Y., Imagawa T., Uehara M.** (1998)

Distribution of lymphoid tissue in the caecal mucosa of chickens.  
*J Anat*, **192**(Pt 2): 293-298

**Kitagawa H., Hosokawa M., Takeuchi T., Yokoyama T., Imagawa T., Uehara M.** (2003)

The cellular differentiation of M cells from crypt undifferentiated epithelial cells into microvillous epithelial cells in follicle-associated epithelia of chicken cecal tonsils.  
*J Vet Med Sci*, **65**(2): 171-178

**Knowles C.H., Silk D.B., Darzi A., Veress B., Feakins R., Raimundo A.H., Crompton T., Browning E.C., Lindberg G., Martin J.E.** (2004)

Deranged smooth muscle alpha-actin as a biomarker of intestinal pseudo-obstruction: a controlled multinational case series.  
*Gut*, **53**(11): 1583-1589

**König H.E., Hinterseher Chr., Liebich H.-G., Korbelt R.** (2009a)

Verdauungsapparat (Apparatus digestorius).  
In: König H.E., Korbelt R., Liebich H.-G.(Hrsg.): Anatomie der Vögel.  
2. Auflage, *Schattauer Verlag, Stuttgart*: 99-126

**König H.E., Misek I., Liebich H.-G., Korbelt R.** (2009b)

Nervensystem (Systema nervosum).  
In: König H.E., Korbelt R., Liebich H.-G.(Hrsg.): Anatomie der Vögel.  
2. Auflage, *Schattauer Verlag, Stuttgart*: 199-222

**Kong, X.P., Onrust R., O'Donnell M., Kuriyan J.** (1992)

Three-dimensional structure of the  $\beta$  subunit of E. coli DNA polymerase III holoenzyme: a sliding DNA clamp.  
*Cell*, **69**(3): 425-437

- Kowalczyk K., Daiss J., Halpern J., Roth T.F.** (1985)  
Quantitation of maternal-fetal IgG transport in the chicken.  
*Immunology*, **54**(4): 755–762
- Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R.** (2000)  
Epithelial M cells: differentiation and function.  
*Annu Rev Cell Dev Biol*, **16**: 301-332
- Krishna T.S., Kong X.P., Gary S., Burgers P.M., Kuriyan J.** (1994)  
Crystal structure of the eukaryotic DNA polymerase processivity factor PCNA.  
*Cell*, **79**(7): 1233-1243
- Lang T., Hansson G.C., Samuelsson, T.** (2006)  
An inventory of mucin genes in the chicken genome shows that the mucin domain of Muc13 is encoded by multiple exons and that ovomucin is part of a locus of related gel-forming mucins.  
*BMC Genomics*, **7**: 197
- Lee D.J.** (1977)  
Urease activity in the digestive tract of the chick and its role in the utilisation of urea as a source of non-amino nitrogen.  
*Br Poult Sci*, **18**(4): 449-458
- Liebich H.-G.** (2010)  
Verdauungsapparat (Apparatus digestorius).  
In: Liebich H.-G. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel.  
**5. Auflage**, Schattauer Verlag Stuttgart: 191-254
- Lim S.S., Low F.N.** (1977)  
Scanning electron microscopy of the developing alimentary canal in the chick.  
*Am J Anat*, **150**(1): 149-173
- Lowenthal J.W., Connick T.E., McWaters P.G., York J.J.** (1994)  
Development of T cell immune responsiveness in the chicken.  
*Immunol Cell Biol*, **72**(2): 115-122
- Mabbot N.A., Donaldson D.S., Ohno H., Williams I.R., Mahajan A.** (2013)  
Microfold (m) cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium.  
*Mucosal Immunol*, **6**(4): 666-677
- Maga G., Hübscher U.** (2003)  
Proliferating cell nuclear antigen (PCNA): a dancer with many partners.  
*J Cell Sci*, **116**(Pt 15): 3051-3060
- Makkink M.K., Schwerbrock N.M., Mähler M., Boshuizen J.A., Renes I.B., Cornberg M., Hedrich H.J., Einerhand A.W., Büller H.A., Wagner S., Enss M.L., Dekker J.** (2002)  
Fate of goblet cells in experimental colitis.  
*Dig Dis Sci*, **47**(10): 2286-2297

**Malmqvist U., Arner A.** (1990)

Isoform distribution and tissue contents of contractile and cytoskeletal proteins in hypertrophied smooth muscle from rat portal vein.  
*Circ Res*, **66**(3): 832-845.

**Mast J., Goddeeris B.M.** (1999)

Development of immunocompetence of broiler chickens.  
*Vet Immunol Immunopathol*, **70**(3-4): 245-256

**Mathews M.B., Berstein R.M., Franza B.R. Jr., Garrels J.I.** (1984)

Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin.  
*Nature*, **309**(5966): 374-376

**Maumus J.** (1902)

Les caecums des oiseaux.  
*Ann Sci Nat Zool*, **15**: 1-148

**McAuley J.L., Linden S.K., Png C.W., King R.M., Pennington H.L., Gendler S.J., Florin T.H., Hill G.R., Korolik V., McGuckin M.A.** (2007)

MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection.  
*J Clin Invest*, **117**(8): 2313-2324

**McLelland J.** (1989)

Anatomy of the avian caecum.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 2-9

**McLelland J.** (1993)

Apparatus Digestorius [Systema Alimentarium].  
In: Baumel J.J., King A.S., Brezile J.E., Evans H.E., Vanden Berge J.C. (Hrsg.):  
Handbook of avian anatomy: Nomina Anatomica Avium  
**2.** Auflage, *Nuttall Ornithological Club, Cambridge, Massachusetts*: 301-327

**Mead G.C.** (1989)

Microbes of the avian cecum: types present and substrates utilized.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 48-54

**Michael E., Hodges R.D.** (1973)

Structure and histochemistry of the normal intestine of the fowl. I. The mature absorptive cell.  
*Histochem J*, **5**(4): 313-333

**Michel G.** (1995)

Anlage des primitiven Darmes.  
In: Michel, G. (Hrsg.): Vergleichende Embryologie der Haustiere.  
**1.** Auflage, *Gustav Fischer Verlag Jena*: 77-80

**Miyachi K., Fritzler M.J., Tan E.M.** (1978)

Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells.  
*J Immunol*, **121**(6): 2228-2234

- Moretó M., Planas J.M.** (1989)  
Sugar and amino acid transport properties of the chicken ceca.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 111-116
- Mulisch M., Welsch U.** (2010)  
Romeis – Mikroskopische Technik.  
18. Auflage, *Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg*
- Mullins R.D., Kelleher J.F., Pollard T.D.** (1996)  
Actin' like actin ?  
*Trends Cell Biol*, **6**(6): 208-212
- Noy Y., Uni Z., Sklan D.** (1996)  
Routes of yolk utilisation in the newly-hatched chick.  
*Br Poult Sci*, **37**(5): 987-995
- Noy Y., Sklan D.** (1998)  
Yolk utilisation in the newly hatched poult.  
*Br Poult Sci*, **39**(3):446-451
- Obst B.S., Diamond J.M.** (1989)  
Interspecific variation in sugar and amino acid transport by the avian cecum.  
*J Exp Zool Suppl*, **3**: 117-126
- Ohara S., Ishihara K., Hotta K.** (1993)  
Comparative study on rat enteromucins.  
*Comp Biochem Physiol B*, **106**(1): 147-152
- Oláh I., Glick B.** (1984)  
Meckel's diverticulum. I. Extramedullary myelopoiesis in yolk sac of hatched chickens (Gallus domesticus).  
*Anat Rec*, **208**(2): 243-252
- Oláh I., Glick B., Taylor R.L. Jr.** (1984)  
Meckel's diverticulum. II. A novel lymphoepithelial organ in the chicken.  
*Anat Rec*, **208**(2): 253-263
- Owen R.L., Pierce N.F., Apple R.T., Cray W.C. Jr.** (1986)  
M cell transport of *Vibrio cholerae* from intestinal lumen into Peyer's patches: a mechanism for antigen sampling and for microbial transepithelial migration.  
*J Infect Dis*, **153**(6):1108-1118
- Pap K. von** (1933)  
Histomechanische Beiträge zur Entwicklung der Oberfläche und Gewebestruktur des Hühnerdarms.  
*Z Anat Entwicklungsgesch*, **101**(2): 153-167
- Pastor L.M., Ballesta J., Madrid J.F., Perez-Tomas R., Hernandez F.** (1988)  
A histochemical study of the mucins in the digestive tract of the chicken.  
*Acta Histochem*, **83**(1): 91-97
-

**Patten B.M.** (1957)

Development of the chick during the third and fourth days of incubation.

In: Patten, B.M. (Hrsg.): Early embryology of the chick.

4. Auflage, *McGraw-Hill Book Company, Inc.*: 156-212

**Planas J.M., Villá M.C., Ferrer R., Moretó M.** (1986)

Hexose transport by chicken cecum during development.

*Pflugers Arch*, **407**(2): 216-220

**Pluske J.R., Hampson D.J., Williams I.H.** (1997)

Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review.

*Livest Prod Sci*, **51**(1-3): 215-236

**Pohlmeyer I.** (2002)

Lektinhistochemische Untersuchungen am Hinterdarm des Haushuhnes unter besonderer Berücksichtigung ausgewählter immunrelevanter Darmbereiche.

*Vet med Diss, Tierärztliche Hochschule Hannover*

**Poppema S., Lai R., Visser L., Yan X.J.** (1996)

CD45 (leucocyte common antigen) expression in T and B lymphocyte subsets.

*Leuk Lymphoma*, **20**(3-4): 217-222

**Ratcliffe M.J.** (2006)

Antibodies, immunoglobulin genes and the bursa of Fabricius in chicken B cell development.

*Dev Comp Immunol*, **30**(1-2): 101-118

**Ratcliffe M.J., Härtle S.** (2014)

B cells, the bursa of Fabricius and the generation of antibody repertoires.

In: Schat K.A., Kaspers B., Kaiser P. (Hrsg.): Avian Immunology.

2. Auflage, *Academic Press, London*: 65-89

**Reimold, A.M., Iwakoshi N.N., Manis J., Vallabhajosyula P., Szomolanyi-Tsuda E., Gravallesse E.M., Friend D., Grusby M.J., Alt F., Glimcher L.H.** (2001)

Plasma cell differentiation requires the transcription factor XBP-1.

*Nature*, **412**(6844): 300-307

**Rezaian M., Hamed S.** (2007)

Histological study of the caecal tonsil in the cecum of 4-6 months of age white leghorn chicks.

*Am J Anim Vet Sci*, **2**(2): 50-54

**Romanoff A.L.** (1960)

The digestive system.

In: Romanoff A. L. (Hrsg.): The avian embryo. Structural and functional development.

1. Auflage, *The Macmillan Company, New York*: 429-531

- Rottach, E.-M.** (2012)  
Generierung und Charakterisierung neuer Marker für Hühner B-Zellen.  
*Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München*
- Ruberte J., König H.E., Hinterseher Chr., Korbel R.** (2009)  
Organe des Herz-Kreislauf-Systems (Systema cardiovasculare).  
In: König H.E., Korbel R., Liebich H.-G.(Hrsg.): Anatomie der Vögel.  
2. Auflage, *Schattauer Verlag, Stuttgart*: 169-190
- Sabatakou O., Paraskevaku E., Tseleni-Balafouta S., Athanasiadis A., Fasseas C.** (2003)  
Scanning electron microscopic observations of the development of the chicken caecum.  
*J Submicrosc Cytol Pathol*, **35**(4): 423-429
- Salomon F.V.** (1993)  
Kreislaufsystem.  
In: Salomon, F.-V. (Hrsg.): Lehrbuch der Geflügelanatomie.  
1. Auflage, *Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart*: 265-305
- Sasaki T., Sasaki-Irie J., Penninger J.M.** (2001)  
New insights into the transmembrane protein tyrosine phosphatase CD45.  
*Int J Biochem Cell Biol*, **33**(11): 1041-1046
- Schamel W.W., Reth M.,** (2000)  
Monomeric and oligomeric complexes of the B cell antigen receptor.  
*Immunity*, **13**(1): 5-14
- Schnorr B., Kressin M.** (2011)  
Anlage der Primitivorgane und Abfaltung des Embryo.  
In: Schnorr B. , Kressin M. (Hrsg.): Embryologie der Haustiere.  
6. Auflage, *Enke Verlag, Stuttgart*: 62-68
- Seeger J.** (1993)  
Nevensystem.  
In: Salomon, F.-V. (Hrsg.): Lehrbuch der Geflügelanatomie.  
1. Auflage, *Gustav Fischer Verlag, Jena Stuttgart*: 335-371
- Shamoto K., Yamauchi K.** (2000)  
Recovery responses of chick intestinal villus morphology to different refeeding procedures.  
*Poult Sci*, **79**(5): 718-723
- Shimizu Y., Meunier L., Hendershot L.M.** (2009)  
pERp1 is significantly up-regulated during plasma cell differentiation and contributes to the oxidative folding of immunoglobulin.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*, **160**(40): 17013-17018
- Skalli O., Ropraz P., Trzeciak A., Benzonana G., Gillessen D., Gabbiani G.** (1986)  
A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: a new probe for smooth muscle differentiation.  
*J Cell Biol*, **103**(6 Pt 2): 2787-2796
-

**Smirnov A., Sklan D., Uni Z.** (2004)

Mucin dynamics in the chick small intestine are altered by starvation.

*J Nutr*, **134**(4): 736-742

**Smirnov A., Tako E., Perket P.R., Uni Z.** (2006)

Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates.

*Poult Sci*, **85**(4): 669-673

**Smith M.W., Peacock M.A.** (1980)

“M” cell distribution in follicle-associated epithelium of mouse Peyer’s patch.

*Am J Anat*, **159**(2): 167-175

**Smith M.W., Peacock M.A.** (1992)

Microvillus growth and M-cell formation in mouse Peyer’s patch follicle-associated epithelial tissue.

*Exp Physiol*, **77**(2): 389-392

**Smith V.V., Lake B.D., Kamm M.A., Nicholls R.J.** (1992)

Intestinal pseudo-obstruction with deficient smooth muscle alpha-actin.

*Histopathology*, **21**(6): 535-542

**Strong T.R., Reimer P.R., Braun E.J.** (1989)

Avian cecal microanatomy: a morphometric comparison of two species.

*J Exp Zool Suppl*, **3**: 10-20

**Sudo S.Z., Duke G.E.** (1980)

Kinetics of absorption of volatile fatty acids from the ceca of domestic turkeys.

*Comp Biochem Physiol A*, **67**(2): 231-237

**Szabó C.** (2012)

Transport of IgY from egg-yolk to the chicken embryo.

*J Microb Biotech Food Sci*, **2**(3): 612-620

**Takeuchi T., Kitagawa H., Imagawa T., Uehara M.** (1998)

Proliferation and cellular kinetics of villous epithelial cells and M cells in the chicken caecum.

*J Anat*, **193**(Pt 2): 233-239

**Telgen L.H.** (2009)

Antimikrobielle Proteine und Abwehrzellen im weiblichen Genitale beim Schwein – eine histologische und immunhistochemische Studie.

*Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München*

**Thomas D.H., Skadhauge E.** (1989)

Water and electrolyte transport by the avian ceca.

*J Exp Zool Suppl*, **3**: 95-102

**Thomas M.L.** (1994)

The regulation of B- and T-lymphocyte activation by the transmembrane protein tyrosine phosphatase CD45.

*Curr Opin Cell Biol*, **6**(2): 247-252

**Thorbecke G.J., Gordon H.A., Wostman B., Wagner M., Reyniers J.A.** (1957)

Lymphoid tissue and serum gamma globulin in young germfree chickens.

*J Infect Dis*, **101**(3): 237-251

**Tizard I.** (2002)

The avian antibody response.

*Semin Avian Exot Pet*, **11**(1): 2-14

**Uni Z., Platin R., Sklan D.** (1998)

Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus.

*J Comp Physiol B*, **168**(4): 241-247

**Uni Z., Geyra A., Ben-Hur H., Sklan D.** (2000)

Small intestinal development in the young chick: crypt formation and enterocyte proliferation and migration.

*Br Poult Sci*, **41**(5): 544-551

**Uni Z., Smirnov A., Sklan D.** (2003)

Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed.

*Poult Sci*, **82**(2): 320-327

**Van Anken E., Romijn E.P., Maggioni C., Mezghrani A., Sitia R., Braakman I., Heck A.J.** (2003)

Sequential waves of functionally related proteins are expressed when B cells prepare for antibody secretion.

*Immunity*, **18**(2): 243-253

**Van Anken E., Pena F., Hafkemeijer N., Christis C., Romijn E.P., Grauschopf U., Oorschot V.M., Pertel T., Engels S., Ora A., Lástun V., Glockshuber R., Klumperman J., Heck A.J., Luban J., Braakman I.** (2009)

Efficient IgM assembly and secretion require the plasma cell induced endoplasmic reticulum protein pERp1.

*Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**(40): 17019-17024

**Van der Sluis M., De Koning B.A., De Bruijn A.C., Velcich A., Meijerink J.P., Van Goudoever J.B., Büller H.A., Dekker J., Van Seuning I., Renes I.B., Einerhand A.W.** (2006)

Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection.

*Gastroenterology*, **131**(1): 117-129

- Van Klinken B.J., Dekker J., Büller H.A., Einerhand A.W. (1995)**  
Mucin gene structure and expression: protection vs. adhesion.  
*Am J Physiol*, **269**(5 Pt 1): G613-G627
- Vandekerckhove J., Weber K. (1979)**  
The complete amino acid sequence of actins from bovine aorta, bovine heart, bovine fast skeletal muscle and rabbit slow skeletal muscle. A protein-chemical analysis of muscle actin differentiation.  
*Differentiation*, **14**(3): 123-133
- Vervelde L., Jeurissen S.H. (1993)**  
Postnatal development of intra-epithelial leukocytes in the chicken digestive tract: phenotypical characterization in situ.  
*Cell Tissue Res*, **274**(2): 295-301
- Vinardell M.P., Lopera M.T. (1987)**  
Jejunal and cecal 3-oxy-methyl-D-glucose absorption in chicken using a perfusion system in vivo.  
*Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, **86**(4): 625-627
- Vollmerhaus B., Sinowatz F. (2004)**  
Verdauungsapparat.  
In: Vollmerhaus B. (Hrsg.): Nickel R., Schummer A., Seiferle E. – Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Band V: Anatomie der Vögel.  
**9. Auflage, Parey Verlag, Stuttgart: 176-223**
- Wiest, D.L., Burkhardt J.K., Hester S., Hortsch M., Meyer D.I., Argon Y. (1990)**  
Membrane biogenesis during B cell differentiation: most endoplasmic reticulum proteins are expressed coordinately.  
*J Cell Biol*, **110**(5): 1501-1511
- Witlock D.R., Lushbaugh W.B., Danforth H.D., Ruff M.D. (1975)**  
Scanning electron microscopy of the cecal mucosa in *Eimeria-tenella*-infected and uninfected chickens.  
*Avian Dis*, **19**(2): 293-304
- Yamamoto Y., Kubota T., Atoji Y., Suzuki Y. (1996)**  
Distribution of alpha-vascular smooth muscle actin in the smooth muscle cells of the gastrointestinal tract of the chicken.  
*J Anat*, **189**(Pt 3): 623-630
- Yamauchi K., Kamisoyama H., Isshiki Y. (1996)**  
Effects of fasting and refeeding on structures of the intestinal villi and epithelial cells in White Leghorn hens.  
*Br Poult Sci*, **37**(5): 909- 921
- Yasuda M., Tanaka S., Arakawa H., Taura Y., Yokomizo Y., Ekino S. (2002)**  
A comparative study of gut-associated lymphoid tissue in calf and chicken.  
*Anat Rec*, **266**(4): 207-217

**Young H.M.** (1990)

The ultrastructure of the intestinal nerve of Remak in the domestic fowl.  
*Cell Tissue Res*, **260**(3): 601-616

**Zappe H.** (2005)

Rasterelektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchungen zum  
Feinbau des Ileums von Rind und Schwein.  
*Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München*

## 8.2 Abkürzungsverzeichnis

A., Aa.	Arteria, Arteriae
Abb.	Abbildung
ABC	Avidin-Biotin-Peroxidase-Complex
AG	Aktiengesellschaft
AK	Antikörper
Aqua dest.	Aqua destillata (Destilliertes Wasser)
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	zirka
CD	Cluster of differentiation
CIIP	Chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction
cm	Zentimeter
Co.	Company
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CPD	Critical Point Dryer
DAB	Diaminobenzidin
DNA	Deoxyribonucleic acid
et al.	et alii
Fa.	Firma
FAE	Follikelassoziertes Epithel
GAH	Glutardialdehyd
GALT	Gut associated lymphoid tissue
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
HE	Hämatoxilin-Eosin
Hrsg.	Herausgeber
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
Inkl.	Inklusive
kDA	Kilodalton
KGF	Keratinocyte growth factor
L-Kette	Leicht-Kette
LI, Li	Links
LLC	Limited Liability Company
LSAB	Labelled-Streptavidin-Biotin
Ltd.	Limited company
LT	Lebenstag
LW	Lebenswoche
M.	Musculus
mA	Milliampere
M/E	Methanol/Eisessig
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter
µm	Mikrometer

mM	Millimol
mm	Millimeter
mRNA	messenger RNA
MUC	Mucin
MW	Mittelwert
NAA	Nomina Anatomica Avium
N.	Nervus
PBS	Phosphate buffered saline
PC	Personal Computer
PCNA	Proliferating nuclear cell antigen
pH	potentia Hydrogenii
p.i.	post incubationem
RE, Re	Rechts
REM	Rasterelektronenmikroskop
RF-C	Replikationsfaktor C
RNA	Ribonucleic acid
s.	siehe
s.u.	siehe unten
Stabw.	Standardabweichung
SMA	Smooth muscle actin
Tab.	Tabelle
TCR	T-Zell-Rezeptor
V., Vv.	Vena, Venae
u.v.a.	und viele andere

### 8.3 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

#### Abbildungen:

<b>Abb. 1:</b>	Übergang <i>Ileum</i> -Rektum und <i>Caeca</i> eröffnet und aufgespannt. <b>I:</b> <i>Basis</i> , <b>II:</b> <i>Corpus</i> , <b>III:</b> <i>Apex</i> . 3. Lebenswoche, GAH Fixierung.....	36
<b>Abb. 2:</b>	Deutliche Vorwölbung der Caecaltonsille im Anfangsabschnitt der Blinddarmbasis und gut sichtbare, nach aboral orientierte Schleimhautfalte zwischen <i>Ileum</i> und Rektum. 3. Lebenswoche, GAH-Fixierung.....	36
<b>Abb. 3:</b>	Längenzunahme der <i>Caeca</i> in der Altersentwicklung (s.Tab A1). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.....	37
<b>Abb. 4:</b>	<i>Ostium caeci</i> : Zottentragende und in Falten gelegte Oberfläche der sehr engen Caecumöffnung: Zotten teilweise länglich miteinander verwachsen. Adultes Tier, REM-Aufnahme.....	39
<b>Abb. 5:</b>	<i>Basis caeci</i> : Fingerförmige Zotten mit verbreiteter Zottenbasis. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.....	40
<b>Abb. 6:</b>	Spatel- bis zungenförmige Zotten der Blinddarmbasis eines adulten Tieres. REM-Aufnahme.....	40
<b>Abb. 7:</b>	Tief zwischen den eng stehenden Zotten der Blinddarmbasis gelegene, rundliche bis schlitzförmige Kryptenöffnungen. 1. Lebenstag, leicht gedehnte Probe, REM-Aufnahme.....	41
<b>Abb. 8:</b>	Luminale Oberfläche der Enterozyten mit dichtem Mikrovillibesatz und hexagonalen Zellgrenzen. Dazwischen sind unregelmäßig Becherzellöffnungen zu erkennen. Adultes Tier, REM-Aufnahme.....	42
<b>Abb. 9:</b>	Becherzellen in unterschiedlichen Funktionsstadien. <b>A:</b> Tief eingesunkene Becherzellen. <b>B:</b> Sich über die Epitheloberfläche vorwölbende Becherzelle mit gut erkennbaren Mikrovilli. 3. Lebenswoche, REM-Aufnahme.....	43
<b>Abb. 10:</b>	Oberflächenepithel eines Domes im Bereich der <i>Tonsilla caecalis</i> . Neben hexagonalen Enterozyten sind M-Zellen zu erkennen, die mit kürzeren und weniger Mikrovilli besetzt sind. Adultes Huhn, REM-Aufnahme.....	44
<b>Abb. 11:</b>	<i>Corpus caeci</i> : Longitudinal verlaufende Falten mit gut sichtbaren Kryptenöffnungen. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.....	45
<b>Abb. 12:</b>	<i>Apex caeci</i> : Longitudinal und transversal verlaufende Falten bilden ein Netzwerk. 1. Lebenstag, REM-Aufnahme.....	46

<b>Abb. 13:</b>	Deutlich ausgebildete, subepithelial gelegene Kapillarschlingen im Bereich der Zottenspitze sowie große Venen in der <i>Lamina propria mucosae</i> . Starke Muskelzüge der <i>Lamina muscularis mucosae</i> reichen bis weit in die Zottenspitze. Blinddarmbasis, Adultes Huhn, HE-Färbung. ....	49
<b>Abb. 14:</b>	Einzelner Lymphozyt im Bindegewebe der Blinddarmbasis. Adultes Huhn, REM-Aufnahme.....	49
<b>Abb. 15:</b>	Lange, schlanke Zotten und kurze Krypten in der Blinddarmbasis außerhalb der Caecaltonsille. 1. Lebenstag, HE-Färbung. ....	51
<b>Abb. 16:</b>	Längenentwicklung der Zotten in der Blinddarmbasis (s. Tab. A2). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung.....	51
<b>Abb. 17:</b>	Stark verbreiterte <i>Lamina propria mucosae</i> im Bereich der Caecaltonsille. Es sind zahlreiche Lymphozyten und bindegewebig abgegrenzte Lymphfollikel, die bis an die <i>Tunica muscularis</i> reichen, zu sehen. Weiter lassen sich sehr tiefe Krypten mit Primäraufzweigungen beobachten (Insert). ....	53
<b>Abb. 18:</b>	Höhe der Falten in den Abschnitten <i>Corpus</i> und <i>Apex</i> in der altersabhängigen Entwicklung (s. Tab. A3; Tab. A4). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung. ....	54
<b>Abb. 19:</b>	Falten des Blindarmkörpers ( <b>A</b> ) und der Blinddarmspitze ( <b>B</b> ). Epithel durch Krypten „unterbrochen“. Im Bereich der Falten deutlich verbreiterte <i>Tela submucosa</i> mit großen Gefäßen. 1. Lebenstag, HE-Färbung. ....	54
<b>Abb. 20:</b>	Immunhistochemischer Nachweis von $\gamma$ -SMA ( <b>A</b> ) und $\alpha$ -SMA ( <b>B</b> ) im Blinddarmkörper. Während alle Muskelanteile $\gamma$ -SMA positiv markiert sind ( <b>A</b> ), ist die zirkuläre Schicht der <i>Tunica muscularis</i> mit Ausnahme eines dünnen Anteils ihrer innersten Schicht (Insert) deutlich geringer $\alpha$ -SMA positiv markiert ( <b>B</b> ). 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	56
<b>Abb. 21:</b>	Nahezu die gesamte Krypte im Bereich der Blinddarmbasis zeigt proliferierende, PCNA positive Zellen. Insert: einzelne Krypte mit PCNA positiv markierten Zellen. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	57
<b>Abb. 22:</b>	MUC1 positiv markierte Becherzellen im Kryptenepithel der Blinddarmbasis. Nur basale Zellanteile werden angefärbt. 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan. ....	58
<b>Abb. 23:</b>	MUC2 positiv markierte Enterozyten in der Blinddarmspitze. Insert: Stark positive Reaktionen von vesikelähnlichen Strukturen direkt unterhalb der luminalen Zelloberfläche. 2. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	59

**Abb. 24:** Zahlreiche CD45 positiv markierte Lymphozyten in der Caecaltonsille. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....60

**Abb. 25:** CD3 positiv markierte T-Lymphozyten in der *Lamina propria mucosae* und im Epithel der Caecaltonsille. 3. Lebenstag, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....61

**Abb. 26:** L-Kette positiv markierte B-Lymphozyten im Bereich der Caecaltonsille. Insert: Konzentrische Anordnung von B-Lymphozyten um einen Lymphfollikel. 3. Lebenswoche, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....62

**Abb. 27:** RP-11 positiv markierte Plasmazellen an der Zottenspitze im Bereich der Caecaltonsille. Auffallend ist die deutliche subepitheliale Häufung. Adultes Huhn, DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....63

**Tabellen:**

**Tab. 1:** Übersicht über Altersstufen, Geschlecht und Anzahl verwendeter Tiere.....26

**Tab. 2:** Narkosedosierung .....27

**Tab. 3:** Übersicht über die Anzahl untersuchter Tiere und Fixationstechnik .....30

**Tab. 4:** Übersicht über die verwendeten Antikörper (AK) .....31

**Tab. 5:** Semiquantitatives Bewertungsschema für Lymphozytenmarker (Modifiziert nach Telgen, 2009).....34

**Tab. 6:** Übersicht über Anteile der B- und T-Lymphozytensubpopulationen an der Gesamtzahl der Lymphozyten der Caecaltonsille. Dargestellt ist die Anzahl positiv markierter Zellen. ....64

**Tabellen im Anhang:**

**Tab. A 1:** Länge des Caecums der einzelnen Tiere in der Altersentwicklung.....104

**Tab. A 2:** Zottenhöhen der Blinddarmbasis in der Altersentwicklung .....104

**Tab. A 3:** Faltenhöhe des *Corpus* in der Altersentwicklung.....106

**Tab. A 4:** Faltenhöhe des *Apex* in der Altersentwicklung.....107

**Tab. A 5:** Kryptentiefe in der Blinddarmbasis .....109

**Tab. A 6:** Kryptentiefe im Blinddarmkörper .....111

**Tab. A 7:** Kryptentiefe in der Blinddarmspitze .....113

## 9 Anhang

**Tab. A 1:** Länge des Caecums der einzelnen Tiere in der Altersentwicklung

Tier	1. LT		3. LT		1. LW		2. LW		3. LW		Adult	
	Re	Li										
1	3,3	3,1	3,7	3,5	5,3	5,4	6,8	6,7	7,9	7,8	12,6	12,4
2	3,6	3,7	3,9	3,7	4,8	4,7	5,0	5,9	8,6	8,5	14,8	14,5
3	3,2	3,2	4,3	4,1	4,5	4,5	6,3	6,1	7,5	7,4	13,7	14,0
4	2,5	2,6	4,5	4,3	4,1	4,0	5,9	5,8	9,4	9,5	15,2	15,3
5	3,6	3,4	3,3	3,5	4,9	4,7	6,1	6,2	8,5	8,3		
6	3,1	3,1	3,6	3,8	4,4	4,3	5,7	5,7	8,0	8,1		
7	3,0	3,2	3,9	4,1	4,6	4,6	5,5	5,3	9,1	8,9		
8	3,7	3,5	4,1	4,0	5,1	4,9	5,9	5,8	8,7	8,6		
9	2,7	2,9	3,5	3,5								
MW	3,19	3,19	3,87	3,83	4,81	4,64	6,03	5,94	8,46	8,39	14,08	14,05
<b>Gesamt MW</b>	3,19		3,85		4,68		5,98		8,43		14,06	
<b>Stabw.</b>	0,36		0,34		0,39		0,39		0,62		1,11	

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

**Tab. A 2:** Zottenhöhen der Blinddarmbasis in der Altersentwicklung

	1. LT	3. LT	1. LW	2. LW	3. LW	Adult
<i>Caecum 1</i>	431	635	643	898	950	1520
	540	599	852	795	659	1503
	399	639	815	712	863	1080
	402	603	758	893	857	1620
	462	435	846	815	1150	1310
	450	650	852	922	996	1440
	389	626	1020	805	806	1489
	470	591	838	641	950	1230
	355	607	840	873	1030	1190
	347	598	893	725	987	1088
<i>Caecum 2</i>	444	455	754	715	911	1590
	404	680	690	758	891	797

Anhang

	374	498	671	768	530	1010
	487	478	710	690	715	882
	506	625	883	713	917	1430
	456	532	609	812	877	1220
	578	689	466	798	835	1641
	498	443	553	699	912	958
	412	587	889	740	910	1012
	398	479	720	821	1003	896
<i>Caecum 3</i>	443	780	879	930	765	1060
	421	574	893	655	751	1212
	439	828	797	842	914	574
	498	505	815	701	816	955
	362	561	823	897	955	1340
	538	598	612	741	842	1261
	270	612	717	910	891	1650
	568	579	699	919	971	1400
	450	740	724	879	1010	1370
	508	408	791	893	851	1530
<i>Caecum 4</i>	378	411	785	937	792	1370
	466	568	561	701	912	1050
	279	417	691	792	845	717
	392	344	551	814	813	1152
	295	496	543	797	921	1279
	348	579	612	910	897	1283
	367	419	592	931	907	1013
	521	598	614	921	805	981
	537	614	621	811	832	977
309	575	492	829	909	1056	
<i>Caecum 5</i>	549	548	603	788	915	1701
	625	697	798	891	849	1691
	334	715	814	814	812	1532
	378	404	806	912	977	1555
	407	524	851	758	1012	1491
	677	602	801	838	901	1433
	201	235	788	841	845	1201
	359	404	607	791	878	1292
	387	421	711	643	911	1481
421	381	812	799	809	1231	
<i>Caecum 6</i>	511	659	595	648	817	1210
	408	521	690	859	891	1421
	530	292	678	755	912	1657
	240	311	712	912	981	1533
	247	331	881	841	977	1491
	361	399	452	812	951	1513

Anhang

	410	611	717	698	1033	1287
	398	682	688	645	879	1367
	376	511	721	713	923	1421
	402	491	893	881	992	981
<i>Caecum 7</i>	255	779	898	930	935	1021
	602	662	455	635	959	1231
	387	432	719	847	1040	1789
	277	624	612	899	971	1412
	309	591	632	912	843	1771
	543	588	597	743	751	1379
	302	357	713	891	816	1385
	327	422	851	871	971	1321
	411	514	816	691	911	1210
397	419	798	781	812	1051	
<i>Caecum 8</i>	640	709	605	702	781	1620
	591	400	799	815	910	1421
	398	398	537	781	899	1080
	439	718	613	910	909	1413
	502	691	752	773	971	1191
	532	982	691	921	878	1498
	674	651	681	811	975	1533
	447	598	797	797	897	1677
	285	612	591	691	753	1412
389	412	613	699	812	1291	
<b>MW</b>	426,49	549,41	718,78	804,28	890,09	1304,14
<b>Stabw.</b>	102,36	133,62	121,82	86,93	92,84	255,52

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

**Tab. A 3:** Faltenhöhe des *Corpus* in der Altersentwicklung

	<b>1. LT</b>	<b>3. LT</b>	<b>1. LW</b>	<b>2. LW</b>	<b>3. LW</b>	<b>Adult</b>
<i>Caecum 1</i>	615	630	1170	685	1010	1803
	654	545	941	1420	780	1436
	596	662	814	876	1002	2330
	623	623	1250	1370	1610	2370
	588	599	970	812	998	2012
<i>Caecum 2</i>	608	560	898	820	1025	2120
	479	489	1370	510	910	1956
	771	612	522	712	1232	1442
	512	633	930	1021	987	2032
	602	598	1220	1390	1571	2319

Anhang

<b>Caecum 3</b>	909	627	1380	778	1090	1790
	748	810	902	791	1580	2012
	810	693	960	1140	1021	1930
	694	835	1040	1050	980	2350
	629	443	1231	1170	1210	1856
<b>Caecum 4</b>	646	813	1421	1060	1780	1940
	671	971	1510	801	1291	2256
	653	705	1030	1010	1561	2112
	791	478	921	860	1291	1977
	886	939	1132	1420	1355	1821
<b>Caecum 5</b>	849	817	594	1450	1310	
	685	714	804	968	815	
	752	628	822	891	1080	
	502	501	794	979	884	
	512	617	767	1125	912	
<b>Caecum 6</b>	602	619	797	1120	882	
	711	695	781	970	1025	
	410	678	813	1370	1391	
	508	703	770	881	917	
	621	645	712	712	891	
<b>Caecum 7</b>	582	612	812	776	1312	
	455	598	781	819	991	
	541	604	779	739	1021	
	539	678	809	851	899	
	580	649	832	877	1121	
<b>Caecum 8</b>	571	813	867	825	914	
	555	792	912	1021	1002	
	491	691	859	1215	1631	
	476	712	791	909	1539	
	512	723	788	931	721	
<b>MW</b>	623,48	668,85	937,40	978,13	1138,55	1993,20
<b>Stabw.</b>	120,54	115,13	226,32	231,76	272,23	265,47

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

**Tab. A 4:** Faltenhöhe des *Apex* in der Altersentwicklung

	<b>1. LT</b>	<b>3. LT</b>	<b>1. LW</b>	<b>2. LW</b>	<b>3. LW</b>	<b>Adult</b>
<b>Caecum 1</b>	640	828	882	966	1050	1766
	651	427	1022	809	1021	1030
	719	674	970	902	985	1360
	432	1180	812	588	872	1802
	534	973	790	810	977	1720

Anhang

<b>Caecum 2</b>	589	576	812	973	1010	2040
	545	819	972	830	1007	2130
	785	698	1010	836	907	1740
	652	712	702	912	1132	1564
	498	802	820	935	1221	1891
<b>Caecum 3</b>	503	598	775	1450	1300	2060
	612	461	781	801	1410	2810
	591	754	918	971	1290	2122
	498	613	812	1012	1620	2325
	607	652	998	1630	1910	1320
<b>Caecum 4</b>	531	613	1110	1451	1501	2179
	598	581	823	1532	1210	2005
	632	712	1340	1010	2091	2513
	410	519	1020	981	1307	1542
	476	471	1241	877	1605	1943
<b>Caecum 5</b>	402	524	758	1070	1319	
	498	576	1012	1276	1160	
	512	591	819	1519	1291	
	631	604	880	1310	1301	
	471	581	912	998	1053	
<b>Caecum 6</b>	503	604	1053	1320	870	
	490	427	1210	1000	1021	
	478	812	919	1291	1691	
	513	802	979	977	1239	
	577	719	1193	1153	1317	
<b>Caecum 7</b>	613	710	1291	1391	1189	
	501	617	1371	1271	1351	
	491	591	1153	1002	1023	
	487	655	1021	991	1391	
	517	689	921	1239	988	
<b>Caecum 8</b>	500	713	1050	1219	1231	
	491	691	911	1139	1490	
	403	603	813	819	823	
	512	791	923	1012	976	
	531	877	1009	1494	1210	
<b>MW</b>	540,60	671,00	970,20	1094,18	1234,00	1893,10
<b>Stabw.</b>	83,48	147,57	166,67	247,77	279,43	418,85

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

Tab. A 5: Kryptentiefe in der Blinddarmbasis

	1. LT	3. LT	1. LW	2. LW	3. LW	Adult
<i>Caecum 1</i>	95	112	188	222	229	234
	89	114	193	187	231	297
	97	147	168	169	195	265
	141	122	173	178	244	251
	137	178	229	164	188	247
	119	156	199	203	203	263
	121	188	206	207	232	259
	132	126	152	182	215	265
	103	133	174	188	228	304
	127	117	167	203	237	280
<i>Caecum 2</i>	111	166	169	189	186	185
	93	152	182	170	195	250
	113	168	191	166	202	142
	88	144	187	181	177	215
	95	138	205	189	182	220
	87	147	207	192	197	261
	110	127	208	202	208	273
	106	114	210	167	212	229
	88	108	188	182	198	238
	96	133	192	184	200	248
<i>Caecum 3</i>	88	132	175	210	225	246
	95	143	151	180	239	191
	89	113	176	196	195	208
	93	125	181	179	197	230
	112	134	179	187	217	221
	108	109	152	198	166	267
	102	103	204	211	251	304
	92	99	211	204	232	216
	89	135	209	171	304	244
	103	107	198	221	211	256
<i>Caecum 4</i>	91	164	120	201	241	272
	121	150	154	182	259	304
	113	121	177	197	303	311
	107	137	190	210	319	317
	98	156	182	189	287	291
	102	125	203	203	301	309
	89	134	201	170	265	287
	87	136	197	179	308	232
	93	173	181	189	271	217
	91	131	176	210	331	299
<i>Caecum 5</i>	124	161	162	146	230	

Anhang

	113	113	151	153	211	
	142	152	187	191	204	
	126	157	191	202	199	
	132	133	207	214	189	
	129	141	197	211	221	
	88	152	179	203	241	
	97	131	196	182	223	
	91	112	180	189	219	
	101	126	210	237	211	
<i>Caecum 6</i>	121	181	180	221	241	
	91	132	196	202	259	
	118	141	179	214	301	
	93	139	187	201	276	
	111	91	199	195	202	
	97	98	214	198	208	
	123	144	204	181	212	
	132	156	151	187	239	
	91	178	198	209	199	
<i>Caecum 7</i>	88	113	177	231	271	
	109	164	167	212	225	
	88	113	152	204	230	
	91	121	189	197	212	
	111	144	207	181	203	
	122	99	179	192	199	
	103	132	181	189	187	
	109	117	211	231	205	
	97	124	214	221	231	
<i>Caecum 8</i>	81	152	212	213	220	
	104	139	198	202	207	
	123	140	172	220	231	
	132	133	189	209	221	
	111	141	201	199	188	
	131	122	205	181	204	
	122	131	191	203	245	
	99	107	181	214	232	
	87	124	177	209	217	
109	147	179	213	205		
113	103	191	191	199		
127	115	202	212	214		
<b>MW</b>	106,10	134,20	186,85	195,90	226,40	253,70
<b>Stabw.</b>	15,68	21,31	19,14	17,81	35,12	38,76

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

Tab. A 6: Kryptentiefe im Blinddarmkörper

	1. LT	3. LT	1. LW	2. LW	3. LW	Adult
<i>Caecum 1</i>	243	244	329	383	436	365
	268	341	378	380	389	384
	188	338	309	366	364	390
	197	297	312	359	392	241
	202	269	298	212	290	294
	214	253	276	287	288	381
	232	268	302	310	256	236
	199	288	308	357	399	358
	201	336	282	241	276	289
	220	312	269	365	412	364
<i>Caecum 2</i>	234	301	244	307	422	315
	176	287	322	297	394	328
	156	256	383	282	374	344
	204	289	355	390	356	384
	248	303	298	364	356	413
	206	299	270	288	381	366
	201	333	312	322	401	399
	188	279	308	309	362	413
	212	263	289	322	387	423
	198	287	307	280	372	302
<i>Caecum 3</i>	182	237	335	261	429	359
	189	245	341	301	391	361
	201	301	321	312	371	377
	198	331	362	303	377	371
	174	279	259	271	401	343
	231	298	331	297	364	279
	206	307	319	379	428	348
	209	311	325	319	370	367
	216	319	376	341	398	391
	199	291	299	391	359	411
<i>Caecum 4</i>	199	212	317	307	392	314
	203	309	321	314	401	343
	212	323	345	301	407	379
	213	299	291	276	323	298
	231	277	351	289	371	443
	210	251	278	297	315	379
	204	293	291	314	379	388
	197	314	303	325	387	297
	201	331	297	313	343	401
	247	324	351	297	355	344
<i>Caecum 5</i>	269	252	232	419	437	

Anhang

	252	299	282	404	409	
	230	308	291	398	412	
	239	305	307	371	398	
	191	298	276	402	408	
	205	212	312	412	400	
	221	276	329	407	421	
	217	244	341	381	381	
	223	236	314	387	367	
	198	261	298	391	351	
<i>Caecum 6</i>	205	239	314	404	407	
	214	181	291	376	379	
	209	236	322	351	378	
	198	241	339	337	369	
	231	245	289	398	412	
	191	231	277	407	403	
	202	212	281	414	398	
	225	189	309	419	367	
	252	244	302	400	359	
188	239	299	397	401		
<i>Caecum 7</i>	289	279	321	268	391	
	252	281	299	298	381	
	216	297	279	277	404	
	202	253	304	309	400	
	197	271	312	304	408	
	189	202	288	291	291	
	201	231	276	288	387	
	212	213	269	279	367	
	291	229	291	312	379	
208	271	304	314	406		
<i>Caecum 8</i>	203	271	300	291	377	
	291	281	291	305	352	
	251	277	295	314	349	
	276	267	304	321	368	
	212	231	271	339	375	
	208	229	288	191	239	
	198	213	316	197	404	
	223	259	317	256	402	
	231	276	307	289	387	
225	258	291	235	366		
<b>MW</b>	215,55	271,65	306,15	327,28	376,98	354,55
<b>Stabw.</b>	26,60	37,43	28,15	54,44	38,21	47,95

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

Tab. A 7: Kryptentiefe in der Blinddarmspitze

	1. LT	3. LT	1. LW	2. LW	3. LW	Adult
<i>Caecum 1</i>	213	321	299	387	422	291
	227	324	332	263	389	296
	252	277	274	318	311	359
	144	300	362	380	403	213
	163	312	271	359	401	261
	222	298	289	222	370	298
	224	288	305	256	290	301
	257	308	312	278	312	359
	198	326	280	302	288	382
	214	212	298	255	313	293
<i>Caecum 2</i>	232	260	288	353	312	364
	183	279	370	340	298	344
	224	288	228	321	402	346
	212	290	292	344	411	321
	197	307	287	380	387	381
	278	265	312	266	290	384
	193	308	310	298	288	439
	211	276	298	312	310	321
	186	302	366	256	401	315
	199	282	279	314	381	432
<i>Caecum 3</i>	168	251	346	242	371	318
	172	260	298	275	406	327
	181	284	254	295	409	344
	251	297	219	278	371	365
	154	281	259	177	391	343
	162	266	267	281	312	337
	171	271	323	241	319	312
	168	289	271	291	407	298
	227	301	292	301	420	389
	214	284	231	287	387	378
<i>Caecum 4</i>	156	209	358	422	279	406
	161	257	297	403	361	391
	171	301	311	397	354	394
	166	267	271	369	398	325
	181	271	355	351	312	398
	172	289	323	270	325	407
	201	259	317	307	359	381
	183	326	281	311	361	291
	167	312	302	297	391	308
	178	309	321	288	421	409
<i>Caecum 5</i>	250	225	288	404	366	

Anhang

	269	289	370	421	303	
	213	288	228	403	319	
	241	297	292	389	359	
	224	304	287	288	351	
	281	279	312	291	344	
	198	266	310	305	299	
	187	251	298	269	309	
	203	309	366	278	381	
	214	313	279	308	421	
<i>Caecum 6</i>	214	260	346	399	441	
	202	289	298	404	37	
	198	290	254	376	405	
	187	307	219	289	389	
	181	276	259	416	303	
	208	282	267	284	347	
	221	302	323	299	359	
	225	297	271	319	379	
	201	285	292	407	371	
<i>Caecum 7</i>	172	207	358	389	404	
	189	229	297	402	400	
	192	233	311	376	376	
	204	304	271	359	352	
	200	291	355	377	368	
	167	276	323	294	409	
	153	259	317	312	412	
	171	244	281	304	366	
	191	286	302	299	379	
<i>Caecum 8</i>	187	211	321	281	388	
	173	209	331	376	359	
	201	231	312	371	397	
	205	224	304	398	405	
	191	241	298	381	412	
	199	259	287	297	421	
	212	266	305	317	399	
	213	211	311	329	387	
	206	229	328	331	363	
189	237	319	341	352		
179	248	325	359	407		
<b>MW</b>	199,28	274,65	299,93	326,48	361,76	345,53
<b>Stabw.</b>	28,96	31,11	35,36	54,13	55,30	48,79

LT: Lebenstag; LW: Lebenswoche; MW: Mittelwert; Stabw: Standardabweichung

## 10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Amselgruber danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung, seinen fachlichen Rat und die stets gewährte persönliche Unterstützung bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit.

Für die Übernahme und Vorlage der Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität möchte ich mich sehr bei Herrn Prof. Dr. Wanke bedanken.

Ganz herzlich möchte ich Herrn PD Dr. Steffl für die stets gewährte fachliche Unterstützung sowie seinen großen Einsatz bei der Anfertigung und Korrektur dieser Arbeit danken. Ferner danke ich Herrn Dr. Schweiger für die tatkräftige Unterstützung und die Beseitigung aller technischen Schwierigkeiten.

Ein herzliches Dankeschön auch an Frau Müller für ihre fachkundige Unterstützung bei den Laborarbeiten und ihre freundliche und geduldige Beantwortung aller sich daraus ergebenden Fragen. Auch Frau Kallenberger möchte ich für die freundschaftliche Zusammenarbeit im Labor danken.

Meinen Promotionskollegen danke ich für das freundschaftliche Miteinander, die Unterstützung bei der Probenentnahme, sowie den regen und konstruktiven Austausch über Fachliches und Nicht-Fachliches.

Weiter gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Instituts sowie der Tierklinik für das angenehme Arbeitsklima.

Für die Überlassung der Tiere danke ich der Versuchsstation "Unterer Lindenhof" der Universität Hohenheim sowie der Firma A.C.Weiss GmbH, Kirchberg / Iller.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern für die immerwährende Unterstützung bei der Verwirklichung aller meiner Ziele.