

**Postnatale Entwicklung des Drüsen- und
Muskelmagens beim Huhn**
-Eine licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie-

von Svenja Mirella Zaiser

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

**Postnatale Entwicklung des Drüsen- und
Muskelmagens beim Huhn**
-Eine licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie-

von Svenja Mirella Zaiser

aus Nürtingen

München 2016

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Lebensmittelsicherheit

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Dr. M. Gareis

Angefertigt am:
Institut für Nutztierwissenschaften der Universität Hohenheim
Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere
(Univ.-Prof. Dr. K. Huber)

Mentor: PD Dr. M. Steffl

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. habil. Fred Sinowatz

Tag der Promotion: 06. Februar 2016

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	2
2.1	Magenentwicklung	2
2.1.1	Allgemeines	2
2.1.2	Drüsenmagen	4
2.1.3	Muskelmagen	5
2.2	Makroskopische Anatomie	6
2.2.1	Allgemeines	6
2.2.2	Drüsenmagen	7
2.2.3	Isthmus gastris	7
2.2.4	Muskelmagen	8
2.2.5	Pars pylorica	9
2.2.6	Gefäßversorgung	9
2.2.7	Nervenversorgung	11
2.3	Mikroskopische Anatomie	11
2.3.1	Drüsenmagen	11
2.3.1.1	Zellen der tiefen Drüsen	13
2.3.1.2	Mucinproduzierende Zellen	14
2.3.2	Isthmus gastris	15
2.3.3	Muskelmagen	15
2.3.4	Zellen des Muskelmagens	17
2.3.5	Endokrine Zellen	19
2.4	Physiologie	20
2.4.1	Drüsenmagen	20
2.4.2	Muskelmagen	21
2.5	Immunologische Faktoren	22
2.5.1	Muzine (MUCs)	22
2.5.2	CD3 Rezeptor	23
2.5.3	Immunglobulin A (IgA) und sekretorische Komponente (SC)	25

3	Material und Methoden	27
3.1	Untersuchungsmaterial	27
3.2	Probennahme	27
3.3	Histologie	29
3.4	Immunhistochemie.....	30
3.5	Rasterelektronenmikroskopie.....	32
3.6	Licht- und rasterelektronenmikroskopische Auswertung.....	33
4	Ergebnisse	35
4.1	Histomorphologie	35
4.1.1	Drüsenmagen	35
4.1.2	Muskelmagen	42
4.2	Immunhistochemie.....	49
4.2.1	Muzine (MUCs).....	49
4.2.2	CD3 Rezeptor.....	56
4.2.3	Immunglobulin A (IgA) und sekretorische Komponente (SC)	59
5	Diskussion	65
6	Zusammenfassung	79
7	Summary	81
8	Verzeichnisse	83
8.1	Literaturverzeichnis.....	83
8.2	Abkürzungsverzeichnis	102
8.3	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen.....	104
9	Anhang	108
10	Danksagung	109

1 Einleitung

Der Vogel lässt sich entwicklungsgeschichtlich nach den Reptilien und vor den Säugetieren einordnen und zeichnet sich durch seine besondere Anpassung an das Habitat Luft aus. Als Folge der Flugfähigkeit erfahren der Bewegungsapparat und andere Organsysteme des Vogels zahlreiche Anpassungen. Aus diesem Grund sind bestimmte Knochen beim Vogel mit Luft gefüllt, der Schnabel besitzt keine Zähne und der Magen-Darm-Trakt ist relativ kurz um Gewicht einzusparen. Die Anpassung an die Flugfähigkeit erfolgte entwicklungsgeschichtlich über mehrere Zwischenstufen. Der Urvogel *Archaeopteryx* besaß bereits Federn, aber der Verlust der Zähne war noch nicht eingetreten.

Der moderne Vogel hingegen besitzt keine Zähne zur Zerkleinerung der Nahrung. Diese Aufgabe übernimmt sein Magen und dieser ist dadurch in anderer Weise ausgebildet als beim Säuger. Er ist in zwei Abschnitte aufgeteilt, den vorderen Drüsenmagen, in welchem, wie beim Säuger, die Magensäure produziert und abgegeben wird, und den nachfolgenden Muskelmagen, welcher die Aufgabe der Zähne und damit die Zerkleinerung der Nahrung übernimmt. Jedoch sind die beiden Abschnitte des Magens auch innerhalb der Klasse der Vögel unterschiedlich ausgeprägt und es können starke Abweichungen auftreten.

Diese Arbeit verfolgte daher das Ziel, sowohl den Drüsen- als auch den Muskelmagen des Huhns einer genauen histologischen und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung zu unterziehen. Mit Hilfe der Immunhistochemie wurde insbesondere der mukösen und der zellulären Immunabwehr besondere Beachtung geschenkt. Hierbei sollte die Arbeit nicht nur auf das adulte Huhn beschränkt, sondern auch die postnatale Entwicklung des Hühnermagens im Hinblick auf Veränderungen zwischen dem einen Tag alten Küken und dem 21 Tage alten Küken näher untersucht werden.

2 Literaturübersicht

2.1 Magenentwicklung

2.1.1 Allgemeines

Die erste sichtbare Differenzierung des Magen-Darm-Traktes beim Huhn findet gleichzeitig mit dem Beginn der Kopfwicklung statt (Bellairs, 1953). Die durch die Gastrulation entstandenen Keimblätter *Mesoderm* und *Endoderm* (Sinowatz, 2010) bilden durch Einfaltung, Zusammenschluss und Abschnürung von ihren ventralen Anteilen das primitive Darmrohr (Abb.1), wie es auch beim Säugetier der Fall ist. Das primitive Darmrohr lässt sich in drei Abschnitte unterteilen: den Vorderdarm, den Mitteldarm und den Hinterdarm. Aus dem Vorderdarm entwickeln sich der Ösophagus, die Lunge und der Magen, aus dem Mitteldarm entsteht der Dünndarm und aus dem Hinterdarm der Dickdarm (Smith et al., 2000).

Es ist jedoch zu bemerken, dass sich nicht alle Anteile des primitiven Darmrohrs zur gleichen Zeit entwickeln. Die Entwicklung schreitet in Etappen voran, allerdings handelt es sich bei jeder Entwicklungsetappe um den oben erklärten Mechanismus. Die Ausbildung des primitiven Darmrohrs beginnt mit dem Vorderdarm. Die Einfaltung, der Zusammenschluss und die Abspaltung des Vorderdarms schreiten von kranialer in kaudaler Richtung fort. Danach beginnt die Entwicklung des Hinterdarms, sie erfolgt in entgegengesetzter Richtung von kaudal nach kranial (Romanoff, 1960). Noch vor dem Hinterdarm entwickelt sich, ebenfalls aus dem Endoderm, die *Allantois* (der Urharnsack) (Gruenwald, 1941). Zuletzt tritt der Mitteldarm als letzter Anteil des primitiven Darmrohrs in Erscheinung.

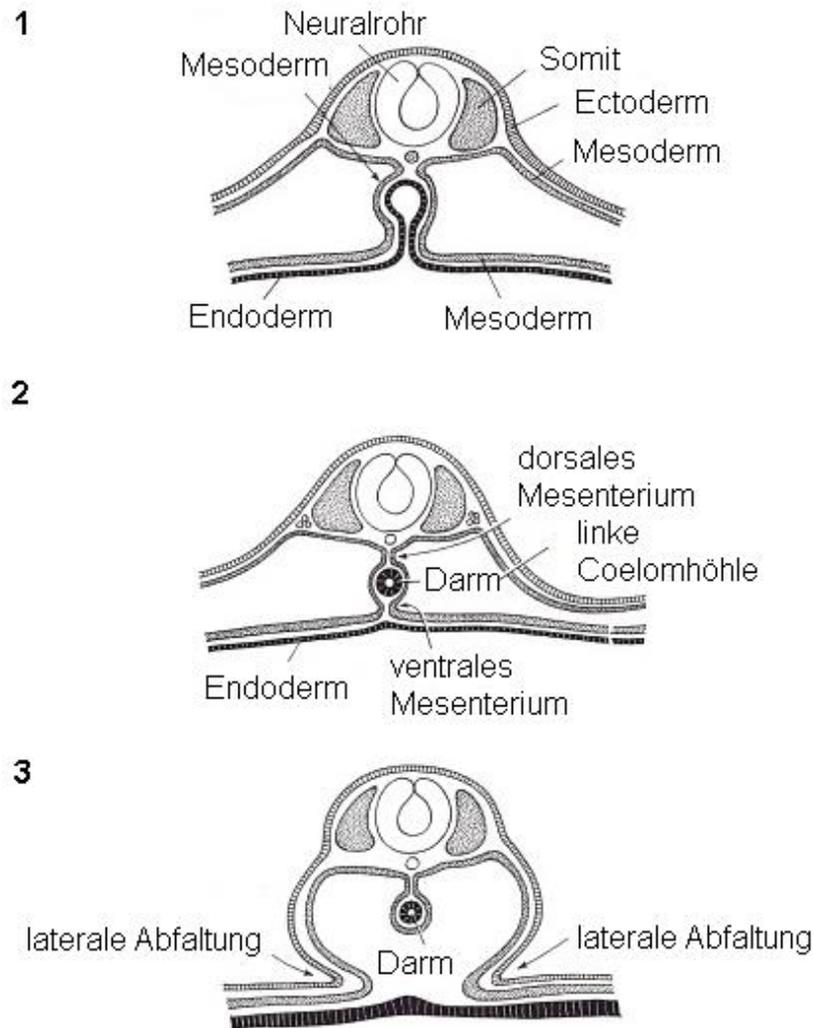


Abb. 1 Transversalschnitt durch einen Hühnerembryo (modifiziert nach Bellairs und Osmond, 2005); 1 und 2 Schluss des primitiven Darmrohrs; 3 Verlust des ventralen Mesenteriums

Aus dem Vorderdarm beginnt sich zwischen dem 48- und 72- Stunden Stadium durch eine Verdickung direkt vor dem Leberdivertikel der zweigeteilte Magen des Huhns zu entwickeln (Götte, 1867; Sjögren, 1941). Infolge der vermehrten Bildung von mesenchymalen Zellen im Bereich der Magenanlage kommt es zu einer Größenzunahme (Bennett und Cobb, 1969a). Am 5. Bebrütungstag erfolgt eine deutliche Linksverschiebung des Magens, wodurch der *Pylorus* (der Übergang von Muskelmagen zu Zwölffingerdarm (*Duodenum*)) rechts zu liegen kommt (Götte, 1867). Am 6. Tag entwickelt sich der kaudal gerichtete Blindsack

des Muskelmagens, als Folge verlagert sich der *Pylorus* kranial und kommt neben dem Eingang des Drüsenmagens zu liegen (Sjögren, 1941). In den darauf folgenden Tagen nimmt hauptsächlich die Muskelmasse des Muskelmagens zu und der Drüsenmagen präsentiert sich als eine, durch eine flaschenhalsförmige Einengung vom Muskelmagen getrennte, Ausbuchtung des Vorderdarms (Götte, 1867). Die Wachstumsgeschwindigkeit des Muskelmagens verläuft vom 5. Entwicklungstag bis hin zum Schlupf gleichförmig, was nicht auf alle Organe zutrifft (Dumm und Levy, 1949) und auch nach dem Schlupf behält der Muskelmagen das gleichmäßige Wachstum bei (Latimer, 1928). Am 11. Tag der Entwicklung bildet der Muskelmagen schließlich seine typische Linsenform aus (Götte, 1867; Sjögren, 1941).

2.1.2 Drüsenmagen

Das typische Merkmal des Drüsenmagens sind die prominenten tiefen und die oberflächlichen Drüsen, die beide aus dem endodermalen Epithel, der obersten Zellschicht des Schleimhautgewebes, entstehen (Romanoff, 1960).

Am späten 5. Entwicklungstag zeigen sich kleine Einbuchtungen im Epithel des Drüsenmagens. Diese Einbuchtungen sind die sich einstülpenden, tiefen Drüsen, welche während der nächsten Tage an Größe zunehmen. Dies zeigt sich durch verstärkte Mitoseaktivität während des 6. Tages im Bereich des Drüsenepithels, während die Zellteilungsrate im oberflächlichen Epithel gleich bleibt (Hayashi, 1987).

Am 9. Tag beginnen sich die einfachen Aussackungen zu verzweigen (Hibbard, 1942). Spät am 11. Tag sind die blinden Enden der Drüsen nach vorne gerichtet, weil sich die Anteile endodermalen Ursprungs scheinbar schneller entwickeln als die Teile mesodermalen Ursprungs (Sjögren, 1941). Während und nach Tag 11 dehnen sich die tiefen Drüsen innerhalb der gesamten Bindegewebsschicht (*Lamina propria mucosae*) aus und es kommt zu einer Teilung der Muskelschicht der Schleimhaut (*Lamina muscularis mucosae*) in zwei Lagen oberhalb und unterhalb der Drüsen (van Alten und Fennell, 1957; Romanoff, 1960).

Nach 13 Entwicklungstagen beginnen die tiefen Drüsen mit der Säureproduktion und der pH-Wert innerhalb des Drüsenmagens sinkt ab. Nach Histaminstimulation sind manche Embryonen in der Lage schon am 11. Tag der Entwicklung Säure zu produzieren (Toner, 1965). Ab dem 15. Tag findet an den tiefen Drüsen ausschließlich eine stetige Zunahme der Verzweigungen statt (Ventura et al., 2013). Um den 18. Tag werden die ersten Erhebungen im Epithel des Lumens, die *Papillae ventricularis*, sichtbar, auf ihnen münden die Ausführungsgänge der tiefen Drüsen (Lim und Low, 1977).

Ab dem 13. Tag beginnt die Entwicklung der oberflächlichen Drüsen (Sjörgen, 1941). Durch rege Teilung der oberflächlichen Epithelzellen bilden sich Falten zwischen den Ausführungsgängen der tiefen Drüsen aus. Die Drüsenanlagen senken sich etwas in die *Lamina propria mucosae* ein (Romanoff, 1960) und die Falten ordnen sich konzentrisch um die erhabenen Ausführungsgänge der tiefen Drüsen an (Martínez et al., 1993).

Am 17. Tag der Embryonalentwicklung zeigt der Drüsenmagen das morphologische Bild eines adulten Huhnes, allerdings lassen sich die *Lamina muscularis mucosae* und die *Tela submucosa* noch nicht abgrenzen (Ventura et al., 2013).

2.1.3 Muskelmagen

Das Besondere am Muskelmagen ist seine enorme Muskelschicht (*Tunica muscularis*). Schon am 7. Tag der Embryonalentwicklung ist sie die stärkste Schicht des Muskelmagens. Am 9. Tag ist sowohl eine zirkuläre (*Lamina circularis*) als auch eine longitudinale Schicht (*Lamina longitudinalis*) zu erkennen, obwohl die *Lamina longitudinalis* nie eine große Breite erreicht. Zwei dicke Muskeln, der *M. crassus caudodorsalis* und der *M. crassus cranioventralis* sind ab dem 11. Tag innerhalb der *Tunica muscularis* zu erkennen, allerdings sind sie durch Drehung des Magens mehr in einer dorsalen und ventralen Position als in einer lateralen anzutreffen. Seitlich entstehen die Anlagen für die späteren Sehnenspiegel und spät am selben Tag beginnen auch die kleineren Zwischenmuskeln *Mm. tenues* sich zu entwickeln (Sjörgen, 1941).

Die Entwicklung der Drüsen des Muskelmagens unterscheidet sich von der Entwicklung anderer Drüsen im Magen-Darm-Trakt (Romanoff, 1960). Zwischen dem 5. und 9. Tag ist eine gesteigerte Zellteilungsrate des Epithels zu beobachten. Aus zwei bis drei Reihen werden vier bis fünf (Hibbard, 1942; Joos, 1952). Ab dem 9. Tag bildet sich auf der Oberfläche eine zusammenhängende Sekretschicht, welche im Laufe des 10. Tages an Dicke zunimmt (Luppa, 1962). Der erste direkte Schritt in Richtung Drüsenbildung findet am 12. Tag statt. Die dichtgelagerten Zellen des Epithels beginnen an der Basis in die tiefer gelegene *Lamina propria mucosa* zu drängen und bilden so genannte Epithelzapfen (Hibbard, 1942; Luppa, 1962). Das, von den Epithelzellen sezernierte Material, sammelt sich nun nicht mehr an der Oberfläche sondern zwischen den Zellen in den Epithelzapfen an und bahnt sich seinen Weg ins *Lumen* des Muskelmagens. Auf diese Weise entwickeln sich die Ausführungsgänge der Muskelmagendrüsen.

Ab dem 18. Tag beginnt tief im *Fundus* der Drüse die Produktion von *Koilin* (Joos, 1952), einem Kohlenhydrat-Protein-Komplex, welches sich bis zum nächsten Tag bis ins *Lumen* vorschiebt. Bis zum 20. Tag der Entwicklung lässt sich noch keine Kutikula als Sekretionsplatte nachweisen (Ventura et al., 2013). Die Schleimproduktion der zwischen den Drüsenöffnungen liegenden oberflächlichen Epithelzellen setzt zwei Tage vor dem Schlupf ein (Hibbard, 1942).

2.2 Makroskopische Anatomie

2.2.1 Allgemeines

Der Magen des Vogels besteht im Gegensatz zum einhöhligen Magen der meisten Säugetiere aus zwei Teilen, dem vorderen Drüsenmagen und dem sich anschließenden Muskelmagen (Ziswiler und Farner, 1972). Zwischen Drüsen- und Muskelmagen befindet sich beim Huhn eine Engstelle, der *Isthmus gastris* (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Im Gegensatz dazu wird beispielsweise beim Baumfalken *Falco subbuteo* kein trennendes Element wie der *Isthmus*

gastris beschrieben, sondern der Magen erscheint makroskopisch als eine große Kammer (Abumandour, 2014). Muskelmagen und Duodenum sind durch die *Pars pylorica* getrennt (Černý, 1993).

Aufgrund der arttypischen Ernährungsweise verschiedener Vogelarten unterscheidet man zwei Magentypen. Typ 1 ist an die Futterspeicherung angepasst und ist bei fisch- und fleischfressenden Vögeln anzutreffen. Der Typ 2 ist bei pflanzen-, körner- und planktonfressenden Vögeln ausgeprägt (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004) und ist für die Zerkleinerung der Nahrung ausgelegt. Zum Typ 2 gehören auch die meisten Hausvogelarten unter anderem auch das Haushuhn *Gallus gallus domesticus*.

2.2.2 Drüsenmagen

Der Drüsenmagen, auch *Proventriculus* oder *Pars glandularis* genannt, hat beim Huhn eine spindelförmige Gestalt und ist ca. 4 cm lang (Černý, 1993; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Der Durchmesser beträgt an der breitesten Stelle ca. 2 cm. Der Drüsenmagen geht ohne besondere Abgrenzung aus der Speiseröhre (*Oesophagus*) hervor, gegen den Muskelmagen ist er durch die Engstelle (*Isthmus gastris*) mit der *Zona intermedia gastris* abgegrenzt. Die nach Eröffnung des Drüsenmagens sichtbare innere Schleimhaut liegt in feinen konzentrisch verlaufenden Falten (McLelland, 1978) und zeigt rundliche Erhebungen, die *Papillae ventriculares* (Lim und Low, 1977).

Der Drüsenmagen liegt gemeinsam mit der Milz in einer Nische des Eingeweidebauchfellsackes. Er schmiegt sich direkt an die Viszeralfläche der Leber und wird kranial von beiden kaudalen Brustluftsäcken, kaudal vom linken Bauchluftsack indirekt eingerahmt (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

2.2.3 Isthmus gastris

Der *Isthmus gastris* stellt die Übergangszone von Drüsen- zu Muskelmagen dar und ist mit einer besonderen Schleimhaut ausgekleidet, der *Zona intermedia*

gastris. Der *Isthmus gastris* hat beim Huhn eine Länge von 7-8 mm (Černý, 1993) und ist im Verhältnis zu anderen Vogelarten wie frugivoren Papageien recht kurz (Ziswiler and Farner, 1972). Die Schleimhaut der *Zona intermedia gastris* ist verglichen mit der Schleimhaut des Drüsenmagens verhältnismäßig glatt (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

2.2.4 Muskelmagen

Der Muskelmagen auch *Ventriculus* oder *Pars muscularis* genannt, hat die Form einer aufrecht stehenden, bikonvexen Linse (Feder, 1969). Beim Huhn erreicht er einen Durchmesser von etwa 5 cm und einen Querdurchmesser von etwa 2,5 cm (Černý, 1993). Im leeren Zustand hat er ein Gewicht von ca. 40-45 g (Gabella, 1985).

Den größten Anteil des Muskelmagens bildet der Magenkörper (*Corpus ventricularis*) mit zwei, die Seitenflächen überziehenden, Sehnen spiegeln (*Facies tendineae*) (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Kranial und kaudal buchten sich zwei Blindsäcke aus, *Saccus cranialis* und *Saccus caudalis*. In den kranialen Blindsack mündet über die *Zona intermedia gastris* der Drüsenmagen. Rechts dieser Einmündung liegt der Ausgang des Muskelmagens das *Ostium ventriculopyloricum* (Černý, 1993). Der Hauptanteil der Muskelmasse des Muskelmagens wird von den zwei kräftigen Hauptmuskeln *M. crassus caudodorsalis* und *M. crassus cranioventralis* gebildet, entspringend und ansetzend an den *Facies tendineae*. Die schwächeren Zwischenmuskeln *M. tenuis craniodorsalis* und *M. tenuis caudoventralis* liegen im Bereich der Blindsäcke. Auch sie entspringen am Sehnen Spiegel und setzen am Sehnen Spiegel der Gegenseite an (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

Nach Eröffnung des Muskelmagens wird auf der inneren Oberfläche eine harte Reibplatte, die *Tunica cuticula* oder Koilin-Schicht, sichtbar (McLelland, 1978). Diese ist beim Huhn im Bereich der Sehnen Spiegel besonders stark ausgebildet (Cornselius, 1925). Die grünliche oder bräunliche Farbe der Kutikula ist auf Rückfluss von Galle und Nahrungsbrei zurückzuführen (Denbow, 2000).

Der Muskelmagen liegt im linken kaudalen Teil der Leibeshöhle (Feder, 1969). Rechtsseitig stößt er an den Eingeweidebauchfellsack und ist an dieser Stelle mit Bauchfell überzogen. Links ist er zum Teil vom linken Leberbauchfellsack umgeben und teilweise mit der Bauchwand bindegewebig verklebt. Ein weiterer größerer Teil des Muskelmagens ist vom linken Brustluftsack überzogen. Seine Lage wird zum größten Teil als retroperitoneal beschrieben (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

2.2.5 Pars pylorica

Der *Pylorus* ist der Übergang vom Muskelmagen zum Duodenum. Beim Huhn hat er eine Länge von 0,5 cm. Diese variiert aber stark zwischen den verschiedenen Vogelarten (Denbow, 2000).

2.2.6 Gefäßversorgung

Arterien

Alle Arterien zur Versorgung des Drüsen- und Muskelmagens beim Huhn entspringen aus der *A. coeliaca*, die von der *Aorta abdominalis* auf Höhe des sechsten Brustwirbels abzweigt. Die Hauptäste der Arterien dringen durch die Wand des Magens ein, anastomosieren und bilden ein arterielles Netzwerk in den tieferen Schichten des Magens (Nishida et al., 1969).

In folgendem Abschnitt sollen nur die Arterien Erwähnung finden, die der Versorgung des Magens dienen. Die erste Abzweigung der *A. coelica*, die *A. oesophagealis*, gibt einen kleinen Ast, die *A. proventricularis dorsalis*, zur Versorgung des Drüsenmagens ab. Ihr Endast, die *A. gastrica dorsalis*, erreicht sogar noch den Muskelmagen (Waibl und Sinowatz, 2004). Einige Millimeter nach Abgang der *A. oesophagealis* gabelt sich die *A. coeliaca* in einen linken und einen rechten Ast. Der *Ramus sinister* versorgt durch die *A. proventricularis ventralis* den Drüsenmagen und die weiterführenden *Aa. gastricae ventralis et sinistra* umgreifen den Muskelmagen (Kuru, 2010).

Der *Ramus dexter* ist für eine weitläufige Organversorgung unter anderem der Milz, Leber und des Duodenums zuständig. Mit der von ihm abgehenden *A. gastrica dextra* versorgt er die rechte Seite des Muskelmagens (Waibl und Sinowatz, 2004; Kuru, 2010).

Venen

Im Gegensatz zum Säuger finden sich beim Vogel zwei Leberpfortadern, die stärkere *V. portae dextrae hepatis* und die schwächere *V. portae sinistrae hepatis*. Die linke Leberpfortader leitet hauptsächlich das Blut aus der *V. gastrica ventralis* und *V. gastrica sinistra* in Richtung Leber (Waibl und Sinowatz, 2004). Aber auch die *V. portae dextrae hepatis* entsorgt das verbrauchte Blut aus dem Magen. Ein kleiner kranialer Anteil des Magens wird von der *V. gastrica glandularis cranialis* entsorgt, diese mündet als kleine Besonderheit direkt in die *V. cava cranialis sinistra* (Nishida et al., 1969).

Lymphgefäße

Im Vergleich mit den Lymphgefäßen des Säugetieres sind Lymphgefäße beim Vogel schlecht entwickelt. Sie verlaufen meist entlang der Venen und haben, im Gegensatz zum Säugetier, zahlreiche Verbindungen zum Venensystem (Michel, 1993).

Die Lymphe des Drüsen- und Muskelmagens gelangt über den Lymphgang *Vas lymphaticum coeliacum*, welcher parallel mit der Organarterie *A. coeliacum* verläuft, in den doppelten Rumpflymphstamm *Truncus thoracoabdominalis*. Die *Trunci thoracoabdominales* münden schließlich in die *V. cava cranialis dextra* und die *V. cava cranialis sinistra* (Waibl und Sinowatz, 2004).

2.2.7 Nervenversorgung

Ebenso wie beim Säuger übernimmt beim Vogel das vegetative Nervensystem die Innervation der Brust- und Bauchorgane. Es gliedert sich in einen sympathischen und parasympathischen Abschnitt. Aber auch das intramurale Nervensystem mit den in der Wand der Hohlorgane gelegenen Ganglien zählt zum vegetativem Nervensystem und versorgt ebenfalls die Brust- und Bauchorgane (König et al., 2008).

Die sympathische Versorgung des Magens erfolgt durch die präganglionären Fasern der *Nn. splanchnici thoracici*, welche in Höhe der *A. coeliaca* und der *A. mesenterialis cranialis* den *Plexus subvertebralis thoracicus* bilden, bestehend aus dem *Ganglion coeliacum* und dem *Ganglion mesenterialis cranialis*. Die postganglionären Fasern bilden unter anderem den *Plexus proventricularis* und den *Plexus gastricus* (Seeger, 1993).

Für die parasympathische Versorgung des Magens sind die vom Hirnstamm kommenden *Nn. vagi* verantwortlich. Sie vereinigen sich kurz vor dem Drüsenmagen und geben einige Äste zur Innervation des Magens ab (König et al., 2008).

2.3 Mikroskopische Anatomie

2.3.1 Drüsenmagen

Der Drüsenmagen besteht aus vier Schichten, der innen liegenden Schleimhaut (*Tunica mucosa gastris*), der schmalen in der Tiefe folgenden Bindegewebsschicht (*Tela submucosa gastris*), der Muskelschicht (*Tunica muscularis gastris*) und der umhüllenden aus viszeralem Peritoneum gebildeten serösen Schicht (*Tunica serosa gastris*) (Černý, 1993; Mirabella et al., 2003; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004; Kadhim et al. 2011). Das kennzeichnende Merkmal des Drüsenmagens ist der Besitz von oberflächlichen und tiefen Drüsen in der *Tunica mucosa gastris* (Michel, 1971).

Die *Lamina epithelialis mucosae* des Drüsenmagens liegt in Falten. Die oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens (*Glandulae proventriculares superficiales*) münden in die Senken der Schleimhautfalten (*Sulci*). Von einigen Autoren werden die oberflächlichen Drüsen als Artefakte der Präparation betrachtet, darunter Hodges (1974) und Toner (1963b). Spätere Autoren berichten, dass die oberflächlichen Drüsen einfache tubuläre Drüsen darstellen und durch Einfaltung des oberflächlichen Epithels in die unter dem Epithel liegende Schicht *Lamina propria mucosae* entstanden sind (Chikilian und de Speroni, 1996; Ogunkoya und Cook, 2009; Kadhim et al., 2011).

Die Ausführungsgänge der tiefen Drüsen (*Glandulae proventriculares profundae*) münden auf kreisförmigen Erhebungen der Schleimhaut, den *Papillae ventriculares* (Hodges, 1974). Die Schleimhaut des Drüsenmagens besitzt ein einschichtiges, hochprismatisches, schleimproduzierendes Epithel, welches ohne deutlichen Übergang in das niedrigere, kubische Epithel der oberflächlichen Drüsen übergeht (Luppa, 1962).

Über die Lage der *Glandulae proventriculares profundae* gibt es einige kontroverse Meinungen, so siedelt sie Imai et al. (1991) ebenso wie Martínez et al. (2000) in der *Tela submucosa gastris* an. Die Autoren Ziswiler und Farner (1972), Hodges (1974) und Vollmerhaus und Sinowatz (2004) lokalisieren die *Glandulae proventriculares profundae* in der *Lamina propria mucosae* zwischen der zweigeteilten *Lamina muscularis mucosae* (Abb. 2). Je nach Vogelart handelt es sich bei den *Glandulae proventriculares profundae* um einfache, unilobuläre Drüsen, wie beispielweise bei der Ente, oder um zusammengesetzte, multilobuläre Drüsen wie beim Huhn (Michel, 1971). Die Ausführungsgänge mehrerer Drüsenbläschen (*Alveoli*) münden in einen Ausführungsgang 3. Ordnung, dieser wiederum in einen Ausführungsgang 2. Ordnung. Der Ausführungsgang 1. Ordnung endet dann auf einer Papille, der *Papilla ventricularis* des Drüsenmagens (Menzies und Fisk, 1963). Die Drüsenendstücke sind von einem isoprismatischen Epithel ausgekleidet, welches in das niedrig-prismatische Epithel der Ausführungsgänge übergeht (Luppa, 1962). Das isoprismatische Epithel der Drüsen besteht nur aus einem Zelltyp, den tiefen Drüsenzellen („oxynticopeptic cells“), die sowohl Pepsinogen als auch Salzsäure produzieren (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004; Attia, 2008).

Die *Tela submucosa gastris* ist am Drüsenmagen nur als eine schmale Schicht aus lockerem Bindegewebe mit Blutgefäßen und Nervenfasern ausgebildet (Kadhim et al., 2011).

Die *Tunica muscularis gastris* besteht aus der inneren *Lamina circularis* und der äußeren *Lamina longitudinalis* (Mirabella et al., 2003). Zwischen den beiden Schichten der *Tunica muscularis gastris* liegt ein *Nervenplexus* des Drüsenmagens mit kleinen *Ganglien* und langen verbindenden Nervensträngen (Gabella und Halasy, 1987). Die Begrenzung des Drüsenmagens zur Bauchhöhle bildet der peritoneale Überzug, die *Tunica serosa gastris*.

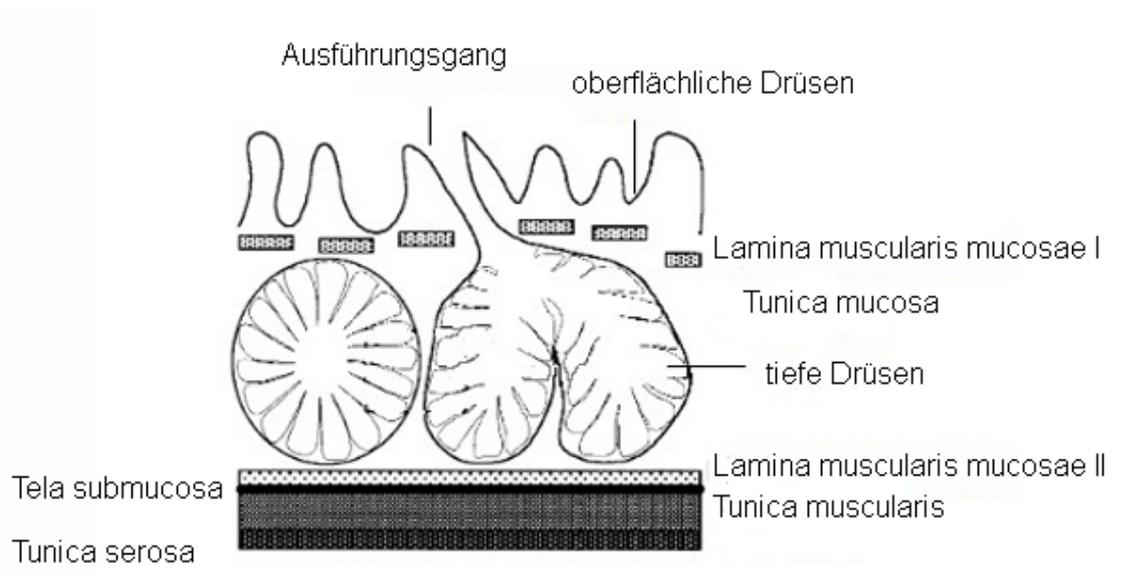


Abb. 2 Schematische Darstellung des Drüsenmagens (nach Yamamoto et al., 1996)

2.3.1.1 Zellen der tiefen Drüsen

Durch histologische und ultrastrukturelle Arbeiten konnte gezeigt werden, dass sich nur „oxynticopeptic cells“ im *Fundus* der *Glandulae proventriculares profundae* befinden (Chodnik, 1947; Aitken, 1958; Menzies und Fisk, 1963; Toner, 1963b). Sie produzieren sowohl Salzsäure als auch Pepsinogen, die Vorstufe von Pepsin (Palatroni et al., 1980).

Sie weisen eine zylindrische Form auf (Aitken, 1958) und besitzen nur in basalen Bereichen Verbindungen zu ihren Nachbarzellen. Dadurch entsteht im Längsschnitt eine Art Sägezahnoptik (Chodnik, 1947; Aitken, 1958). Eine spätere Untersuchung von Koenig und Dabiké (1990) zeigt, dass sich die Verbindungen zwischen den Nachbarzellen, die sogenannten „junctional complexes“, bei ruhenden Zellen näher am *Lumen* befinden und somit die interzellularen Spalten bei ruhenden Zellen kürzer sind als bei der aktiven Zelle. Dadurch ist die Sägezahnoptik bei der ruhenden Zelle nicht so stark ausgeprägt. Auch die Untersuchungen von Vial und Garrido (1979) und Vial et al. (1979) bestätigen diese Erkenntnis.

Der, dem *Lumen* zugewandte Anteil der Zellen enthält zahlreiche *Granula*, aber auch an den lateralen Grenzen der Zelle, im unverbundenen Bereich, finden sich ebenfalls *Granula* (Toner, 1963b). Die Zahl der *Granula* nimmt bei einem hungernden Tier zu (Chodnik, 1947). Diese *Granula* enthalten Pepsinogen (Menzies und Fisk, 1963).

Der Zellkern ist kugel- bis eiförmig und befindet sich im Bereich der Basalmembran oder im Zentrum, je nach Aktivität der Zelle (Chodnik, 1947).

Die „oxynticopeptic cells“ enthalten zahlreiche Mitochondrien, die sich zum großen Teil im supranukleären Bereich der Zelle befinden, nur beim hungernden Tier sind sie im basalen Bereich, unterhalb des Zellkerns lokalisiert (Chodnik, 1947; Toner, 1963b). Der Golgi-Apparat liegt um den Zellkern und ist manchmal in mehrere Anteile aufgegliedert (Toner, 1963a, b).

2.3.1.2 Mucinproduzierende Zellen

Das Oberflächenepithel des Drüsenmagens besteht, wie schon in Kapitel 2.3.1 erwähnt, aus hochprismatischen bzw. säulenartigen Zellen. Der Zellkern ist oval und liegt in der Mitte der Zelle. Supranukleär finden sich zahlreiche kugelförmige *Granula* (Chodnik, 1947). Die Zellen des Oberflächenepithels zeigen eine deutliche PAS-Reaktion, das spricht für die Bildung von mukoidem Sekret (Michel, 1971). Dieses mukoide Sekret überzieht das Epithel als Schleimmantel (Hinsch, 1967).

Der Golgi-Apparat bildet ein kompliziertes Netzwerk und liegt zwischen dem Zellkern und den Granula. Die Mitochondrien sind sowohl im subnukleären, wie auch im supranukleären Zytoplasma verteilt (Chodnik, 1947)

Die *Glandulae proventriculares profundae* werden von den gleichen Zellen ausgekleidet. Diese verlieren nur in der Tiefe der *Sulci* an Höhe und haben dadurch eine kubische und keine hochprismatische Form mehr (Hodges, 1974). Auch die Sammelräume und -gänge der tiefen Drüsen werden von diesen Zellen ausgekleidet, allerdings nimmt hier die Anzahl der *Mucingranula* in Richtung des *Fundus* ab und sie verschwinden in der Tiefe vollständig (Aitken, 1958).

2.3.2 Isthmus gastris

Der *Isthmus gastris* stellt die Übergangszone zwischen Drüsen- und Muskelmagen dar. Wenn sich der Drüsenmagen zum *Isthmus gastris* verengt, verschwinden die Drüsen des Drüsenmagens und die Fasern der inneren und äußeren *Lamina muscularis mucosae* lagern sich der *Tunica muscularis* an (Hodges, 1974). Die *Plicae* und *Sulci* des Drüsenmagens nehmen an Höhe ab und gehen allmählich in die Drüsen des Muskelmagens über (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). So ergibt sich in dieser Übergangszone eine Mischung aus Schleimsekretion und Sekreten des Muskelmagens.

Die *Tunica muscularis* besteht aus einer durch eine sehr schwach ausgebildete *Tela submucosa* getrennte inneren longitudinalen Schicht, als Anteil der *Lamina muscularis mucosae*, einer dickeren mittleren zirkulären und einer dünnen äußeren longitudinalen Schicht (Hodges, 1974). Am Übergang des *Isthmus gastris* zum Muskelmagen verschwindet die äußere longitudinale Schicht fast vollständig und die innere verschmilzt mit der zirkulären Schicht (Černý, 1993).

2.3.3 Muskelmagen

Ebenso wie der Drüsenmagen besteht der Muskelmagen aus vier Schichten, der *Tunica mucosa gastris*, der *Tela submucosa gastris*, der *Tunica muscularis gastris* und der *Tunica serosa gastris*.

Die *Tunica mucosa gastris* des Muskelmagens ist von einem Überzug, der Koilinschicht bedeckt. Das darunterliegende, einfache, prismatische Epithel (Kadhim et al., 2011) zeigt zahlreiche Krypten, in welchen die einfachen tubulären Drüsen des Muskelmagens münden (Zhu et al., 2013).

In jede Krypte münden 5-8 Drüsen. In der darunterliegenden *Lamina propria mucosae* sind immer 10-30 unilobuläre Drüsen in Gruppen zusammen gelagert. Zwischen den Drüsen einer Gruppe finden sich nur dünne Bindegewebssepten und zwischen den Gruppen dickere Bindegewebssepten (Eglitis und Knouff, 1962; Michel, 1971).

Das Epithel der Drüsenzellen ist niedrig zylindrisch und zum Hals mehr kubisch bis abgeplattet (Michel, 1971). Die Drüsenzellen produzieren Koilin, welches die Krypten säulenförmig auskleidet, darin aushärtet und bis ins Lumen des Muskelmagens reicht. Die kleineren Säulen verschiedener Drüsen einer Krypte lagern sich zu Säulen aus Koilin zusammen und bilden so den vertikalen Anteil der Koilinschicht (Akester, 1986). Die Zellen des Oberflächenepithels sind zur Sekretion eines weicheren Koilins befähigt, welches die horizontale Matrix bildet. Durch die horizontale Matrix werden die vertikalen Säulen zu einer gemeinsamen Platte, der Kutikula, verbunden (Akester, 1986; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

Im Gegensatz zum Drüsenmagen fehlt am Muskelmagen die *Lamina muscularis mucosae* der *Tunica mucosa gastris* (Hodges, 1974; Kadhim et al., 2011; Zhu et al., 2013). Die auf die *Tunica mucosa gastris* folgende *Tela submucosa gastris* ist eine Schicht bestehend aus Bindegewebe, Blutgefäßen und Nervenfasern, die im Vergleich zur *Tela submucosa gastris* des Drüsenmagens sehr dicht gestaltet ist. Sie verbindet die *Tunica mucosa gastris* mit der *Tunica muscularis gastris* (Zhu et al., 2013).

Die *Tunica muscularis gastris* besteht beim Huhn hauptsächlich aus einer *Lamina circularis*, die *Lamina longitudinalis* geht während der Embryonalentwicklung verloren (Romanoff, 1960; Hodges, 1974; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004).

Nach außen ist der Muskelmagen von einem peritonealen Überzug der *Tunica serosa gastris* bedeckt. In diese ist der Sehnenspiegel *Facies tendineae* eingelagert (Hodges, 1974). Unterhalb der *Tunica serosa gastris* findet sich ein Nervenplexus, der sogenannte Auerbachplexus (Bennett und Cobb, 1969b). Er

verläuft über 55 % der Oberfläche des Organs, bedeckt den *Saccus cranialis* und den *Saccus caudalis* sowie die beiden großen Muskeln *M. crassus caudodorsalis* und *M. crassus cranioventralis* und spart nur den Bereich der Sehnenspiegel aus. Zusätzlich zum Auerbachplexus befinden sich noch viele kleine Ganglien innerhalb der Muskulatur des Muskelmagens (Gabella und Halasy, 1987).

2.3.4 Zellen des Muskelmagens

Insgesamt werden vier verschiedene Zelltypen an der inneren Auskleidung des Muskelmagens unterschieden: die Hauptzelle, die Epithelzelle, die Basalzelle und die endokrine Zelle (Turk, 1982).

Chodnik (1947) beschreibt einen Zelltyp in den tubulären Drüsen des Muskelmagens. Dieser wird in Anlehnung an Chodnik (1947) in dieser Arbeit weiterhin als Hauptzelle benannt. Eine weitere Zellart, aus der das oberflächliche Epithel besteht und die die Krypten auskleidet, wird von Aitken (1958) und Eglitis und Knouff (1962) als Epithelzelle beschrieben. Toner (1964) findet zwei weitere Zellarten, die er als agyrophile Zellen und Basalzellen beschreibt. Bei den agyrophilen Zellen handelt es sich um endokrine Zellen, die in Kapitel 2.3.4 genauer beschrieben werden. Bei der Basalzelle soll es sich nach Vermutung von Toner (1964) um eine Stammzelle handeln.

Hauptzellen

Erstmals wurden die Hauptzellen in den tubulären Drüsen des Muskelmagens von Chodnik (1947) beschrieben. Sie kleiden die Drüsen nahezu vollständig aus. Im tiefen Bereich der Drüse sind die Hauptzellen quaderförmig und ihre Zellkerne sind mehr oder weniger rund. Zur Mündung der Drüsen hin werden die Zellen flacher und die Zellkerne oval. Die freie Oberfläche der Hauptzellen ist mit geraden, kurzen Mikrovilli versehen. Der basale Bereich der Zellen ist angefüllt mit rauem endoplasmatischem Retikulum. Der gut entwickelte Golgi-Apparat liegt oberhalb oder neben dem Zellkern. Auch einige Mitochondrien

finden sich zwischen den Zisternen des rauen endoplasmatischen Retikulums und im apikalen Zytoplasma (Toner, 1964).

Zellen des oberflächlichen Epithels

Die Zellen des oberflächlichen Epithels sind größer als die Hauptzellen (Eglitis und Knouff, 1962). Sie tragen ebenfalls Mikrovilli auf ihrer Oberfläche und im apikalen Bereich finden sich *Granula*. Das raue endoplasmatische Retikulum befindet sich im basalen Zytoplasma der Zelle, der Golgi-Apparat liegt neben dem Zellkern und kann teilweise Zeichen von Degeneration aufweisen. Die Mitochondrien sind blass und zeigen Anzeichen von Auflösung ihrer inneren Struktur. Der Zellkern dieser oberflächlichen Epithelzellen zeigt eine unregelmäßige äußere Form (Toner, 1964).

Basalzellen

Die Basalzellen werden erstmals von Toner (1964) beschrieben, welcher die Feinstruktur des Muskelmagens elektronenmikroskopisch untersuchte. Später fanden Kadhim et al. (2011) in einer lichtmikroskopischen Untersuchung ebenfalls Basalzellen. Toner (1964) beschreibt die Basalzellen als seltene, in der Tiefe vorkommende Zellen einer Drüse des Muskelmagens. Pro Drüse kommen nur zwei bis drei Basalzellen vor. Sie besitzen ein blasses Zytoplasma und einen großen runden Zellkern im basalen Bereich der Zelle. Sie tragen lange Mikrovilli auf ihrer Oberfläche und sind mit einem diffusen rauen endoplasmatischem Retikulum ausgestattet. Im apikalen Bereich der Zelle finden sich wenige Vakuolen, dabei könnte es sich um das glatte endoplasmatische Retikulum handeln (Toner, 1964). Es gibt einen gut entwickelten supranukleär liegenden Golgi-Apparat (Toner, 1964). Toner (1964) stellt die Vermutung auf, dass es sich bei den Basalzellen um Stammzellen handelt, welche für die Erneuerung der Schleimhaut des Muskelmagens zuständig sind.

2.3.5 Endokrine Zellen

Unter endokrinen Zellen im Magen-Darm-Trakt versteht man im Allgemeinen sowohl *argyrophile* als auch *argentaffine* Zellen. Die *argyrophilen* Zellen zeichnen sich dadurch aus, dass sie bei einer Versilberung zwar Silbersalze speichern, diese aber erst nach Zugabe eines Reduktionsmittels reduzieren (Walter, 1977), bei *argentaffinen* Zellen ist kein Reduktionsmittel von Nöten. Im Drüsen- und Muskelmagen des Huhnes kommen nur *argyrophile* Zellen vor (Dawson und Moyer, 1948). Im Darm des Huhnes findet man dagegen, wie bei den Säugetieren auch, *argyrophile* und *argentaffine* Zellen (Monesi, 1960).

Durch immunhistochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden mehrere, verschiedene Arten von endokrinen Zellen im Drüsen- und Muskelmagen des Huhns nachgewiesen. Zum einen unterscheidet man zwischen einem offenen Typ mit Verbindung zum *Lumen* und einem geschlossenen Typ ohne diese Verbindung, wobei der offene Typ beim Hühnermagen hauptsächlich beim Embryo auftritt und beim geschlüpften Küken äußerst selten anzutreffen ist (Dawson und Moyer, 1948). Durch die Immunhistochemie konnten bis zu 11 verschiedene Arten von endokrinen Zellen im Magen-Darm-Trakt nachgewiesen werden (Rawdon und Andrew, 1981; Yamanaka et al., 1989). Neuere Untersuchungen sprechen von bis zu fünfzehn unterschiedlichen endokrinen Zellen (Lee und Kaestner, 2004).

Im Drüsenmagen lassen sich Glukagon, Bombesin, Neurotensin, Somatostatin (Rawdon und Andrew, 1981; Usellini et al., 1983), pankreatisches Polypeptid (Alumets et al., 1978; Alison, 1990) und Ghrelin (Kaiya et al., 2002; Wada et al., 2003; Neglia et al., 2005) bildende Zellen nachweisen. Im Muskelmagen findet man Somatostatin (Yamanaka et al., 1989), Bombesin und Motilin (Rawdon und Andrew, 1981) produzierende Zellen. Im Übergangsbereich von Muskelmagen zu Duodenum, dem *Pylorus*, sind hauptsächlich Gastrin und Somatostatin produzierende Zellen vorhanden (Rawdon und Andrew, 1981; Yamanaka et al., 1989).

2.4 Physiologie

2.4.1 Drüsenmagen

Im Drüsenmagen wird der Magensaft produziert, er besteht hauptsächlich aus Salzsäure und Pepsinogen, einem Proenzym von Pepsin, abgegeben von den „oxynticopeptic cells“. Durch den Einfluss der Säure wird das Pepsinogen in Pepsin umgewandelt (Denbow, 2000). Bemerkenswert ist, dass der Drüsenmagen des Huhns deutlich mehr Magensaft produziert, als der des Menschen, der Ratte oder des Hundes (Long, 1967; Olowo-Okoron und Amure, 1973).

Im Drüsenmagen findet ein Großteil der Proteinverdauung statt (Herpol, 1964). Dies resultiert zum einen aus dem sauren Milieu des Drüsenmagens, das zur Denaturierung der Proteine führt und zum anderen aus dem proteinspaltenden Enzym Pepsin (Loeffler, 2015). Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass der pH-Wert im Drüsenmagen zwischen 1,8 und 4,8 schwanken kann (Herpol und van Grembergen, 1967 a, b; Denbow, 2000). Er liegt jedenfalls deutlich im sauren Bereich. Winget und Mitarbeiter (1962) haben nachgewiesen, dass der pH-Wert des Drüsenmagens nach der Futteraufnahme zuerst absinkt und anschließend langsam wieder ansteigt, was eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Angaben in der Literatur liefert.

Die Stimulation der Magensaftproduktion lässt sich beim Säugetier in drei Phasen einteilen: die *cephale*, *gastrale* und *intestinal* Phase (Lim et al., 1925). Dies trifft auch auf den Vogel zu. So berichtet Duke (1982) von einer *cephalen* und *gastralen* Phase und Burhol (1982) weist sogar der *intestinalen* Phase die größte Rolle zu.

In der *cephalen* Phase wird durch den Anblick, den Geruch oder die Erwartung von Futter die Magensaftproduktion angeregt. Diese Phase steht unter Kontrolle des *N. vagus*. Die vagale Stimulation verstärkt sowohl die Säureproduktion als auch die Ausschüttung von Pepsinogen (Denbow, 2000).

In der *gastralen* Phase steigt die Magensaftproduktion durch die Ausschüttung des Hormons Gastrin an, dadurch wird die Pepsinproduktion stärker stimuliert als die Salzsäureproduktion (Burhol, 1982).

Die *intestinale* Phase wird von verschiedenen Hormonen gesteuert, so erhöht zum Beispiel Cholecystokin (CCK) die HCl-Produktion und Sekretin fördert die HCl- und Pepsinsekretion (Burhol, 1982; Denbow, 2000).

2.4.2 Muskelmagen

Der Muskelmagen trägt die Hauptverantwortung für die Zerkleinerung der Nahrung (Mangold, 1906). Aufgrund der fehlenden Zähne in der Schnabelhöhle kommt ihm allein diese Aufgabe zu, die er durch mahlende Kontraktionen bewerkstelligt.

Die Kontraktionen und Mahlbewegungen des Muskelmagens laufen in einem gastrointestinalen Zyklus ab. Er beginnt mit der Kontraktion der Zwischenmuskeln, gefolgt von der Öffnung des *Pylorus* und einer starken peristaltischen Kontraktion des *Duodenum*s. Die beiden Hauptmuskeln kontrahieren sofort nach Beginn der Duodenalkontraktion, was dazu führt, dass Nahrungsbrei sowohl in das *Duodenum* als auch in den Drüsenmagen geschoben wird. Sobald die Hauptmuskeln erschlaffen, kontrahiert sich der Drüsenmagen und befördert den Nahrungsbrei wieder in den Muskelmagen. Dieser Zyklus wiederholt sich bis zu drei- (Henry et al., 1933) oder viermal pro Minute (Duke, 1992). Bereits am acht bis neun Tage alten Embryo können Kontraktionen festgestellt werden, wobei die Vermutung nahe liegt, dass diese schon vorher auftreten und nur aufgrund der schwierigen Präparation schwer darzustellen sind (Kuo und Shen, 1936). Nach dem Schlupf nimmt die Kraft der Kontraktion proportional zum Alter weiterhin zu bis das Tier ausgewachsen ist (Tur et al., 1986).

Der *Pylorus* des Muskelmagens fungiert als eine Art von Sieb und verhindert, dass zu viele oder zu große Stücke des Nahrungsbreis in das *Duodenum* gelangen (Moore, 1999). Laut Ferrando et al. (1987) verlassen nur Futterpartikel mit einer Größe von maximal 0,5 bis 1,5 mm den Magen. Hetland et al. (2002, 2003) und Amerah et al. (2008) stellen sogar fest, dass die meisten Partikel kleiner als 0,1 mm sind.

Obwohl wie im vorangegangenen Abschnitt schon ausgeführt Salzsäure und Pepsinogen im Drüsenmagen sezerniert werden, findet auch im Muskelmagen

aufgrund des kleinen Volumens des *Proventriculus* ein Teil der Proteinverdauung statt (Duke, 1992).

Die durchschnittliche Verweildauer des Nahrungsbreis im Muskelmagen beträgt zwischen einer halben und einer ganzen Stunde (Shires et al., 1987; van der Klis et al., 1990; Dänicke et al., 1999).

2.5 Immunologische Faktoren

2.5.1 Muzine (MUCs)

Muzine sind Glykoproteine mit einem hohen Molekulargewicht. Sie sind der Hauptbestandteil des Sekrets, das die auskleidenden Zellen des Respirations-, Verdauungs- und Urogenitaltraktes, sowie die Haut mancher Amphibien bedeckt (Perez-Vilar und Hill, 1999). Ihre Aufgabe ist der Schutz der Epithelzellen vor Austrocknung, Infektionen, physikalischen oder chemischen Schädigungen, aber auch die Unterstützung der Passage verschiedener Stoffe (Lamont, 1992; Strous und Dekker, 1992).

Sie setzen sich aus einem Proteingerüst und mehreren Seitenketten, bestehend aus verschiedenen Zuckermolekülen, zusammen. Das Proteingerüst der Muzine zeichnet sich durch zahlreiche Wiederholungen kleiner Aminosäuresequenzen (*tandem repeats*) mit einem hohen Anteil der Aminosäuren Serin, Threonin und Prolin aus (Verma und Davidson, 1994; Rose und Voynow, 2006). An den Aminosäuren Serin und Threonin befindet sich der o-glykosidisch gebundene Zucker N-Acetylgalactosamin verknüpft mit weiteren Zuckermolekülen, die die Seitenketten bilden (Lamblin et al., 2001; Bansil und Turner, 2006). Die o-glykosidischen Bindungen und *tandem repeats* grenzen die Muzine von anderen Glykoproteinen ab. Zwischen den stark glykolisierten *tandem repeats* befinden sich cysteinreiche Sequenzen, die durch die Erzeugung von Disulfid-Brücken-Bindungen zwischen den einzelnen Glykoproteinen zur Bildung von bis zu 30 MDa schweren Makromolekülen beitragen können (Turner et al., 1999; Bell et al., 2001, 2003; Sheehan et al., 2004; Bansil und Turner, 2006).

Zum jetzigen Zeitpunkt sind bis zu 20 unterschiedliche Gene für die Expression humaner Muzine beschrieben (Rose und Voynow, 2006; Kim et al., 2012). Sie lassen sich in sezernierte und membrangebundene Muzine unterteilen (Perez-Vilar und Hill, 1999; Desseyn et al., 2008). Zu den sezernierten Muzinen zählen unter anderem MUC2, MUC5AC und MUC7 (Bobek et al., 1993; Gum et al., 1994; Li et al., 1998) und zu den membrangebundenen MUC1 und MUC4 (Gendler et al., 1990; Moniaux et al., 1999).

Die vorherrschenden Muzine im Magen des Menschen sind MUC1, MUC5AC und MUC6 (Reis et al., 1999; Pinto-de-Sousa et al., 2002). MUC1 wird sowohl im oberflächlichen Epithel und den Drüsenhälsen des *Fundus* und der *Kardia* wie auch in den Magendrüsen des *Fundus* und den Pylorusdrüsen exprimiert (Ho et al., 1993; Carrato et al., 1994; Pinto-de-Sousa et al., 2002). MUC5AC wird vom gesamten schleimproduzierenden Epithel des Mageneingangs und -körpers sezerniert (Audie et al., 1993; Reis et al., 1997), wohingegen MUC6 nur in den Nebenzellen des *Fundus* und in den Pylorusdrüsen des *Antrums* exprimiert wird (Ho et al., 1995; Bartman et al., 1998). Ähnlich wie beim Menschen wurden auch bei der Wachtel im Drüsenmagen die Muzine MUC1, MUC5AC und MUC6 und im Muskelmagen nur die Muzine MUC1 und MUC5AC nachgewiesen (Liman et al., 2010).

2.5.2 CD3 Rezeptor

Der CD3 Rezeptor ist ein aus mehreren, unterschiedlichen Polypeptidketten aufgebauter Proteinkomplex, der an der Oberfläche von T-Lymphozyten vorhanden ist. Er bildet zusammen mit dem T-Zell-Rezeptor (TCR) den TCR/CD3-Komplex, welcher der Aktivierung von T-Lymphozyten dient (Abbas et al., 2000).

Der TCR/CD3-Komplex der Säugetiere ist sehr gut untersucht. Er besteht aus sechs Proteinen, die für seine Funktion unverzichtbar sind (Ashwell und Klausner, 1990). Den $\alpha\beta$ oder $\delta\gamma$ TCR-Ketten, zuständig für die Bindung an antigenpräsentierende MHC-Komplexe, sind die drei Signaltransduktionseinheiten CD3 δ -CD3 ϵ , ein Heterodimer, CD3 γ -CD3 ϵ ,

ebenfalls ein Heterodimer und $\zeta\zeta$ -Ketten, ein Homodimer, angegliedert (Bonifacino et al., 1988; Hall et al., 1991).

Beim Huhn wird der CD3 Rezeptor nicht wie beim Säuger von drei Genen, sondern nur von zwei Genen CD γ/δ und CD ϵ kodiert. Die Sequenzierung des Vogel-Gens für die CD γ/δ -Kette legt allerdings nahe, dass das CD3 γ/δ -Gen ein Vorläufer der sich später entwickelnden Gene CD3 γ und CD3 δ des Säugers ist (Chen et al., 1986; Bernot und Auffray, 1991; Göbel und Fluri, 1997). Aus diesem Grund ist es wahrscheinlich, dass CD3 γ/δ die Rolle der beiden Untereinheiten CD3 γ und CD3 δ übernimmt (Bernot und Auffray, 1991; Göbel und Dangy, 2000). Insbesondere die interzellulären Signalmotive der CD3-Ketten sind sehr gut konserviert (Bernot und Auffray, 1991), was den Schluss nahelegt, dass die Signaltransduktion innerhalb der T-Lymphozyten beim Vogel und Säuger ähnlich abläuft.

Die Aktivierung der T-Lymphozyten kommt durch die Belegung des TCR mit einem antigenpräsentierenden MHC-Molekül zustande. Da aber die zytoplasmatischen Abschnitte des TCR sehr kurz sind und der CD3 Rezeptor wesentlich längere zytoplasmatische Anteile besitzt, vermittelt er die Antigenerkennung durch den TCR an die Zelle (Clevers et al., 1988). Dies geschieht initial hauptsächlich durch Phosphorylierung einer bestimmten Aminosäuresequenz („immunoreceptor tyrosine-based activation motif“ (ITAM)) der CD3 Ketten und des $\zeta\zeta$ Homodimers. Die Phosphorylierung löst eine Signalkaskade innerhalb der T-Lymphozyten aus und führt so letztendlich zu einem aktivierten T-Lymphozyten. (Viertlboeck und Göbel, 2008).

CD3-Rezeptor tragende T-Lymphozyten sind schon im Drüsenmagen des Huhnes nachgewiesen worden. Es sind drei verschiedene Lokalisationen beschrieben: in der *Lamina propria mucosae*, in der Nähe der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen und in Lymphozytenansammlungen in den tiefen Drüsen selbst, wobei die T-Lymphozyten ein Zentrum von B-Lymphozyten umgeben (Matsumoto und Hashimoto, 2000).

2.5.3 Immunglobulin A (IgA) und sekretorische Komponente (SC)

Immunglobuline sind Glykoproteine, die bei allen Kiefernäulern (*Gnathostomata*) zu finden sind (Litman et al., 1993). Alle Immunglobulinmonomere besitzen das gleiche Grundgerüst bestehend aus zwei leichten (L-Kette) und zwei schweren (H-Kette) Polypeptidketten, die über Disulfidbrücken verknüpft sind (Edelman, 1991). Sie haben eine Y-förmige Struktur (Abb. 3). Sowohl die leichten als auch die schweren Ketten haben an ihrem Amino-Ende eine variable Region (V-Region), die der Antigenbindung dient. Die konstante Region (C-Region) der H-Kette definiert den Isotyp des Antikörpers und legt die funktionellen Eigenschaften des Antikörpers fest (Murphy et al., 2009).

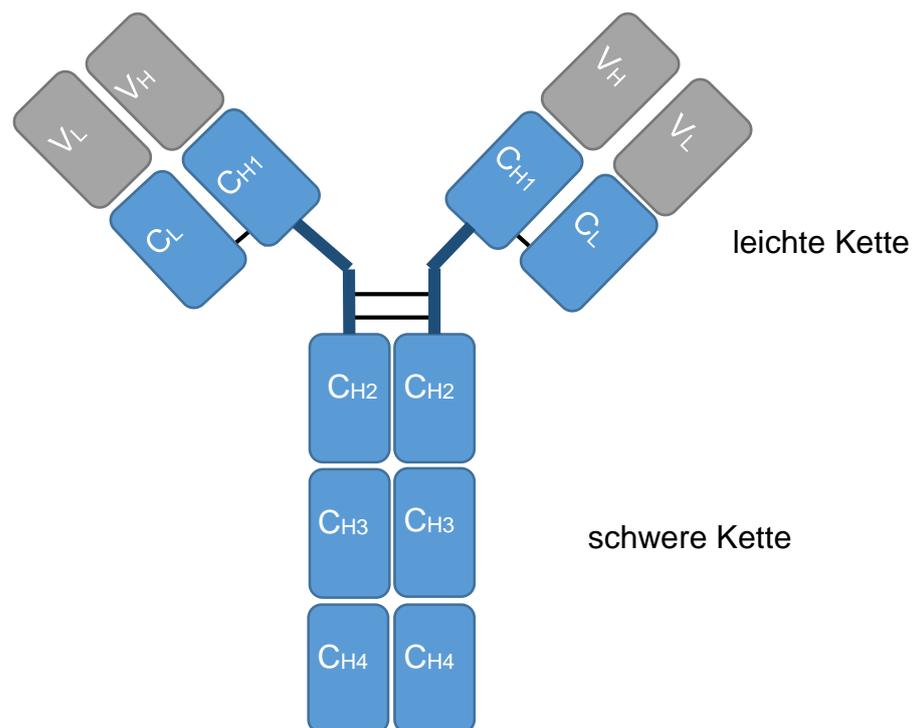


Abb. 3 Immunglobulinmonomer des Vogels (in Anlehnung an Murphy et al., 2009); V- variabler Abschnitt; C- konstanter Abschnitt; --SH₂-Brücken

Beim Säuger wurden verschiedene Immunglobulinklassen identifiziert und charakterisiert. Die fünf Hauptklassen an Antikörpern IgG, IgM, IgA, IgD und IgE

haben bestimmte strukturelle und funktionelle Eigenschaften, die sie von anderen Immunglobulinklassen abgrenzen (Murphy et al., 2009).

Beim Huhn sind bis zum jetzigen Zeitpunkt drei verschiedene Immunglobulinklassen nachgewiesen worden: IgY, IgM und IgA (Leslie und Clem, 1969; Bienenstock et al., 1972; Leslie und Martin, 1973; Tizard, 2002). Das Immunglobulin A des Huhns ist das vorherrschende Immunglobulin in der *Lamina propria mucosae* des Intestinaltraktes und in Zellen unterhalb der Epithelien, der Bronchen und des Ovidukts, sowie in der Galle (Lebacqz-Verheyden et al., 1972a, b). Mansikka (1992) hat mit Hilfe der DNA-Sequenzierung eine enge Verwandtschaft der α -H-Kette des Säugers und der α -H-Kette des Vogels nachgewiesen, dennoch sind in der Evolution nach Trennung der Vögel und Säuger einige Unterschiede entstanden. So besitzt die α -H-Kette des Huhns 4 C-Domänen und damit eine mehr als der Säuger, wobei die Vermutung nahe liegt, dass aus der C_{H2} Domäne des Huhns die *hinge-Region* des Säugers entstanden ist (Davison et al., 2008).

Der Transport der IgA-Moleküle des Säugers ins Lumen geht wie folgt von statten. Das IgA der Säuger ist ein Dimer, das durch eine J-Kette verbunden ist und an einen Rezeptor an der basalen Oberfläche der Epithelzellen bindet (Kerr, 1990). Der Rezeptor, die sekretorische Komponente (SC), wird in das IgA-Molekül integriert. Der IgA-Komplex (IgA-Monomere, J-Kette und SC) wird durch die Zelle transportiert und ins Lumen der Organe abgegeben (Brandtzaeg, 1974; Solari und Kraehenbuhl, 1984).

Das IgA des Huhns ist ein Trimer oder Tetramer, es besitzt ein Homolog zur J-Kette des Säugers und auch ein der sekretorischen Komponente entsprechendes Molekül wurde nachgewiesen (Watanabe und Kobayashi, 1974; Parry und Porter, 1978; Kobayashi und Hirai, 1980; Peppard et al., 1983). Insgesamt hat das IgA des Huhns wohl ähnliche Aufgaben wie das IgA des Säugers und ist hauptsächlich für die Abwehr an Schleimhäuten verantwortlich.

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchungsmaterial

Für die rasterelektronenmikroskopische, histologische und immunhistologische Untersuchung der postnatalen Entwicklung des Drüsen- und Muskelmagens wurden fünf adulte Hühner und 39 Küken verwendet. Die Proben der adulten Hühner stammten von weiblichen Legehybriden mit einem Mindestalter von 4 Monaten und wurden von der Versuchsstation für Tierhaltung, Tierzucht und Kleintierzucht „Unterer Lindenhof“ der Universität Hohenheim zur Verfügung gestellt. Die männlichen Küken einer Hybridlegerasse wurden von der A.C. Weiss GmbH in Kirchberg a. d. Iller bezogen. Die Küken wurden an ihrem ersten Lebenstag am Lehrstuhl für Anatomie und Physiologie der landwirtschaftlichen Nutztiere der Universität Hohenheim eingestallt und mit Kükenaufzuchtfutter und Wasser *ad libitum* bis zum Tag der Probennahme versorgt. Auch die adulten Hühner erhielten bis zum Zeitpunkt der Probennahme Futter und Wasser *ad libitum*. Die Probennahme erfolgte am ersten und dritten Lebenstag und nach der ersten, zweiten und dritten Lebenswoche (Tab. 1). Alle Tiere waren zum Zeitpunkt der Probennahme klinisch gesund.

Tab. 1 Probenmaterial

Alter der Tiere	1 Tag	3 Tage	7 Tage	14 Tage	21 Tage	>210 Tage
Anzahl der Tiere	8	8	8	8	7	5

3.2 Probennahme

Die adulten Hühner und die 14 und 21 Tage alten Küken wurden mit einer intramuskulären Injektion in den *M. supracoracoideus* mit Ketamin (Ursotamin® 100 mg/ml, Fa. Serumwerk Bernburg AG, Bernburg) und Xylazin (Rompun® 20 mg/ml, Fa. Bayer Vital GmbH, Leverkusen) in einer Mischspritze betäubt und

durch die Eröffnung der *Vv. jugulares* und der *Aa. carotides communes* entblutet (Tab. 2). Die Küken im Alter von einem Tag bis zu 7 Tagen wurden mit einer intramuskulären Injektion in den *M. iliotibialis* mit Ketamin (Ursotamin®) und Xylazin (Rompun®) in einer Mischspritze anästhesiert und ebenfalls durch Eröffnung der *Vv. jugulares* und der *Aa. carotides communes* entblutet (Tab.2).

Tab. 2 Anästhesieprotokoll

Alter der Tiere	1 Tag	3 Tage	7 Tage	14 Tage	21 Tage	>210 Tage
Ketamin (ml)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	1,5
Xylazin (ml)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	1,5

Nach Eintritt des Todes wurden die Tiere auf dem Rücken fixiert und bei den adulten Tieren die Federn im Thorax- und Abdomenbereich entfernt. Danach erfolgte ein Hautschnitt in der Medianen vom Ende des Brustbeins bis zur Kloake. Seitlich wurden zwei Entlastungsschnitte gesetzt und die Haut abpräpariert. Anschließend wurde die Bauchdecke mit einer Pinzette in der Medianen angehoben und durch einen Scherenschlag eröffnet.

Die Leibeshöhle wurde mittels einer Schere unter Fingerschutz in der Medianen eröffnet und durch zwei Entlastungsschnitte erweitert. In der Folge wurden die Rippen auf halber Höhe mit einer Schere bei den Küken oder einer Zange bei den adulten Tieren durchtrennt und das Brustbein nach kranial geklappt. Der nun deutlich sichtbare Muskelmagen wurde leicht angehoben und der davor befindliche Drüsenmagen aufgesucht. Dieser wurde mit einer Schere vom Ösophagus abgetrennt und auch der Muskelmagen wurde im Bereich des Pylorus mit einer Schere vom Duodenum getrennt.

Drüsen- und Muskelmagen wurden zusammenhängend aus dem Tierkörper entnommen und in körperwarmer PBS-Lösung (phosphat-buffered saline, pH 7,4) gespült. Unter PBS-Lösung wurden Drüsen- und Muskelmagen voneinander getrennt, wobei der *Isthmus gastris* am Drüsenmagen verblieb, und beide durch einen Längsschnitt eröffnet. Darauf folgte eine erneute Spülung in frischer, körperwarmer PBS-Lösung und bei den Proben für die

rasterelektronenmikroskopische Untersuchung zusätzlich eine Spülung in körperwarmer, physiologischer Kochsalzlösung, um den festhaftenden Schleim für die spätere Aufbereitung besser zu lösen.

Anschließend wurden die Proben in die unterschiedlichen Fixierungslösungen verbracht. Die für die Lichtmikroskopie bestimmten Proben wurden zum Teil für 24 h in Methanol/Eisessig 2:1 (M/E) (Mulisch und Welsch, 2010) und zum Teil für 48 h in Bouin'scher Lösung (Mulisch und Welsch, 2010) immersionsfixiert. Die Proben für die Rasterelektronenmikroskopie wurden teilweise auf Kork mit Hilfe von Injektionsnadeln aufgespannt und teilweise ohne weitere Bearbeitung über Nacht in 2,5 % Glutaraldehyd-Lösung (GAH) ebenfalls immersionsfixiert (Mulisch und Welsch, 2010).

3.3 Histologie

Nach der Fixierung in M/E oder Bouin'scher Lösung wurden die Proben in ca. 1x1 cm große Stücke geschnitten. Mit Hilfe des Gewebsinfiltrationsautomaten (TP 1020, Fa. Leica, Bensheim) wurden die Proben über 26 Stunden durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und anschließend mittels einer Paraffinausgießstation (EG 1160, Fa. Leica, Solms) in 60 °C warmen Paraplast® (Fa. Roth, Karlsruhe) eingebettet.

Nach Erkalten der Paraffinblöcke auf einer Kühlplatte konnten unter Verwendung eines Rotationsmikrotoms (RM 2135, Fa. Leica, Bensheim) 1-2 µm dicke Schnitte angefertigt werden und nach Streckung auf warmen Wasser auf Superfrost®-Objektträger (Fa. Langenbrinck, Emmendingen) bzw. Superfrost® adhäsiv-Objektträger (Fa. Langenbrinck, Emmendingen) (für immunhistologische Untersuchungen mit Mikrowellenbehandlung) aufgezogen werden. Anschließend wurden die Schnitte zur Trocknung in den Wärmeschrank verbracht. Danach wurden alle Schnitte, bevor sie verschiedenen Färbungen nach etablierten Protokollen des Instituts für Anatomie und Physiologie unterzogen wurden, in Xylol entparaffiniert und darauf folgend in einer absteigenden Alkoholreihe rehydriert.

Von jedem Block wurden drei Schnitte mit einem im Institut etablierten Protokoll mit Hämatoxylin/Eosin (H/E) angefärbt (Mulisch und Welsch, 2010) und von jeder Altersstufe je drei Schnitte der PAS (periodic acid schiff) Reaktion, zur Differenzierung komplexer Kohlenhydrate vor allem schleimsezernierender Zellen, unterzogen (Mulisch und Welsch, 2010). Die fertigen Präparate wurden mit Deckgläsern unter Verwendung von Entellan[®]-Klebstoff (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckelt.

3.4 Immunhistochemie

Der Nachweis von Antigenen bei den immunhistochemischen Untersuchungen wurde mit Hilfe der LSAB-Methode (Labelled-Streptavidin-Biotin-Methode) geführt (Ramos-Vara, 2005). Sie beruht auf der hohen Bindungsaffinität von Streptavidin zu Biotin, mit welcher die verwendeten Sekundärantikörper markiert wurden. Durch die Enzymmarkierung des Streptavidins mit einer Meerrettichperoxidase und anschließende Inkubation der Proben mit 3,3-Diaminobenzidin (DAB) entsteht ein brauner Farbkomplex, der den Bindungsbereich des verwendeten Primärantikörpers im Lichtmikroskop sichtbar macht. Die in dieser Arbeit verwendeten Primär- und Sekundärantikörper sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Zu Beginn erfolgte das Entparaffinieren in Xylol und die Rehydrierung in einer absteigenden Alkoholreihe. Bei Schnitten mit zusätzlicher Mikrowellenbehandlung (MUC2, MUC5AC und CD3) schloss sich diese direkt an die Rehydrierung an. Die Schnitte wurden dreimal für fünf Minuten in einer mit Zitratpuffer (10 mM, pH 6) gefüllten Küvette bei 700 Watt in einer Mikrowelle (NN-5256, Fa. Panasonic) erhitzt. Anschließend kühlten die Schnitte für 30 min ab und wurden dann durch dreimaliges Spülen mit *Aqua dest.* von den Resten des Zitratpuffers befreit. Nun erfolgte bei allen Schnitten die Neutralisierung der endogenen Peroxidase mit 10%-iger Wasserstoffperoxidlösung (H₂O₂), um falsch positive Ergebnisse und nachteilige Hintergrundfärbung auszuschließen.

Tab. 3 Übersicht über die verwendeten Antikörper

Antigen	Verdünnung des Primärantikörper	Immunogen	Wirt	Sekundärantikörper	Hersteller
MUC1 polyklonal	1:200	Humanes MUC1	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
MUC2 monoklonal	1:200	Humanes MUC2 (Klon M53)	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
MUC5AC monoklonal	1:200	Humanes MUC5AC/ gastric Mucin Ab-2 (Klon 1-13M1)	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
MUC6 monoklonal	1:100	Humanes MUC6 Ab-1 (Klon CLH5)	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
Chicken Immunoglobulin A monoklonal	1:300	Hühner IgA	Ziege	Anti-Ziege IgG, Kaninchen	GeneTex, Irvine, CA, USA
Sekretorische Komponente monoklonal	1:50	Humanes SC (Klon COMPO2)	Maus	Anti-Maus IgG, Kaninchen	Thermo Fisher Scientific, Fremont, USA
CD 3 monoklonal	1:300	AS 156-168 der humanen CD3ε-Kette	Kaninchen	Anti-Kaninchen IgG, Ziege	Abcam, Cambridge, UK

MUC: Muzin, CD: Cluster of differentiation

Durch 30-minütige Inkubation mit Pferdeserum, 1:10 verdünnt mit PBS, wurden unspezifische Bindungsstellen des Primärantikörpers blockiert. Nach erfolgter Vorbereitung der Schnitte wurde nun mittels einer Pipette der verdünnte Primärantikörper aufgebracht und über Nacht in einer Feuchtkammer (Fa. Shandon, Frankfurt a.M.) bei 5 °C auf den Schnitten belassen. Am nächsten Tag folgte die 30-minütige Inkubation mit dem passenden Biotin-markierten Sekundärantikörper und anschließend wurde für weitere 30 min die

Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Lösung (Fa. Millipore, Schwalbach) aufgebracht. Nun konnte die positive Antigen-Antikörper-Bindung mit Hilfe von DAB sichtbar gemacht werden, welches für mehrere Minuten je nach Antikörper unter Lichtausschluss auf den Schnitten belassen wurde. Zwischen allen beschriebenen Schritten erfolgte eine dreimalige Waschung der Schnitte für jeweils 5 min in PBS-Lösung. Abschließend wurde eine Gegenfärbung mit Hämalun (Mulisch und Welsch, 2010) durchgeführt und die Schnitte nach Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe mit Deckgläsern und Entellan® (Fa. Merck, Darmstadt) eingedeckelt.

Zur Positivkontrolle (K0) wurden Schnitte von Geweben mit einer bekannten positiven Reaktion bei den verwendeten Primärantikörpern herangezogen (Tab. 4). Als Negativkontrolle wurde bei je einem Schritt die Inkubation mit dem Primärantikörper (K1), dem Sekundärantikörper (K2) oder der Streptavidin-Meerrettichperoxidase (K3) unterlassen.

Tab. 4 Positivkontrollen

Antigen	Positivkontrolle
MUC1	Duodenum, Huhn
MUC2	Duodenum, Schwein
MUC5AC	Labmagen, Rind
MUC6	Labmagen, Rind
Chicken Immunglobulin A	Duodenum, Huhn
Sekretorische Komponente	Vagina, Schwein
CD3	Duodenum, Huhn

MUC: Muzin, CD: Cluster of differentiation

3.5 Rasterelektronenmikroskopie

Nach Fixation der Proben in GAH erfolgte zuerst eine dreimalige Spülung über jeweils 30 min in PBS-Lösung. Daran schloss sich die Dehydrierung der Proben durch eine aufsteigende Alkoholreihe nach etabliertem Programm des Instituts an, wobei die Proben zum Abschluss über Nacht bei 5°C in 100% Ethanol verweilten. Nach einer erneuten Spülung in 100% Ethanol wurden die Proben zum Trocknen in den Critical-Point-Dryer (Typ XPD 030, Fa. Bal-Tec AG,

Witten) verbracht. Das Trocknen erfolgte durch mehrmaliges Fluten der Probenkammer mit flüssigem Kohlenstoffdioxid (CO₂), welches das Ethanol aus dem Probengewebe verdrängt und letztlich vollständig ersetzt. Durch eine Temperaturerhöhung auf über 31 °C bei einem Druck von 72 bar geht das CO₂ von der flüssigen rasch in die gasförmige Phase über. Das CO₂-Gas kann nun kontrolliert abgelassen und die getrockneten Gewebeprobe entnommen werden. Da die Trocknung der Proben oberhalb des kritischen Punktes von CO₂ (31 °C und 73,8 bar) durchgeführt wird, kann eine Zerstörung der Proben durch die hohen Oberflächenspannungskräfte verhindert werden.

Danach wurden die Proben mit Hilfe eines Leit-C-Klebers (Fa. Neubauer, Münster) auf speziellen Probentellern (Fa. Agar Scientific Ltd., Essex) fixiert und über Nacht bei Raumtemperatur getrocknet. Am folgenden Tag wurden die Proben in einen Sputter-Coater (Typ SCD 050, Fa. Bal-Tec, Witten) überführt und unter möglichst reiner Argonatmosphäre mit Gold beschichtet. Der Beschichtungsprozess erfolgte jeweils viermal gerade und viermal schräg und wurde für jeweils 100 s bei einer Stromstärke von 40 mA aufrechterhalten, dabei betrug der Arbeitsabstand zwischen Target (Kathode) und Präparat (Anode) 5,5 cm. Bei Bedarf schlossen sich weitere Bestäubungsdurchgänge sowohl gerade wie auch schräge an.

3.6 Licht- und rasterelektronenmikroskopische Auswertung

Die Auswertung der histologischen und immunhistochemischen Präparate erfolgte an einem Lichtmikroskop des Typs Laborlux S (Fa. Leitz, Wetzlar). Die bildliche Dokumentation wurde mit Hilfe eines Mikroskops des Typs DMRD (Fa. Leica, Bensheim) mit angeschlossener Digitalkamera Typ DFC 420 C (Fa. Leica, Bensheim) in Verbindung mit dem angeschlossenen Bildbearbeitungsprogramm „Image Processing and Analysis“ und Adobe Photoshop® (Adobe Systems GmbH, München) durchgeführt.

Zur Ermittlung des Kutikuladurchmessers bei den untersuchten Altersstufen wurden nur unveränderte Abschnitte des Muskelmagens herangezogen, bei welchen die Drüsen im Schnitt längs getroffen wurden. Mit Hilfe des Programms

„Leica Application Suite“ Vers. 2.8.1 (Fa. Leica Microsystems CMS GmbH, Schweiz) wurden bei drei Tieren jeder Altersstufe an fünf unterschiedlichen Stellen Höhenmessungen durchgeführt. Aus den gemessenen Werten wurden für jede Altersstufe der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt.

Die Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Proben von Drüsen- und Muskelmagen erfolgte an einem Rasterelektronenmikroskop des Typs DSM 940 A (Fa. Zeiss, Oberkochen) mit angeschlossenem Personal Computer.

4 Ergebnisse

4.1 Histomorphologie

4.1.1 Drüsenmagen

Lichtmikroskopie

Die typischen Schichten des Magen-Darm-Traktes *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis* und *Tunica serosa* sind schon beim Drüsenmagen des einen Tag alten Kükens deutlich zu erkennen und bleiben während der postnatalen Entwicklung bis zum adulten Tier erhalten. Mit Ausnahme des Größenwachstums lassen sich zwischen dem Drüsenmagen des einen Tag alten Kükens und des adulten Huhnes in der H/E-Färbung keine morphologischen Unterschiede feststellen.

Das in Falten liegende, oberflächliche Epithel, das die Grenze zum Magenlumen markiert, stellt sich einschichtig, hochprismatisch dar. Die unregelmäßig auftretenden Erhebungen kennzeichnen die beliebig angeordneten Papillen des Drüsenmagens (Abb. 4). Bei den Falten handelt es sich um die Mündungen der einfachen, tubulären, oberflächlichen Drüsen des Drüsenmagens. Zwischen den Zellen des Oberflächenepithels und den Zellen der oberflächlichen Drüsen sind morphologisch in der H/E-Färbung keine Unterschiede auszumachen. Nur die Höhe der Zellen nimmt in Richtung des Fundus der oberflächlichen Drüsen von hoch- zu isoprismatisch ab. Der Zellkern der Epithelzellen hat im Schnitt eine ovale bis längliche Form und ist basal bis zentral gelegen. Die lumennahen Epithelzellen enthalten supranukleär stark PAS-positive Vakuolen, die Stärke der PAS-Reaktion nimmt in Richtung des Fundus der oberflächlichen Drüsen ab (Abb. 5).

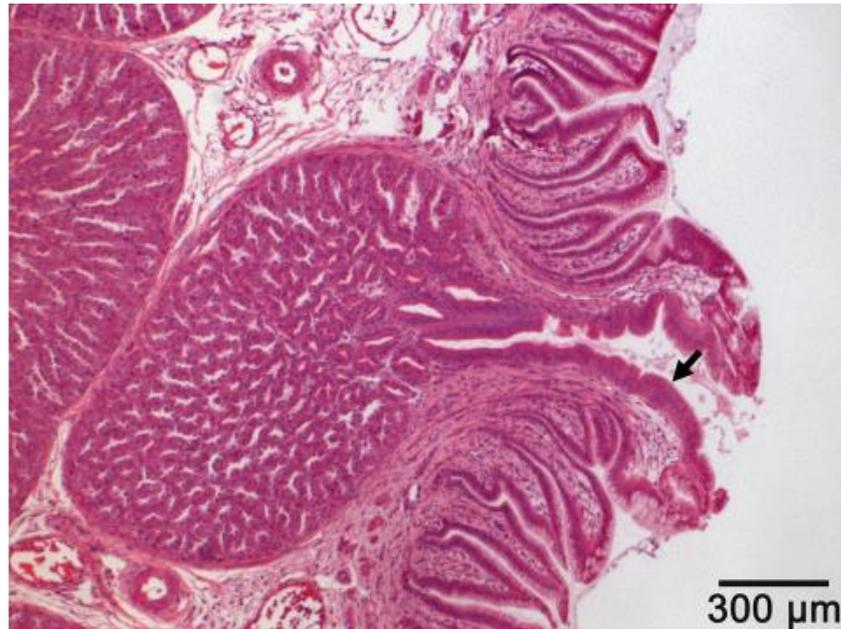


Abb. 4 Übersicht über den Drüsenmagen; 1. Lebensstag; tiefe Drüse mit Mündung des Ausführungsganges auf einer Papille; ↴ hochprismatisches Epithel des Ausführungsganges und der oberflächlichen Drüsen; H/E-Färbung

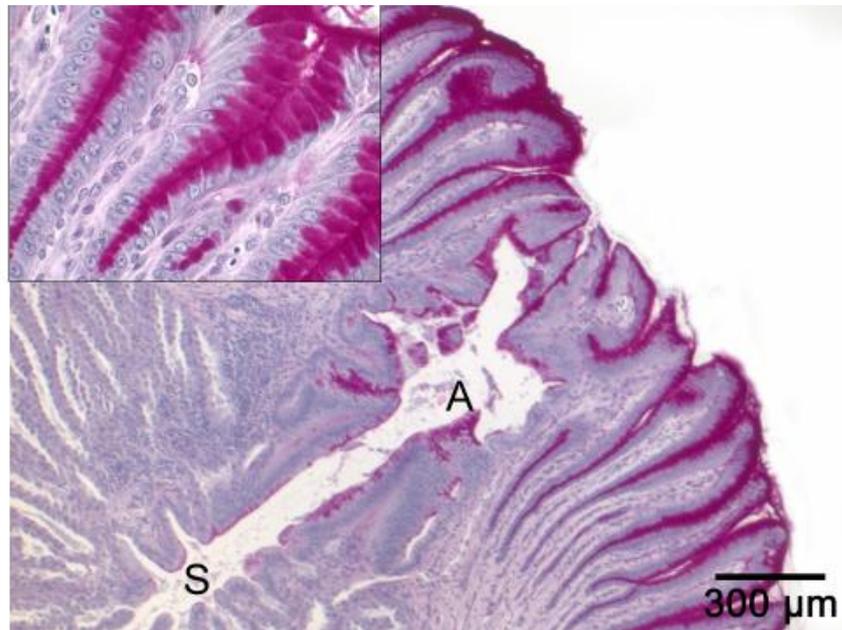


Abb. 5 *Tunica mucosa* des Drüsenmagens; 7. Lebensstag; Zellen des Oberflächenepithels stark PAS-positiv; Zellen des Ausführungsgangs (A) und des Sammelraums (S) moderat bis schwach PAS-positiv; Insert: Oberflächliches Epithel; supranukleär deutlich positive PAS-Reaktion der Epithelzellen; PAS-Reaktion

Die auf den wahllos verteilten Papillen endenden Ausführungsgänge der tiefen Drüsen besitzen ebenfalls hochprismatische, einschichtig angeordnete Zellen. Auch bei diesen Zellen ist der Nukleus oval bis länglich geformt und basal bis zentral gelegen. Oberhalb des Zellkerns finden sich PAS-positive Vakuolen, allerdings ist die positive Reaktion im Vergleich zum oberflächlichen Epithel etwas schwächer ausgeprägt. Der Sammelraum der tiefen Drüsen ist von iso- bis hochprismatischem, einschichtigem Epithel ausgekleidet und zeigt in der PAS-Reaktion ein schwächeres Reaktionsmuster wie das Epithel der Ausführungsgänge (Abb. 5).

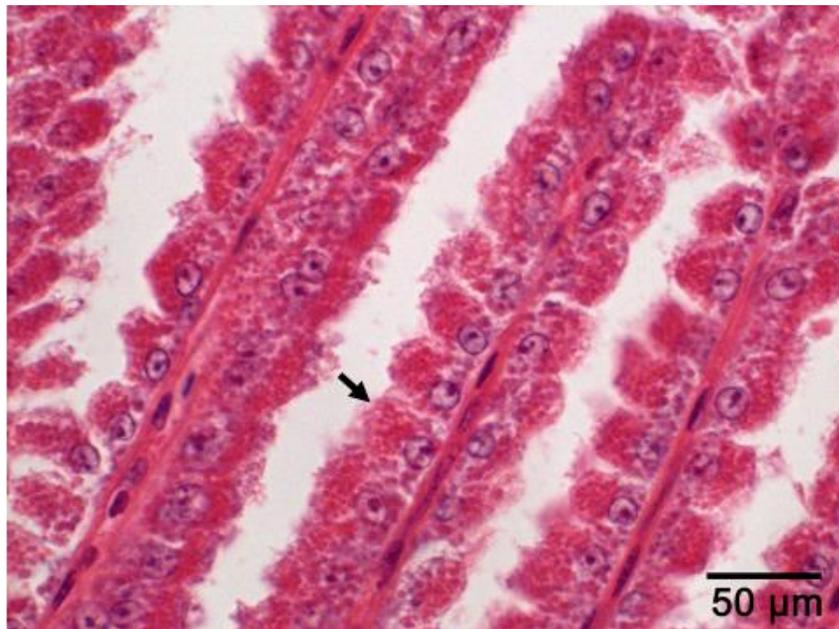


Abb. 6 Sägeblattoptik der tiefen Drüsen; adult;
↙ azidophile Vesikel im Zytoplasma der Drüsenzellen; H/E-Färbung

Die tiefen Drüsen selbst stellen sich als multilobuläre Drüsen dar, die aus mehreren *Lobi*, unterteilt durch feine Bindegewebssepten, aufgebaut sind und in einen gemeinsamen Sammelraum münden. Es ist nur eine einheitliche Art von Drüsenzellen zu ermitteln. Dabei handelt es sich um isoprismatische Zellen mit einem basal bis zentral gelegenen Zellkern von runder bis ovaler Form. Im Zytoplasma sind zahlreiche, azidophile Vesikel zu erkennen, wobei sie gehäuft in supranukleärer Lage zu finden sind. Die Drüsenzellen sind nur im basalen Bereich mit ihren Nachbarzellen verbunden, was ihnen im Zellverband ein

sägeblattartiges Aussehen verleiht und zu einer vergrößerten Oberfläche führt (Abb.6).

Zwischen den oberflächlichen und den, in der *Lamina propria mucosae* sitzenden, tiefen Drüsen sind vereinzelt Zellen von glatter Muskulatur auszumachen, welche sich zu längs verlaufenden, schwachen Muskelbündeln zusammengelagert haben. Sie bilden den ersten Anteil der *Lamina muscularis mucosae*. Außerdem sind in der H/E- Färbung innerhalb der *Lamina propria mucosae* zuweilen Ansammlungen von Lymphozyten zu entdecken, mit einer Häufung im Bereich der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen. Ebenso lassen sich solche Lymphozytenaggregate auch vereinzelt im Randbereich der tiefen Drüsen nachweisen.

Unterhalb der *Glandulae proventriculares profundae* befindet sich, wie auch oberhalb dieser Drüsen, eine sehr geringe Anzahl von längs verlaufenden glatten Muskelzellen. Dabei handelt es sich um den zweiten Anteil der *Lamina muscularis mucosae*. Daran schließt sich die *Tela submucosa* bestehend aus lockerem Bindegewebe an, gefolgt von der *Tunica muscularis* mit ihrer glatten Muskulatur. Die *Tunica muscularis* lässt sich in eine lumennahe, stärkere, zirkuläre und eine schwächere, lumenferne, longitudinale Schicht unterteilen. Den Abschluss des Organs zur Körperhöhle hin bildet die *Tunica serosa*. Sie ist mit kleinen Blutgefäßen durchzogen und weist stellenweise Einlagerungen von Fettzellen auf. Die Quantität des eingelagerten Fetts steigt mit zunehmenden Alter bis zum ausgewachsenen Huhn an.

Rasterelektronenmikroskopie

Mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops lassen sich insbesondere Oberflächenstrukturen sehr gut darstellen. Bei Aufsicht auf die luminale Oberfläche des Drüsenmagens sind die Papillen als deutliche Erhebungen auszumachen. Durch den schwierig zu entfernenden Schleim sind die Ausführungsgänge auf den Papillen nur schwer darzustellen. Die zirkulär um die Papillen verlaufenden Falten der Schleimhaut sind jedoch gut auszumachen (Abb. 7).

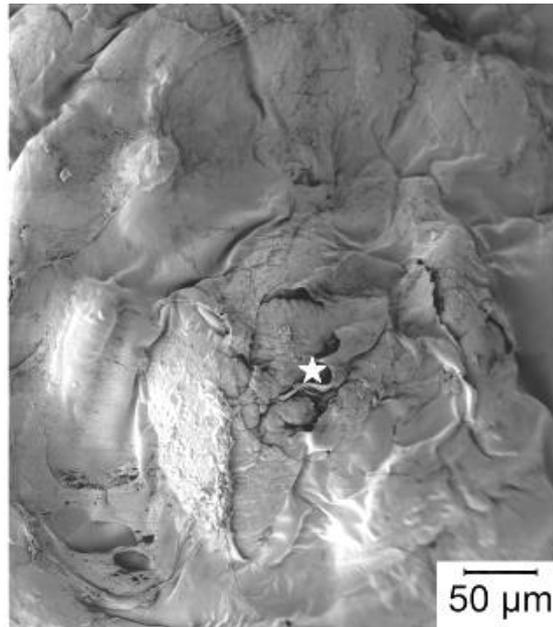


Abb. 7 Aufsicht auf eine Papille des Drüsenmagens; 14. Lebenstag; zirkulär verlaufende Falten um ★ die Mündung des Ausführungsgangs der tiefen Drüse; Mündung teilweise durch den zähen *Mucus* des Drüsenmagens verschlossen; REM-Aufnahme

In der Aufsicht auf einen Längsschnitt durch den Drüsenmagen sind die hochprismatischen Epithelzellen deutlich zu erkennen. Ihre seitlichen Zellgrenzen stehen von der Basis der Zellen bis zum Lumen in direkter Verbindung. Zwischen den oberflächlichen Epithelzellen und den Zellen, die die Ausführungsgänge der oberflächlichen und tiefen Drüsen auskleiden, lassen sich auch im rasterelektronenmikroskopischen Bild keine Unterschiede ausmachen. Abgesehen von ihrer hochprismatischen Gestalt zeichnen sie sich alle durch einen hexagonalen Querschnitt und kurze Mikrovilli auf ihrer Zelloberfläche aus (Abb. 8, 9).

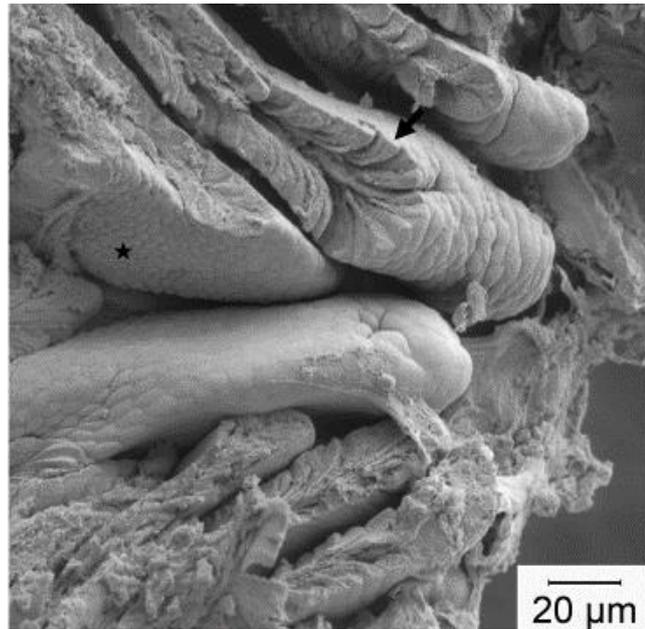


Abb. 8 Querschnitt durch einen Ausführungsgang einer tiefen Drüse des Drüsenmagens; 1. Lebenstag;
★ hexagonaler Grundriss der Epithelzellen erkennbar; ↖ im Anschnitt hochprismatische, einschichtige Anordnung der Epithelzellen; REM-Aufnahme

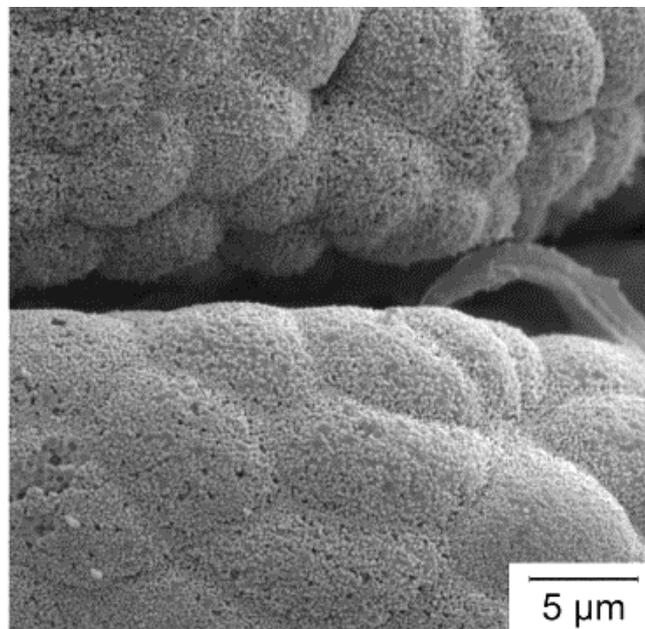


Abb. 9 Oberflächenepithel des Drüsenmagens; 1. Lebenstag;
Epithelzellen wölben sich ins *Lumen* vor und tragen Mikrovilli auf der Oberfläche; REM-Aufnahme

Die tiefen Drüsen stellen sich als stark verzweigte, multilobuläre Drüsen dar. Die Zellen der tiefen Drüsen stehen nur im basalen Bereich mit ihren Nachbarzellen in Verbindung. Im rasterelektronenmikroskopischen Bild wirken die feinen Bindegewebsfilamente mit ihren aufsitzenden Drüsenzellen dadurch wie die Körner einer Weizenähre (Abb. 10). Die Oberfläche der Drüsenzellen besitzt Mikrovilli, die im Vergleich mit den Mikrovilli der zuvor beschriebenen Epithelzellen länger erscheinen. Das Produkt der Drüsenzellen ist zwischen den einzelnen *Lobi* der Drüsen und im Sammelraum gut auszumachen. Das Epithel des Sammelraums der tiefen Drüse präsentiert sich in der Aufsicht ähnlich einer gefüllten Bienenwabe und zeigt einen hexagonalen Querschnitt. Auf seiner Oberfläche lassen sich ebenfalls kurze Mikrovilli erkennen. Die Aufsicht auf den Längsschnitt im Bereich der *Tunica muscularis* und der *Tunica serosa* lässt die für diese Schichten typischen Strukturen erkennen.

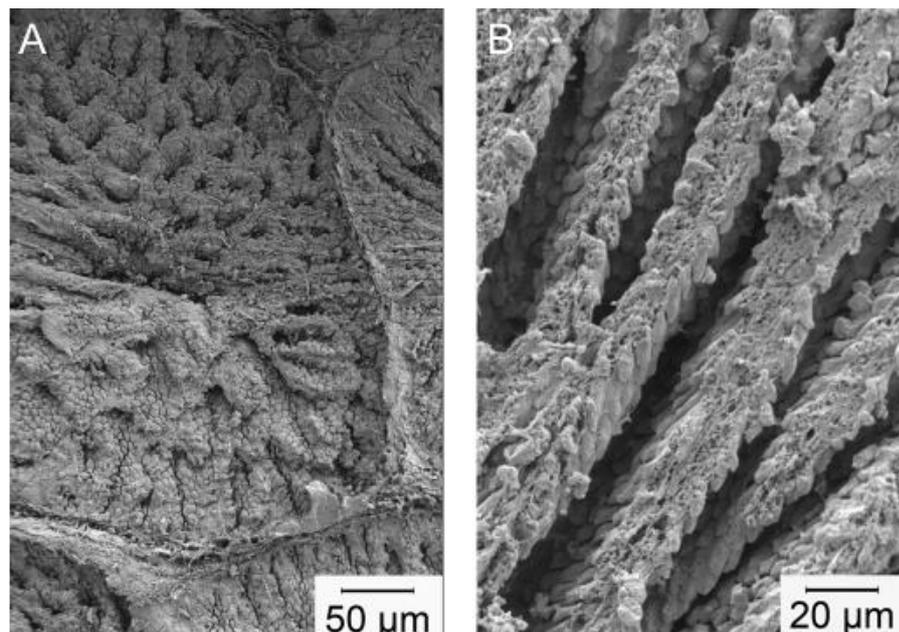


Abb. 10 Querschnitt der tiefen Drüsen des Drüsenmagens; REM-Aufnahme;
A: multilobuläre Drüsen; einzelne Drüsenpakete sind durch starke Bindegewebssepten voneinander abgeteilt; 1. Lebenstag;
B: tiefe Drüsenzellen; Ährenoptik; Drüsenzellen haben nur im basalen Bereich Verbindung mit der Nachbarzelle; adult

4.1.2 Muskelmagen

Lichtmikroskopie

Ebenso wie beim Drüsenmagen ist beim Muskelmagen die typische Schichtung des Magen-Darm-Traktes in *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis* und *Tunica serosa* vorhanden.

Vom *Lumen* aus betrachtet, fällt der Blick zuerst auf die Schutzschicht des Muskelmagens, die Kutikula. Ihr Querschnitt nimmt im Vergleich vom einen Tag alten Küken zum drei Tage alten Küken leicht ab, danach nimmt die Kutikula mit zunehmendem Alter an Größe zu (Abb. 11) und erreicht beim adulten Tier einen durchschnittlichen Durchmesser von 810 μm . In der H/E-Färbung stellt sie sich inhomogen, hellrosa, mit einem intensiver gefärbten lumennahen Saum dar. Die Kutikula des einen Tag alten Kükens erscheint im Vergleich mit der Kutikula älterer Tiere weniger kompakt und inhomogener. Bei den einzelnen Zellen, die innerhalb der Kutikula zu erkennen sind, handelt es sich vorwiegend um abgeschilferte Epithelzellen und einzelne Erythrozyten.

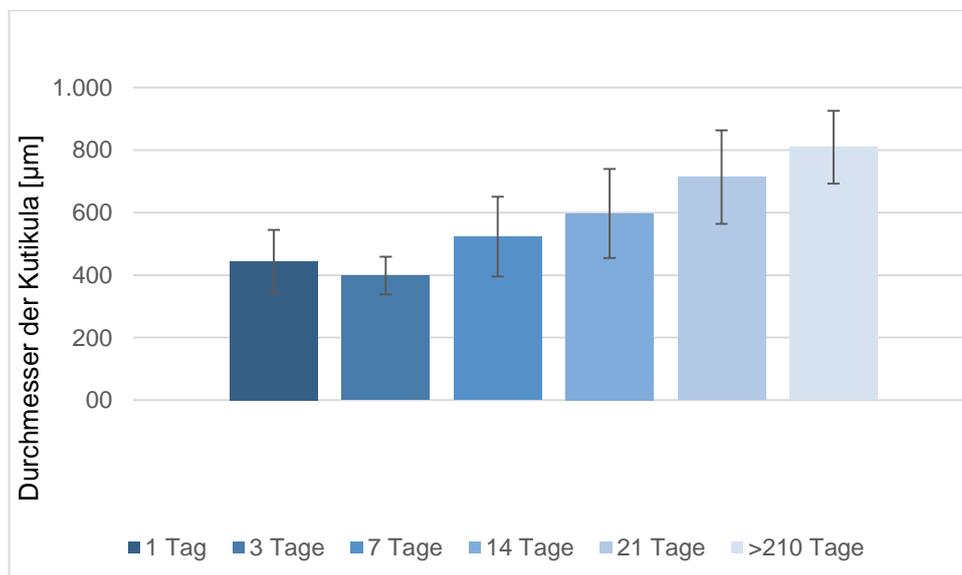


Abb. 11 Durchmesser der Kutikula in den verschiedenen Altersstufen; Dargestellt sind der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (Stabw.)

Auf die Kutikula folgt das einschichtige Oberflächenepithel mit den Mündungen der Ausführungsgänge der Drüsen des Muskelmagens. Die Drüsen, ebenso wie deren Ausführungsgänge, sind beim adulten Huhn mit einem einfachen, isoprismatischen Epithel ausgekleidet. Die Epithelzellen besitzen runde bis ovale, zentral liegende, dunkle Zellkerne und stellen sich alle einheitlich dar. Beim einen Tag alten Küken jedoch sieht man zwischen den beim adulten Tier beschriebenen einheitlichen Zellen einzelne, sich heller und etwas größer darstellende, Zellen. Diese Zellen zeigen einen im Vergleich helleren und größeren Zellkern und auch das Zytoplasma stellt sich heller dar. Beim drei Tage alten Tier treten diese Zellen nur noch sehr selten auf und im Alter von sieben Tagen sind sie gänzlich verschwunden (Abb. 12, 13, 14).

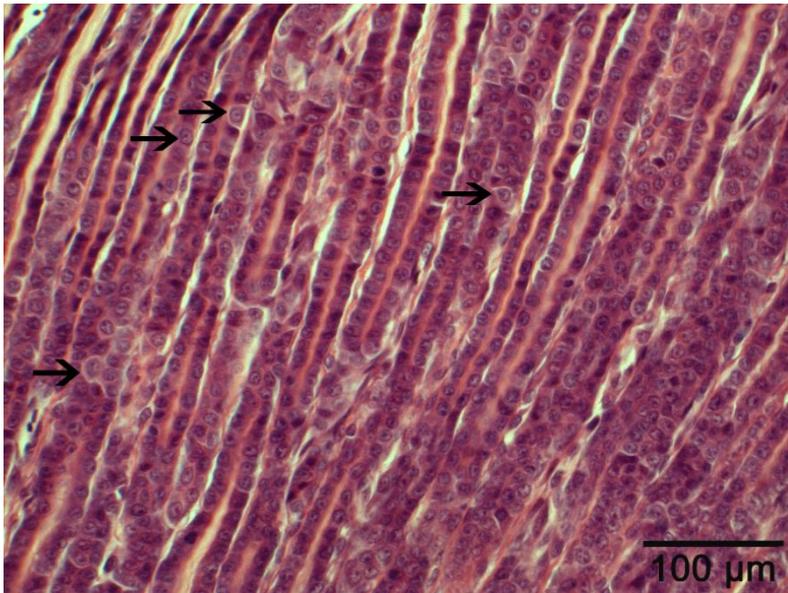


Abb. 12
Epithel der Muskel-
magendrsen
beim einen Tag
alten Küken;
↖ Viele hellere,
größere Zellen;
H/E-Färbung

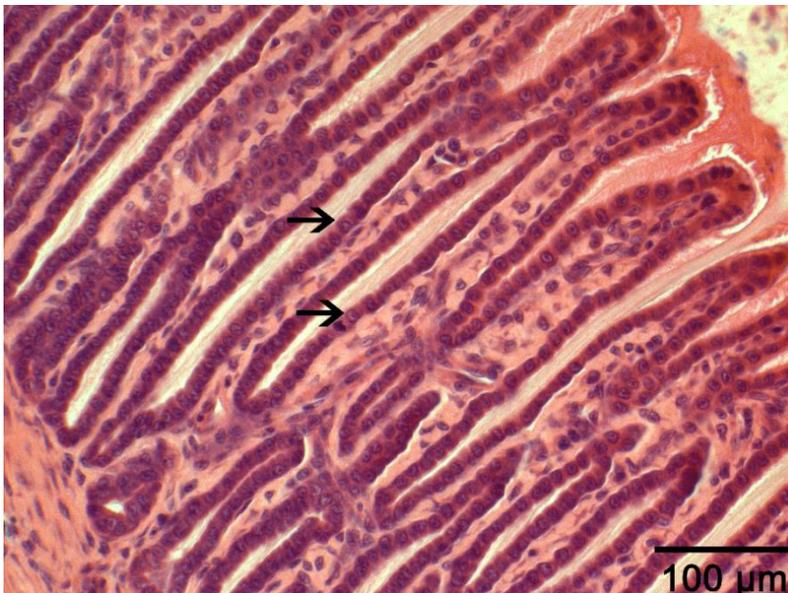


Abb. 13
Epithel der Muskel-
magendrsen
beim drei Tage
alten Küken;
↖ Wenige hellere,
größere Zellen;
H/E-Färbung

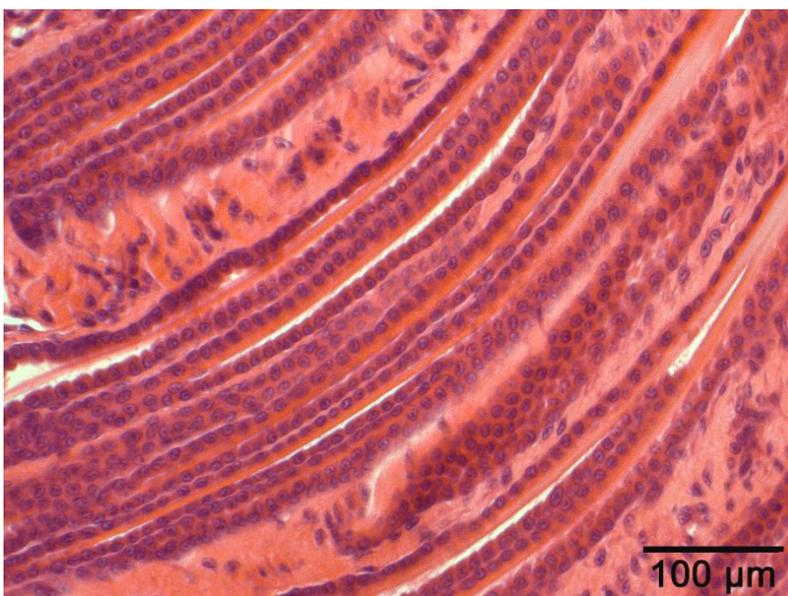


Abb. 14
Epithel der Muskel-
magendrsen
beim adulten
Huhn; einheitliche
Epithelzellen;
H/E-Färbung

Innerhalb der Ausführungsgänge der Drüsen ist das von ihnen gebildete, säulenförmige Koilin zu erkennen. In der PAS-Reaktion fällt auf, dass sich nur die oberflächlichen Epithelzellen supranukleär positiv anfärben lassen, während das Epithel der Ausführungsgänge sich negativ darstellt. Die in den Drüsen befindlichen vertikalen Koilinsäulen reagieren ebenfalls stark positiv auf die PAS-Reaktion. Das führt im weiteren Verlauf zu einer vertikalen Streifung der Kutikula, die in Richtung *Lumen* an Deutlichkeit verliert. Die horizontale Matrix der Kutikula zwischen den Koilinsäulen reagiert negativ bis schwach positiv auf die PAS-Reaktion (Abb. 15).

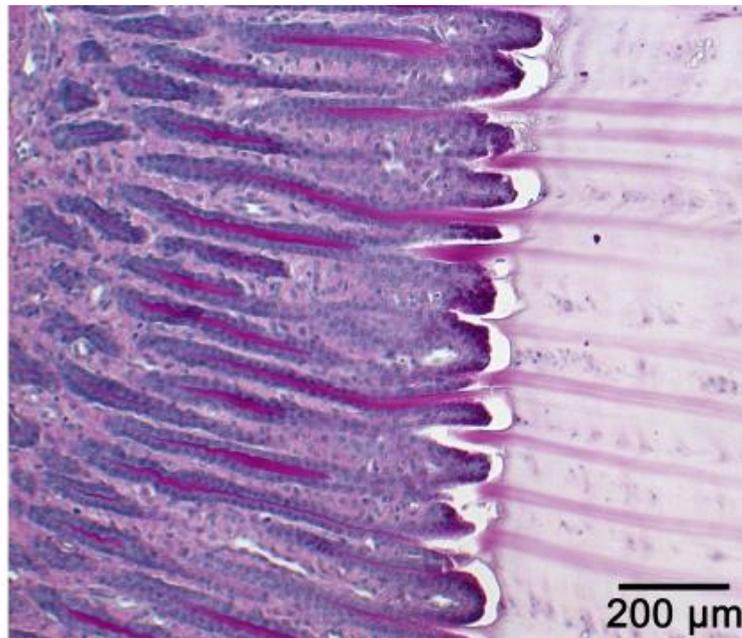


Abb. 15 Epithel des Muskelmagens mit Kutikula; 7.Lebenstag; deutlich PAS-positive vertikale Koilinsäulen innerhalb der Drüsen; Fortsetzung der vertikalen Streifung innerhalb der Kutikula; PAS-Reaktion

Auf die *Tunica mucosa* folgt die, aus kompaktem Bindegewebe aufgebaute, *Tela submucosa* mit zahlreichen, eingelagerten, kleinen Gefäßen. Danach zeigt sich die namensgebende Schicht des Muskelmagens, die sehr stark ausgebildete *Tunica muscularis*, zu einem Großteil bestehend aus glatten Muskelzellen. Die zu Muskelfaserbündel zusammengelagerten, glatten Muskelzellen sind durch Bindegewebssepten unterteilt, in welche Gefäße zur Versorgung der Muskulatur sowie vereinzelt auch Fettzellen eingelagert sind. Die dichtgepackten Muskelfaserbündel lassen keine eindeutige Aussage über

ihren Verlauf zu. Man trifft im Schnitt jedoch hauptsächlich auf schräg oder längs verlaufende Muskelfaserbündel.

Die *Tunica serosa* besteht ebenfalls aus Bindegewebe und zeigt mit zunehmendem Alter der Tiere eine gesteigerte Fetteinlagerung. Sie ist von zahlreichen Gefäßen unterschiedlichen Durchmessers durchzogen.

Rasterelektronenmikroskopie

Am Muskelmagen sind im rasterelektronenmikroskopischen Bild im Besonderen die Bereiche der Kutikula und der *Tunica mucosa* von Interesse.

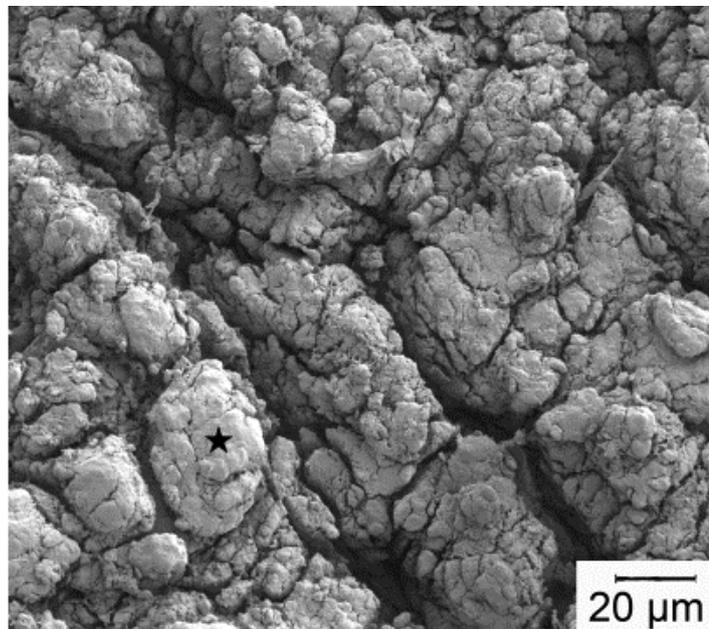


Abb. 16 Aufsicht auf die Kutikula des Muskelmagens; 14. Lebenstag; ★ Vertikale härtere Koilinsäulen im Wechsel mit poröser horizontaler Matrix; Ackerbodenoptik; REM-Aufnahme

Die Kutikula stellt sich in einer Aufsicht uneben und stark zerklüftet dar, ähnlich einem trockenen Stück Ackerboden (Abb. 16). Die vertikalen härteren Koilinsäulen sind gut von dem poröseren horizontalen Koilin zu unterscheiden. Interessant ist auch die Unterseite der Kutikula, die sich nach Ablösung vom Epithel als wabenförmige Oberfläche darstellt (Abb. 17). Das Epithel ohne Kutikula lässt die in der Tiefe sich verzweigenden Schlauchdrüsen des

Muskelmagens deutlich erkennen und findet in der Unterseite der Kutikula seinen Negativabdruck (Abb.18).

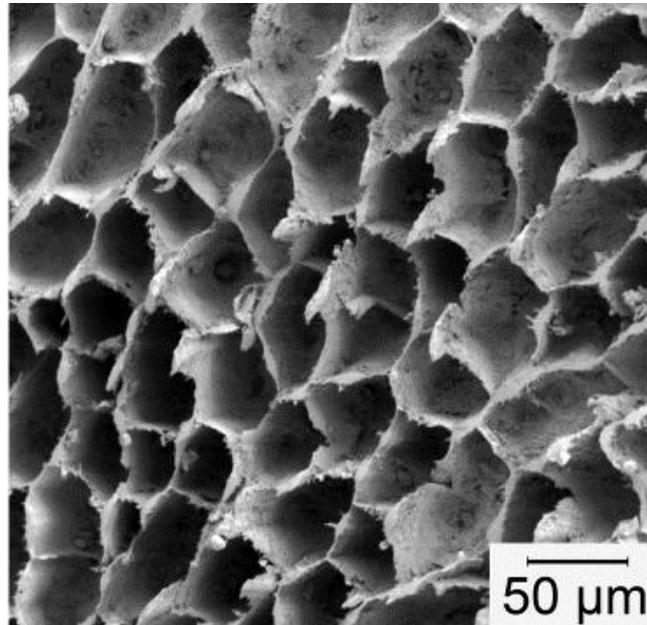


Abb. 17 Unterseite der abgezogenen Kutikula; 3. Lebenstag; Negativ-Abdruck des Oberflächenepithels mit Wabenstruktur; REM-Aufnahme

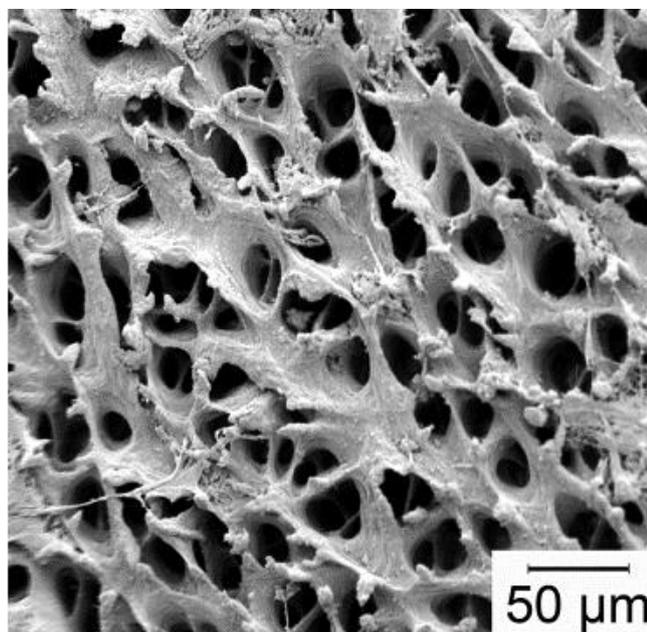


Abb. 18 Epitheloberfläche des Muskelmagens nach Entfernung der Kutikula; 3. Lebenstag; sich in der Tiefe verzweigende Schlauchdrüsen erkennbar mit vereinzelt Rückständen der Kutikula; REM-Aufnahme

Im Längsschnitt durch den Muskelmagen sind deutlich die vertikalen Koilinsäulen in den Ausführungsgängen der Muskelmagendrüsen zu erkennen (Abb. 19). Dabei fällt auf, dass der Grad der Organisation der Säulenstruktur und die Dichte in Richtung des Lumens zunehmen. Ebenso wie in der Aufsicht ist auch im Längsschnitt nachzuvollziehen, dass es sich bei den Drüsen um sich verzweigende Schlauchdrüsen handelt. Das Epithel dieser Drüsen stellt sich isoprismatisch dar, wobei es in Richtung der Kutikula an Höhe gewinnt. Die einzelnen Epithelzellen zeigen in der Regel einen hexagonalen Grundriss und sind dicht nebeneinander gelagert. Die zahlreichen Mikrovilli auf der Oberfläche der Epithelzellen verleihen der Epitheloberfläche ein annähernd raues Aussehen.

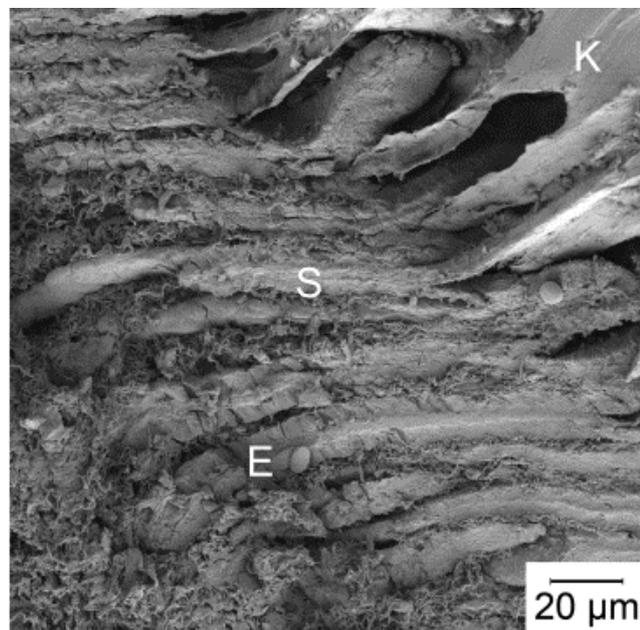


Abb. 19 Querschnitt durch den Muskelmagen im Übergangsbereich zwischen Epithel (E) und Kutikula (K); 1. Lebenstag; Vertikale Koilinsäulen (S) innerhalb der Ausführungsgänge der Muskelmagendrüsen; Grad der Säulenorganisation nimmt in Richtung Kutikula zu; REM-Aufnahme

4.2 Immunhistochemie

4.2.1 Muzine (MUCs)

Mit Hilfe der Immunhistochemie lassen sich der Drüsen- und der Muskelmagen auf die Lokalisation Muzin-produzierender Zellen untersuchen. Dadurch kann eine Übersicht über die Lokalisation der Zellen gewonnen werden, welche die einzelnen Muzine produzieren. In den folgenden Abschnitten wird die Lokalisation der Muzine MUC1, MUC2, MUC5AC und MUC6 beschrieben. Bei den getesteten Muzinen konnten zwischen den untersuchten Altersstufen keine wesentlichen Unterschiede im Expressionsmuster festgestellt werden.

MUC1

Um das Muzin 1 selektiv darstellen zu können, wurde ein polyklonaler Antikörper aus dem Kaninchen verwendet. Dadurch wurde deutlich, dass das MUC1 sowohl im Drüsenmagen, als auch im Muskelmagen vorkommt.

Im Drüsenmagen zeigen die Drüsenzellen der tiefen Drüsen die stärkste Reaktion auf den Antikörper (Abb. 20). Das Zytoplasma der Drüsenzellen weist eine deutlich positive Reaktion auf, während der Nukleus sich negativ darstellt. Die Epithelzellen des Oberflächenepithels und der Sammelräume der tiefen Drüsen zeigen eine schwache bis moderate Immunreaktion. Auch bei diesen Zellen erfolgt die positive Reaktion innerhalb des Zytoplasmas und spart den Zellkern aus.

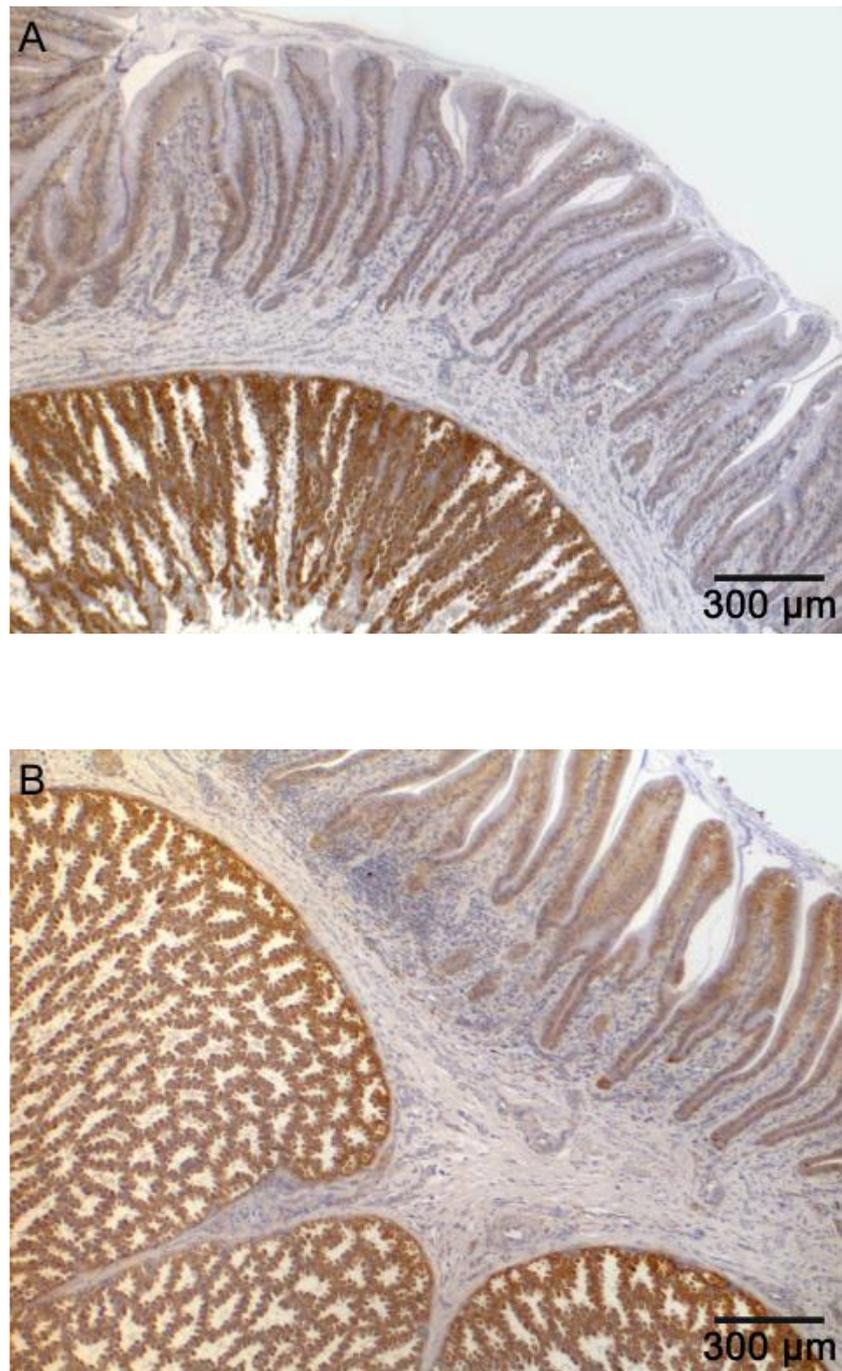


Abb. 20 Immunhistochemischer Nachweis von MUC1 am Drüsenmagen; Oberflächenepithelzellen moderat positiv markiert; tiefe Drüsenzellen deutlich positiv markiert; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun
A: 3. Lebenstag
B: 14. Lebenstag

Im Muskelmagen findet man im Halsbereich der tubulären Drüsen moderat bis deutlich positive Epithelzellen. Es fällt auf, dass im lumennah gelegenen Epithel, um den Mündungsbereich der Drüsen, keine positive Reaktion für MUC1 auszumachen ist (Abb. 21).

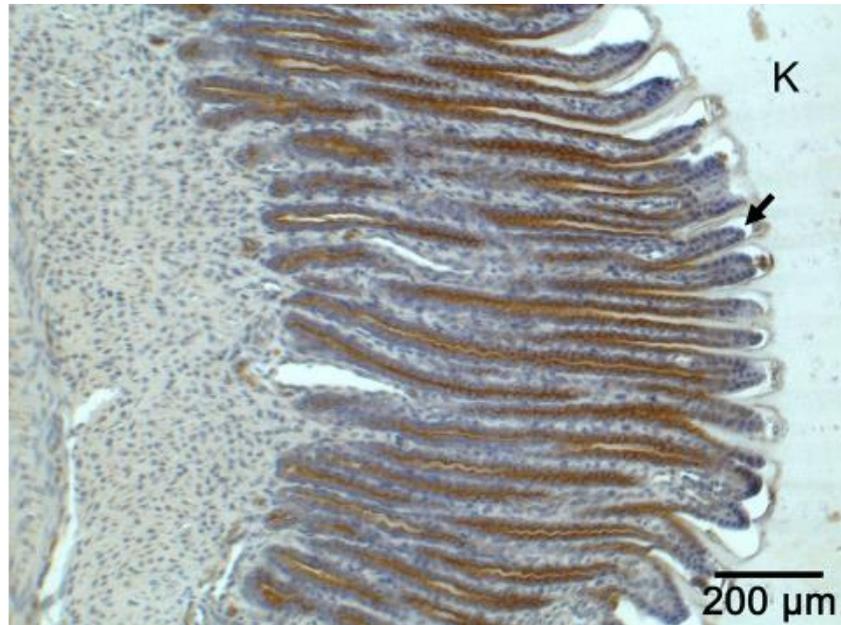


Abb. 21 Immunhistochemischer Nachweis von MUC1 im Epithel des Muskelmagens; 7. Lebenstag; Epithelzellen supranukleär positiv markiert für MUC1; ↖ lumennahe Zellen sind nicht markiert; Kutikula (K); DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

MUC2

Um den Nachweis für MUC2 im Drüsen- und Muskelmagen des Huhnes zu erbringen, wurde ein monoklonaler Antikörper aus der Maus verwendet. Dabei konnte festgestellt werden, dass innerhalb des Drüsenmagens kein MUC2 nachzuweisen ist. Im Gegensatz dazu konnten im Muskelmagen positive Immunreaktionen im Bereich des Epithels und im Bindegewebe der *Tunica muscularis* beobachtet werden.

Die Epithelzellen der Drüsen der *Tunica mucosa* des Muskelmagens zeigen eine positive Immunreaktion auf den Antikörper. Im Mündungsbereich der Drüsen kommt es zu einer moderaten Färbung der Zellen, in Richtung des Drüsenfundus nimmt die Reaktionsstärke zu und stellt sich im Schnittbild sehr deutlich dar. Die MUC2-positiven Zellen weisen im apikalen Kompartiment der

Zelle im Vergleich zum basalen Kompartiment eine gesteigerte Anfärbarkeit auf (Abb.22).

Im Bindegewebe der *Tunica muscularis* kommen vereinzelte MUC2 positive Zellen vor. Sie liegen häufig in der Nähe eines Blutgefäßes.

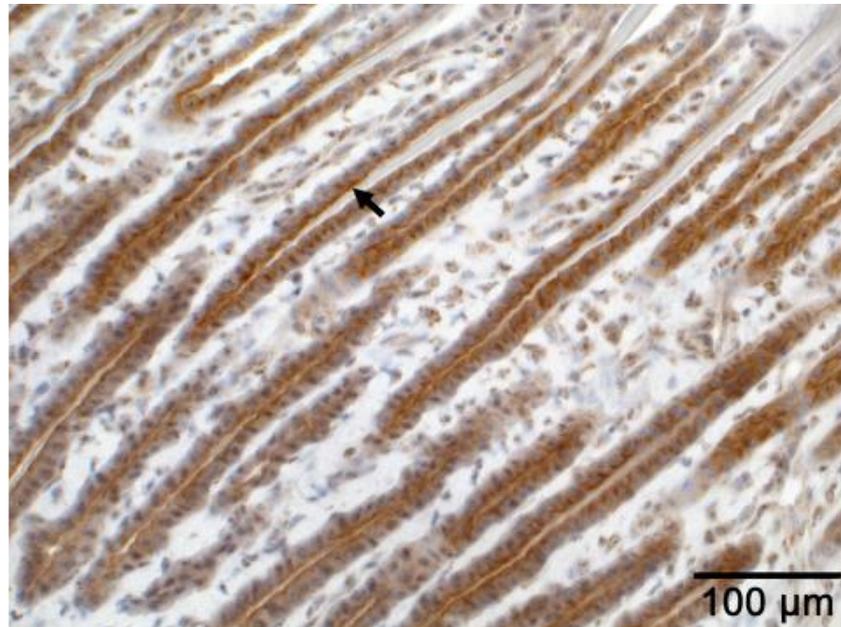


Abb. 22 Immunhistochemischer Nachweis von MUC2 im Epithel des Muskelmagens; 14. Lebensstag;
↖ apikales Kompartiment der Zellen stärker angefärbt als basales Kompartiment; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

MUC5AC

Zur Detektion MUC5AC produzierender Zellen wurde ein monoklonaler Antikörper aus der Maus eingesetzt.

Mit Hilfe dieses Antikörpers wurden im Drüsenmagen die Drüsenzellen der *Glandulae proventriculi profundae* als Produzenten von MUC5AC identifiziert. Dabei stellt sich das Zytoplasma der Drüsenzellen homogen positiv, der Zellkern jedoch negativ für MUC5AC dar (Abb. 23).

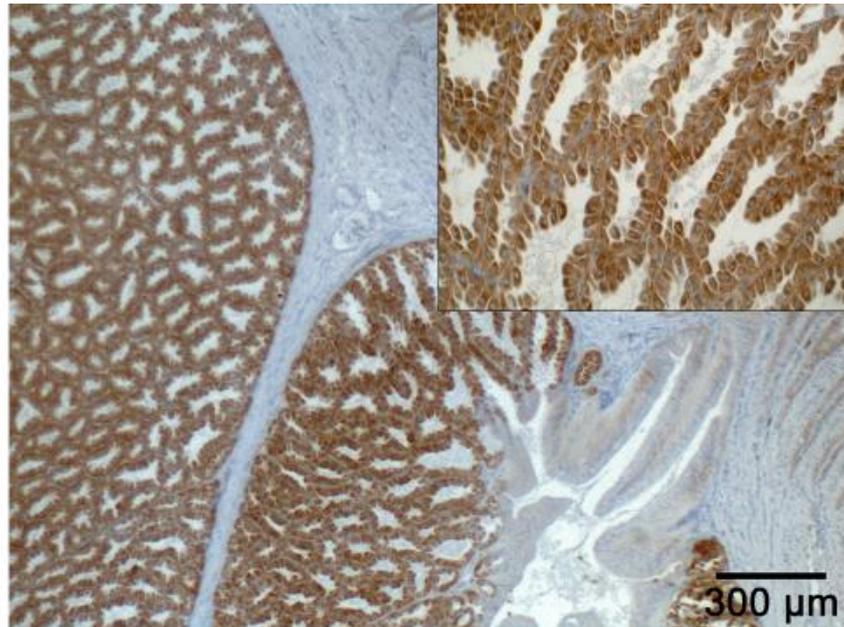


Abb. 23 Immunohistochemischer Nachweis von MUC5AC am Drüsenmagen; 7. Lebenstag; deutlich positive Reaktion der tiefen Drüsenzellen; Insert: das Zytoplasma der Drüsenzellen zeigt eine homogen positive Reaktion; Nuklei der Drüsenzellen sind negativ; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

Auch im Muskelmagen können MUC5AC-positive Zellen beobachtet werden. Dabei handelt es sich um die Zellen des oberflächlichen Epithels, wobei die immunhistochemische Anfärbbarkeit der Zellen im Verlauf von den Krypten zur Oberfläche hin nachlässt (Abb. 24).

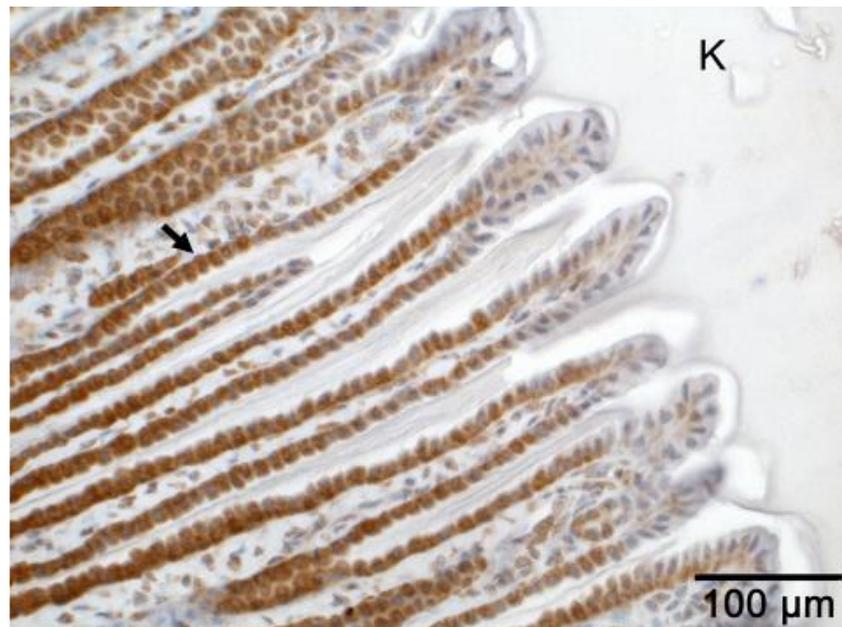


Abb. 24 Immunhistochemischer Nachweis von MUC5AC am Muskelmagen; 3. Lebenstag;
↙ positive Reaktion der Epithelzellen abnehmend in Richtung Kutikula (K); DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

MUC6

Das Muzin 6 kann nur im Drüsenmagen des Huhnes unter zu Hilfenahme eines monoklonalen Antikörper aus der Maus nachgewiesen werden.

MUC6 führt zu einer selektiven, geringen bis moderaten immunhistochemischen Reaktion der Zellen der tiefen Drüsen. Dabei färben sich kleine supranukleär gelegene Vesikel innerhalb des Zytoplasmas der Drüsenzellen positiv an. Die Zellen der Sammelräume, der Ausführungsgänge und das Oberflächenepithel sind negativ für MUC6 (Abb. 25).

Im gesamten Muskelmagen können keine MUC6 produzierenden Zellen gefunden werden.

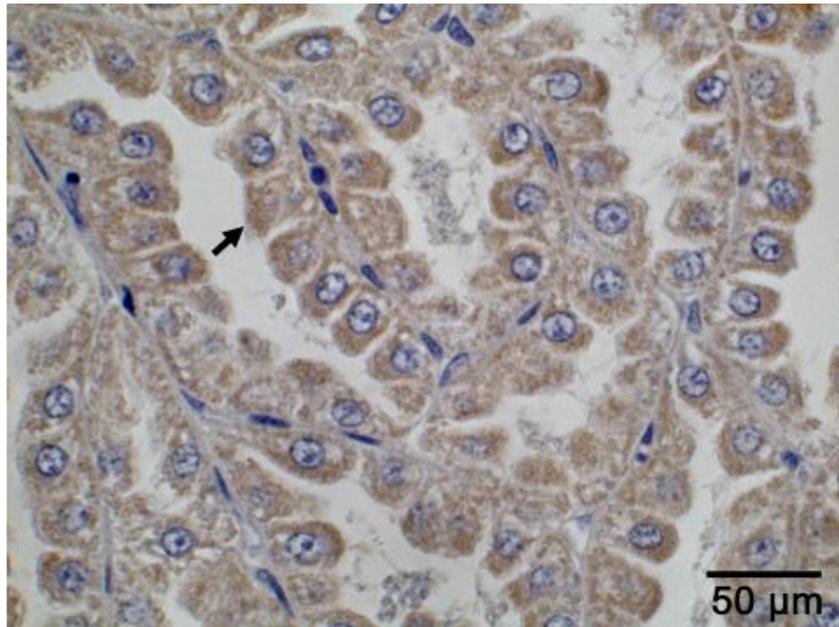


Abb. 25 Immunohistochemischer Nachweis von MUC6 in den tiefen Drüsen des Drüsenmagens; 7. Lebenstag; schwache bis moderate Reaktion der Drüsenzellen; ↖ vermehrt supranukleär gelegene positive Vesikel im Zytoplasma der Drüsenzellen, negativer Zellkern; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

4.2.2 CD3 Rezeptor

Mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers aus dem Kaninchen können im immunhistochemischen Präparat die CD3-Rezeptor-tragenden T-Lymphozyten sichtbar gemacht und von anderen Lymphozyten abgegrenzt werden. Die untersuchten Altersstufen zeigten auch bei diesem Antikörper keine unterschiedlichen Expressionsmuster.

Im Drüsenmagen findet man einzelne CD3-Rezeptor-positive Zellen in der *Lamina propria mucosae*. Auch innerhalb der tiefen Drüsen sind im Bereich der Bindegewebssepten einzelne T-Lymphozyten zu finden. Auffallend sind jedoch die follikulären Ansammlungen von T-Lymphozyten in der Nähe der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen und die T-Lymphozytenaggregate innerhalb der Bindegewebssepten der *Glandulae ventriculares profundae* nahe bei den Sammelräumen. Diese Beobachtungen haben ihre Entsprechung in den an gleicher Lokalisation erfassten Lymphozytenaggregaten in der H/E-Färbung (Abb. 26). Das legt den Schluss nahe, dass es sich bei den in der H/E-Färbung sichtbaren Lymphozytenansammlungen hauptsächlich um T-Lymphozyten handelt.

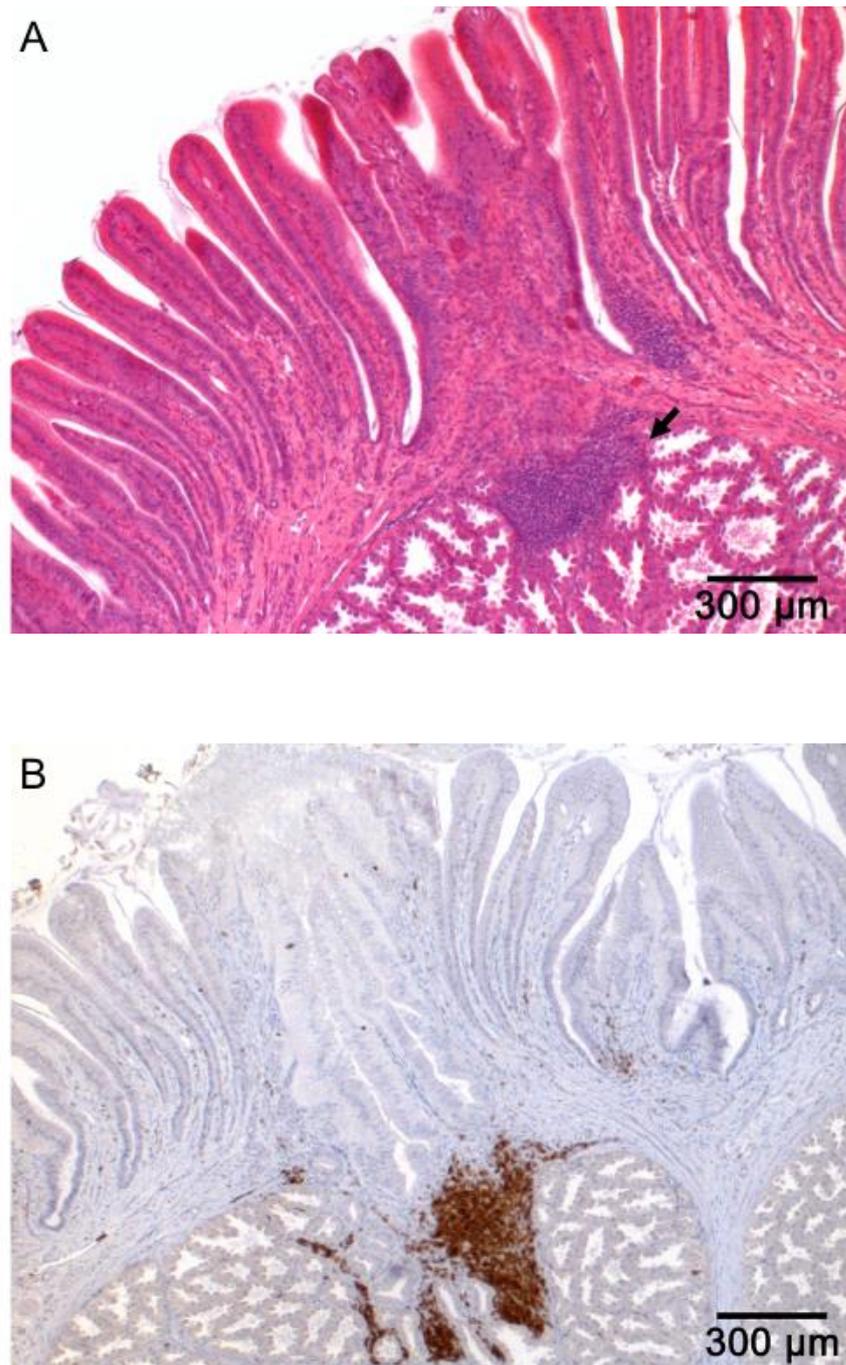


Abb. 26 Lymphozyten im Drüsenmagen; 14. Lebenstag;
A: ↖ Lymphozytenansammlung im Bindegewebe einer tiefen Drüse in der Nähe des Ausführungsgangs; H/E-Färbung;
B: CD3-Rezeptor markierte T-Lymphozyten im Drüsenmagen; T-Lymphozytenansammlung im Bindegewebe einer tiefen Drüse in der Nähe des Ausführungsgangs; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan

Im Muskelmagen findet man vereinzelte T-Lymphozyten innerhalb des Bindegewebes der *Lamina propria mucosae*. Zusätzlich sind in den Bindegewebssepten zwischen den Muskelfaserbündeln der *Tunica muscularis* einzelne T-Lymphozyten zu erkennen.

Bei allen angefärbten T-Lymphozyten stellen sich das Zytoplasma und im besonderen Maße die Zellmembran als stark positiv markiert dar (Abb. 27). Dieser Aufbau lässt sich durch die Lokalisation des CD3-Rezeptors auf der Oberfläche der Zellen und seiner Vorstufen innerhalb des Zytoplasmas erklären.

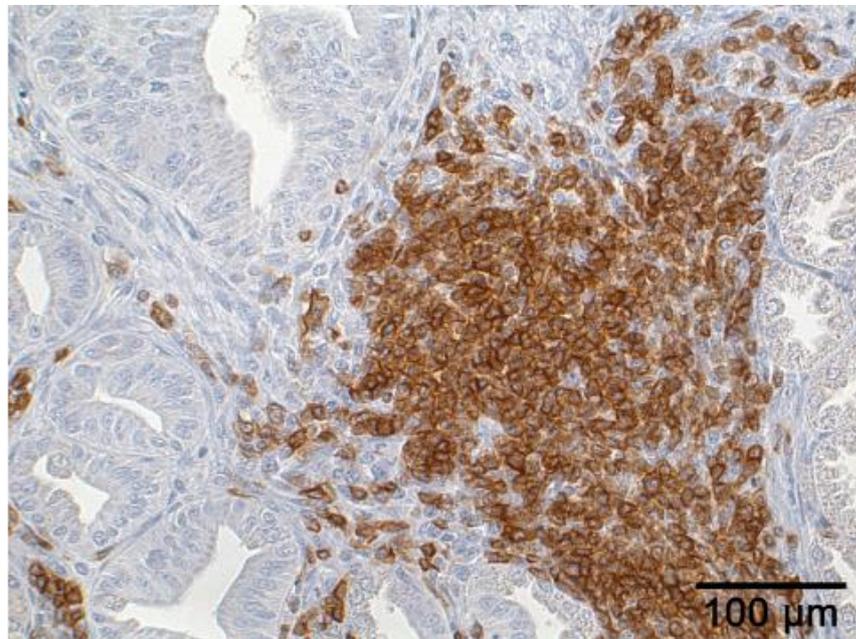


Abb. 27 T-Lymphozytenansammlung nahe eines Ausführungsgangs; 7. Lebensstag; durch den CD3-Rezeptor deutlich markierte Zellmembran der T-Lymphozyten; moderate Reaktion des Zytoplasmas; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

4.2.3 Immunglobulin A (IgA) und sekretorische Komponente (SC)

IgA

Unter Anwendung eines monoklonalen Antikörpers gegen das Immunglobulin A des Huhnes kann extrazelluläres und intrazelluläres IgA im Drüsenmagen des Huhns sichtbar gemacht werden.

Die Dichte an IgA-positiven Zellen ist innerhalb des Drüsenmagens relativ gering. Es sind jedoch einzelne IgA-positive Zellen an verschiedenen Lokalisationen auffindig zu machen. Vereinzelt liegende IgA-positive Zellen sind im Bereich des Bindegewebes zwischen den tiefen Drüsen des Drüsenmagens zu finden. Das Zytoplasma ist positiv für IgA, während sich der Zellkern dieser Zellen IgA-negativ darstellt (Abb. 28).

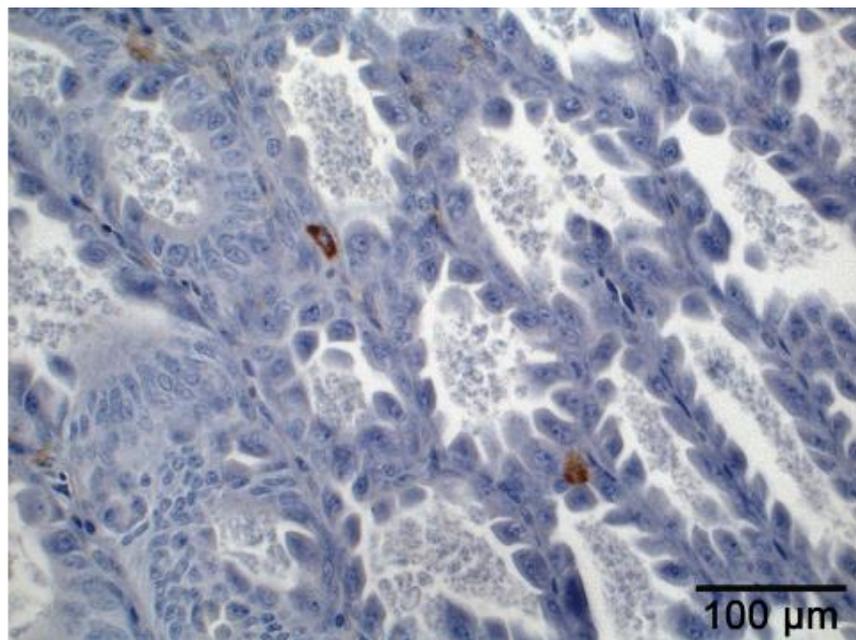


Abb. 28 Nachweis von IgA-produzierenden Zellen in den Bindegewebssepten der tiefen Drüsen des Drüsenmagens; 21. Lebenstag; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

Einzelne IgA-positive Zellen sind auch im Bindegewebe der *Lamina propria mucosae* darzustellen. Von diesen Zellen befinden sich manche direkt unterhalb der Epithelzellschicht. Ihr Zytoplasma zeigt eine unregelmäßige, positive Reaktion auf den Antikörper. Am Rand der schon früher beschriebenen

Lymphozytenaggregate sind einige wenige Zellen mit einer positiven Reaktion auf IgA zu detektieren (Abb. 29).

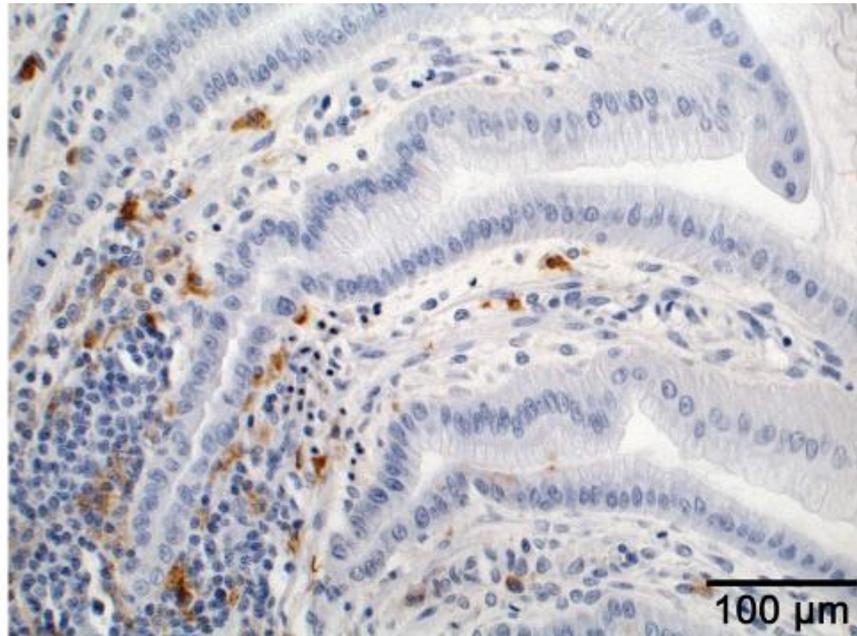


Abb. 29 IgA-positive Zellen in der *Lamina propria mucosae proventricularis*; 14. Lebenstag; einzelne positive Zellen im Randbereich einer Lymphozytenansammlung; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

In manchen Schnitten sind auch Epithelzellen in der Tiefe der Falten positiv für IgA. Nicht in jedem Präparat sind IgA-positive Epithelzellen zu finden, wenn sie jedoch auftreten sind immer mehrere in einer Falte zu detektieren. Ihr Zytoplasma lässt sich deutlich und homogen anfärben, der Zellkern ist negativ (Abb. 30).

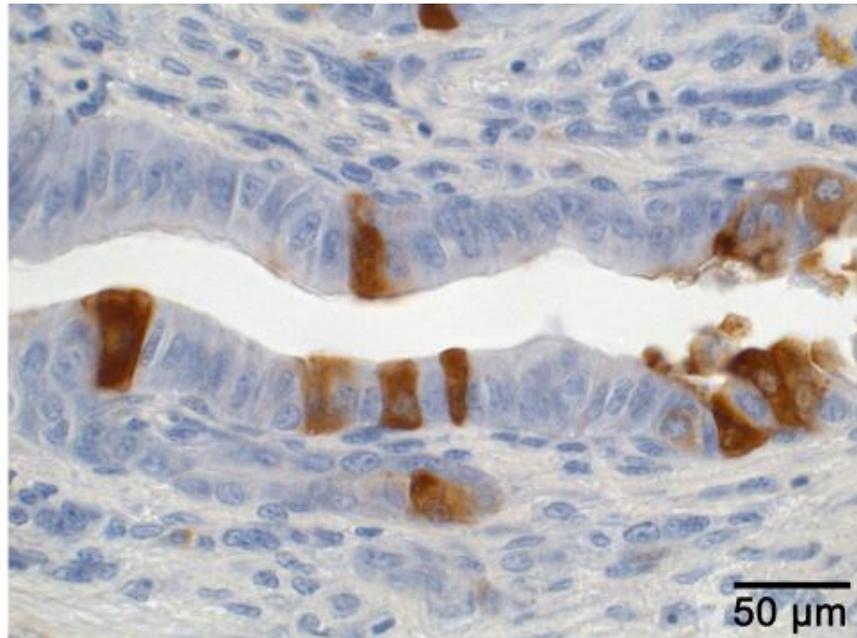


Abb. 30 IgA-markierte Epithelzellen im Faltenbereich des Oberflächenepithels; 21. Lebenstag; homogene Reaktion des Zytoplasmas der IgA-markierten Zellen, negativer Zellkern; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

Extrazelluläres IgA lässt sich hauptsächlich beim einen Tag alten Küken im Schleimüberzug des Epithels nachweisen. Mit zunehmenden Alter lässt die Intensität der Färbung des *Mucus* nach und schon beim sieben Tage alten Tier sind nur noch abschnittsweise, moderat positive Reaktionen festzustellen (Abb. 31, 32).

Im Muskelmagen sind mit diesem Testverfahren keine IgA produzierenden Zellen festzustellen.

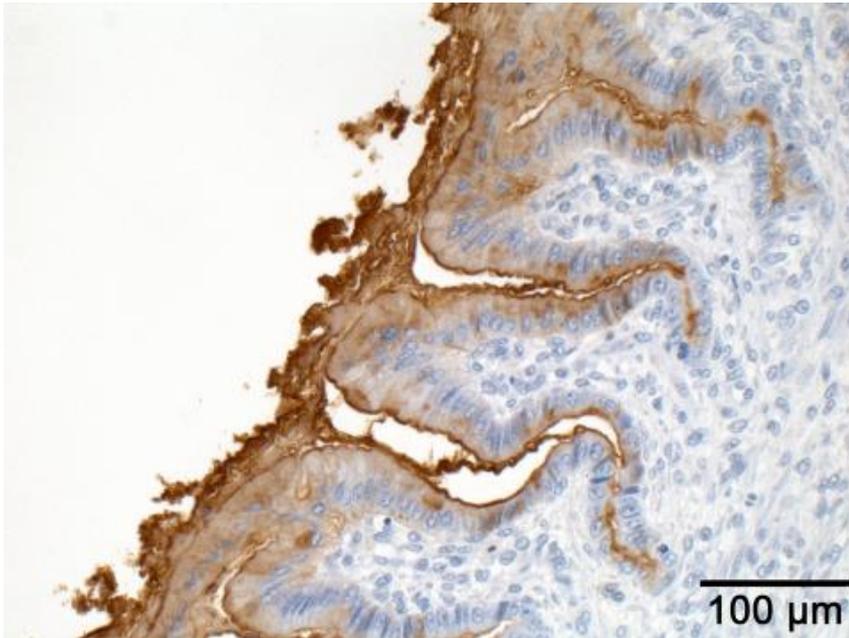


Abb. 31
Extrazelluläres
IgA im *Mucus*
des
Drüsenmagens
beim einen Tag
alten Küken;
DAB-Reaktion,
Gegenfärbung
mit Hämalaun

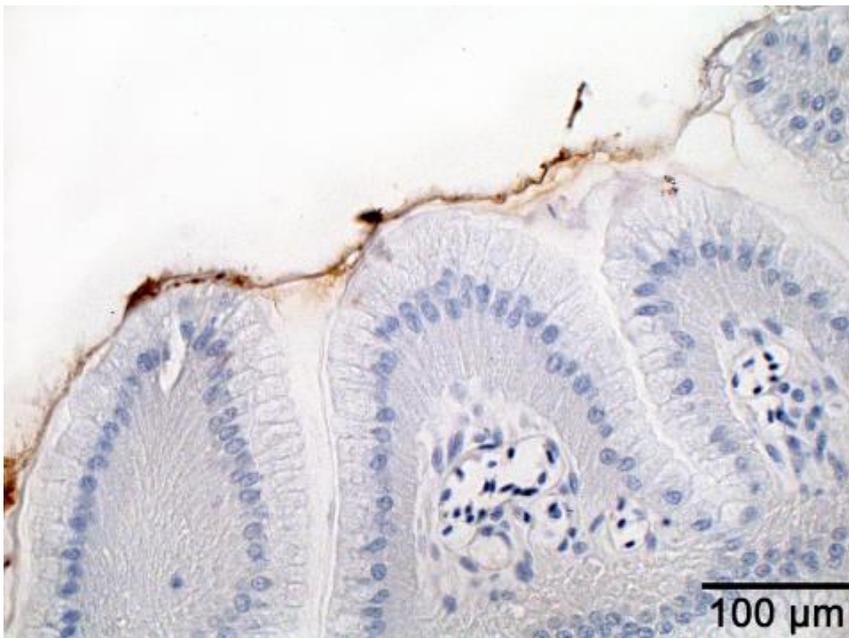


Abb. 32
Extrazelluläres
IgA im *Mucus*
des
Drüsenmagens
beim sieben
Tage alten
Küken; DAB-
Reaktion,
Gegenfärbung
mit Hämalaun

Sekretorische Komponente (SC)

Zur Lokalisation von Zellen, welche die sekretorische Komponente exprimieren, wurde ein monoklonaler Antikörper aus der Maus eingesetzt. Die SC lässt sich nur im Drüsenmagen und nicht im Muskelmagen nachweisen.

Im Drüsenmagen stellen sich die Zellen des Oberflächenepithels und die Epithelzellen der oberflächlichen Drüsen stark positiv dar. Dabei ist im

Besonderen zu erwähnen, dass sich der Anteil des Zytoplasmas oberhalb des Zellkerns intensiv anfärben lässt. Dies führt zur Entstehung eines deutlich braun markierten Randsaums. Der subnukleär gelegene Anteil des Zytoplasmas zeigt nur eine moderate Immunreaktion (Abb. 33).



Abb. 33 Nachweis der SC in den Zellen des Oberflächenepithels und im anhaftenden *Mucus*; 7. Lebenstag;
Insert: Intensive Reaktion des supranukleär gelegenen Zytoplasmas der Epithelzellen auf SC; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

Die auskleidenden Epithelzellen der Sammelräume der tiefen Drüsen sind ebenfalls positiv für SC. Sie bilden einen intensiv gefärbten Saum zum Sammelraum der tiefen Drüsen hin. Dieser entsteht, weil sich auch bei diesen hochprismatischen Zellen nur der apikale Saum der Zelle und der entsprechende Anteil der Zellmembran anfärben lassen. Das restliche Zytoplasma und der Zellkern stellen sich negativ dar (Abb. 34).

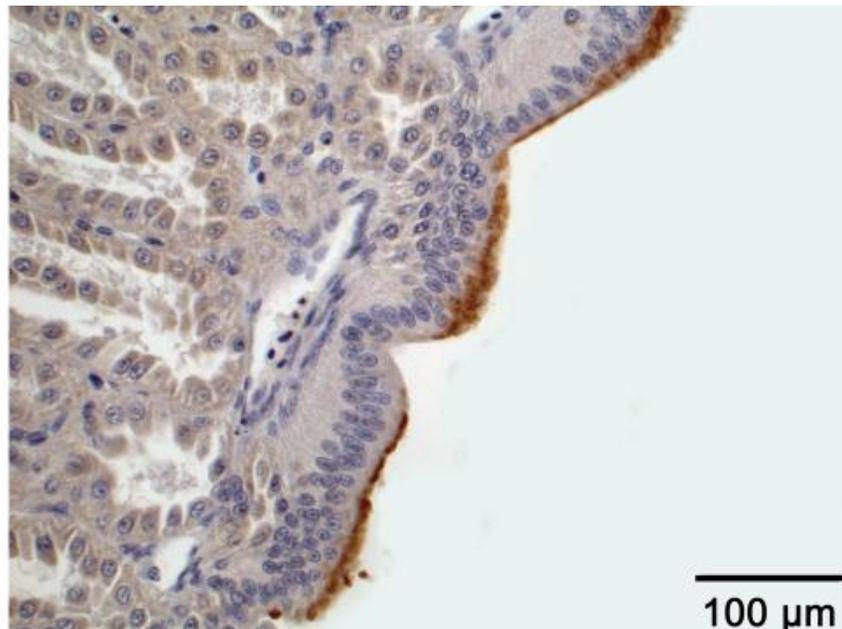


Abb. 34 Lokalisation der SC im apikalen Bereich der Epithelzellen eines Sammelraums im Drüsenmagen; 7. Lebenstag; Entstehung eines positiven Randsaums; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun

5 Diskussion

Der Drüsen- und der Muskelmagen des Huhns unterliegen wie viele andere Organe der Anpassung an die Flugfähigkeit. Aus diesem Grund übernimmt der Muskelmagen mit der Nahrungszerkleinerung weitestgehend die Aufgabe der fehlenden Zähne, um eine möglichst große Gewichtsersparnis zu erreichen.

Dieser Umstand hat schon früh dazu geführt, dass sich Anatomen und Histologen mit dem genauen Aufbau des Drüsen- und Muskelmagens beschäftigt haben. So beschreibt Cornselius schon im Jahr 1925 Morphologie, Histologie und Embryologie des Muskelmagens. Auch über die pränatale Entwicklung ist einiges bekannt, da sich das Ei mit dem enthaltenen Embryo für embryologische Studien geradezu anbietet. Die postnatale Entwicklung des Drüsen- und Muskelmagens des Huhnes ist hingegen nicht so gut dokumentiert. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit ein besonderes Augenmerk auf mögliche postnatale, histomorphologische Veränderungen gelegt. Außerdem wurde die Immunabwehr auf muköser und zellulärer Ebene, auch im Vergleich zum Säuger, untersucht.

Drüsenmagen

Histomorphologisch zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass die Entwicklung des Drüsenmagens beim Küken mit Ausnahme des Größenwachstums schon im Alter von einem Tag abgeschlossen ist.

Die einzelnen Schichten des Drüsenmagens lassen im Vergleich der untersuchten Altersstufen keine morphologischen Unterschiede erkennen. Das steht im Gegensatz zu der Entwicklung des Magens beim Säuger. Beim Schwein beispielsweise werden in der postnatalen Entwicklung deutliche Veränderungen in der Histomorphologie der Fundusdrüsen des Magens festgestellt. So ist es erst im Alter von drei Wochen möglich zwischen Hals, Drüsenmitte und Basis der Fundusdrüsen zu differenzieren (Scholl, 2004). Diese Unterschiede lassen sich hauptsächlich mit der besonderen Strategie der

Säuger, ihre Jungtiere mit Muttermilch zu ernähren, erklären. Die Untersuchung von Tamate et al. (1963) beim Kalb mit einerseits reiner Milchernährung und andererseits zusätzlichem Strukturfutter macht besonders deutlich, welche unterschiedlichen Anforderungen dabei an die verschiedenen Magenabteilungen gestellt werden und somit eine spezielle Anpassung erfordern. Das Küken macht im Gegensatz zum Säuger keine Umstellung von Muttermilch auf die Ernährungsweise des adulten Tieres durch, sondern ist von Schlupf an auf Körner und pflanzliche Nahrung adaptiert. Daher bedarf es, wie in dieser Arbeit deutlich wird, auch keiner Umstellung der Schleimhautverhältnisse.

Der postnatale Drüsenmagen bestand wie der gesamte Magen-Darm-Trakt aus den bekannten Schichten *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis* und *Tunica serosa*. Diese typische Schichtung wird auch von anderen Autoren (Mirabella et al., 2003; Kadhim et al., 2011) beschrieben. Allerdings lassen sich beim Embryo bis zum 20. Tag nur drei Schichten unterscheiden. Die schmale *Tela submucosa* lässt sich noch nicht als eigenständige Schicht abgrenzen (Ventura et al., 2013). Die Lokalisation der tiefen Drüsen wird von verschiedenen Autoren kontrovers beschrieben. In dieser Arbeit ließen sich die tiefen Drüsen zwischen der zweigeteilten *Lamina muscularis mucosae* in der *Tunica mucosa* lokalisieren. Ähnliche Beobachtungen machten auch die Autoren Ziswiler und Farner (1972), Hodges (1974) und Vollmerhaus und Sinowatz (2004). Im Gegensatz dazu siedelten Imai et al. (1991) und Martínez et al. (2000) die tiefen Drüsen innerhalb der *Tela submucosa* an.

Der ferner vorgefundene histologische Aufbau des Drüsenmagens gestaltete sich weitgehend wie schon von mehreren Autoren dargestellt (Černý, 1993; Vollmerhaus und Sinowatz, 2004). Ähnlich wie in der Beschreibung von Luppá (1962) wird das *Lumen* des Drüsenmagens von einem hochprismatischen, einschichtigen Epithel ausgekleidet, das sich auch in die, in den Falten liegenden, oberflächlichen Drüsen fortsetzt, in deren Tiefe jedoch etwas an Höhe verliert. Die auf den Papillen endenden Ausführungsgänge der tiefen Drüsen waren ebenfalls von einschichtigem, hochprismatischem Epithel ausgekleidet. Das rasterelektronenmikroskopische Bild der Papille ist mit dem histologischen Querschnitt durch eine Papille vergleichbar (Kadhim et al.,

2011). Im rasterelektronenmikroskopischen Präparat stellte sich, übereinstimmend mit den Untersuchungen von Lim und Low (1977) und Joos (2007), das Oberflächenepithel einschichtig, hochprismatisch dar. Zusätzlich waren der dreidimensionale, hexagonale Grundriss der Zellen und die leichte Vorwölbung ins *Lumen* erkennbar. Außerdem konnte ein Mikrovillisaum auf ihrer Oberfläche ergänzend festgestellt werden. Auch die Epithelzellen der Ausführungsgänge wiesen einen ähnlichen, hexagonalen Grundriss auf und trugen ebenfalls Mikrovilli auf ihrer Oberfläche. Die tiefen Drüsen stellten sich beim Huhn multilobulär dar, im Gegensatz zu den einfachen Drüsen der Ente und der Taube (Michel, 1971). Die kleinen, azidophilen Vesikel in den „oxynticopeptic cells“ beinhalteten vermutlich die gespeicherte Salzsäure und das Pepsinogen. Als Pendant beim Säuger sind sowohl bei der Haupt- als auch der Belegzelle eine feine Körnung des Zytoplasmas beschrieben worden (Scholl, 2004). Die Drüsenzellen waren nur im basalen Bereich mit ihrer Nachbarzelle verbunden und erhielten so eine größere Oberfläche zur Abgabe von Salzsäure und Pepsinogen. Diese besondere Gestalt der tiefen Drüsenzellen konnte mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie nochmals verifiziert werden und findet auch in den lichtmikroskopischen Beobachtungen von Chodnik (1947) ihre Bestätigung.

Im Zuge der Aufbereitung der Proben für die Rasterelektronenmikroskopie fiel die festhaftende Schleimschicht auf der Oberfläche des Drüsenmagens auf, die sich nur unvollständig entfernen ließ und besonders fest im Bereich der auf den Papillen mündenden Ausführungsgänge der tiefen Drüsen haftete. Diese Schleimschicht ist im extrem sauren Milieu des Drüsenmagens mit einem pH-Wert von 1,8 bis 4,8 (Herpol und van Grembergen, 1967 a, b; Denbow, 2000) von besonderer Bedeutung, um einer Verdauung beziehungsweise einer Ausfällung der Proteine des Drüsenmagens vorzubeugen. Auch im lichtmikroskopischen Bild konnte der mukoide Schleim deutlich in der PAS-Reaktion dargestellt werden. Das lieferte einen wichtigen Hinweis auf eine Zusammensetzung aus komplexen Kohlenhydraten (Mulisch und Welsch, 2010) wie sie im Schleim oftmals anzutreffen ist. In der PAS-Reaktion stellten sich das Oberflächenepithel, das Epithel der Ausführungsgänge und das auskleidende Epithel der Sammelräume ebenfalls positiv dar. Allerdings war die

Reaktion der Sammelräume weniger stark ausgeprägt. Somit sind für die Produktion des schützenden Schleims die Epithelzellen als hauptverantwortlich zu benennen. Die variable Stärke der Reaktion wiederum spricht für eine divergierende Zusammensetzung des Schleimüberzuges an den verschiedenen Lokalisationen und für eine unterschiedlich starke Schleimproduktion. Diesen Schluss lassen auch die Untersuchungen von Hauke (1987) an der japanischen Wachtel zu.

Mit Hilfe der immunhistochemischen Untersuchung des Drüsenmagens auf die Muzine 1, 2, 5AC und 6 konnte die Zusammensetzung der Schleimschicht genauer charakterisiert werden. Beim gesunden Huhn ließen sich MUC1, MUC5AC und MUC6 in unterschiedlichen Lokalisationen im Drüsenmagen nachweisen. Diese drei Muzine sind auch im gesunden Magen des Menschen anzutreffen (Ho et al., 1995). In Bezug auf die Lokalisation dieser Muzine ergaben sich jedoch einige Unterschiede.

MUC1 wurde beim Huhn in den Drüsenzellen der tiefen Drüsen, den „oxynticopeptic cells“, und in weniger starkem Maße von den Epithelzellen des Oberflächenepithels und der Ausführungsgänge sezerniert. Dies findet seine Entsprechung im Drüsenmagen der Wachtel. Auch hier lässt sich MUC1 hauptsächlich in den „oxynticopeptic cells“ und nur schwach in der Tiefe der oberflächlichen Zellen nachweisen (Liman et al., 2010). Beim Menschen ließ sich MUC1 im Gegensatz dazu hauptsächlich im Oberflächenepithel und nur schwach in den Haupt- und Belegzellen detektieren (Carrato et al., 1994). Bei für MUC1 defizienten Mäusen wurde entdeckt, dass das membrangebundene MUC1 sowohl für den Aufbau als auch für die Haftung des Schleimüberzugs auf der Oberfläche von großer Bedeutung ist und eine Art Grundgerüst für die sekretorischen Muzine bildet (Parmley und Gendler, 1998). Die Lokalisation von MUC1 im Drüsenmagen legt daher nahe, dass das MUC1 auch beim Huhn eine ähnliche Funktion innehat und damit maßgeblich zur Stabilisation der schützenden Schleimschicht beiträgt, was durch die deutliche PAS-Reaktion in dieser Arbeit unterstützt wird. Zusätzlich wird MUC1 eine Funktion in der Signaltransduktion der Zelle zugesprochen (Gendler, 2001). Ob und in welcher

Form MUC1 auch im Drüsenmagen einer solchen Funktion nachkommt, ließ sich aufgrund der Ergebnisse dieser Arbeit nicht näher spezifizieren.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Drüsenmagen auch auf das Vorkommen von MUC2 getestet. Allerdings konnte es im Drüsenmagen nicht nachgewiesen werden. Das entspricht den Beobachtungen beim Menschen. Bei diesem lässt sich das MUC2 innerhalb des Magen-Darm-Trakts nur in den Becherzellen des Dünndarms und des Kolons dokumentieren (Gendler und Spicer, 1995). Nur bei Patienten mit einer Tumorerkrankung oder einer *Helicobacter pylori*-Infektion tritt MUC2 im Magen auf. Aus diesem Grund wurden die Einsatzmöglichkeiten des MUC2-Antikörpers beim Menschen in der Tumordiagnostik mit großem Interesse untersucht (Ho et al., 1993; Ho et al. 1995). Ob beim Magen des Huhns auch ein Zusammenhang zwischen pathologischen Veränderungen und dem Nachweis von MUC2 besteht, ist noch nicht näher untersucht worden. Allerdings konnten Rodríguez-Burford et al. (2001) keine Verbindung zwischen der Produktion von MUC1 und MUC2 und dem Ovarkarzinom der Henne feststellen.

Das MUC5AC ist bei verschiedenen Vogelarten an unterschiedlichen Lokalisationen zu finden. Im Rahmen dieser Arbeit konnte MUC5AC ausschließlich in den tiefen Drüsenzellen des Huhns nachgewiesen werden. Liman et. al. (2010) beschreiben jedoch in einer Untersuchung an der Wachtel den Nachweis von MUC5AC im Oberflächenepithel und im Epithel der oberflächlichen Drüsen. Beim Menschen lässt sich MUC5AC ähnlich wie bei der Wachtel nur in den oberflächlichen Epithelzellen des Magens nachweisen (Audie et al., 1993).

Die Lokalisation der Produktion von MUC5AC in den tiefen Drüsen des Huhns könnte mit dem multilobulären Aufbau der tiefen Drüsen in Zusammenhang stehen, der einen höheren Schutz der Zellen vor den Ausscheidungsprodukten HCl und Pepsinogen erfordert als die einfachen Drüsen bei der Wachtel (Hauke, 1987).

Als weitere Erklärungsmöglichkeit für die unterschiedlichen Ergebnisse bei Huhn, Wachtel und Mensch können unterschiedliche Nachweismethoden angeführt werden. So wurde im Rahmen dieser Arbeit, wie auch in der Arbeit

von Liman et al. (2010), ein immunhistochemischer Nachweis des Proteins mit Hilfe eines monoklonalen Antikörpers durchgeführt. Dabei handelte es sich allerdings um unterschiedliche Klone des Antikörpers. Der in dieser Arbeit verwendete Klon wird vom Hersteller als spezifisch für das Huhn angegeben, während der von Liman et al. (2010) verwendete Klon jedoch nur für humane Proben als spezifisch beschrieben wird. In der Arbeit am Menschen (Audie et al., 1993) kam mit der In-situ-Hybridisierung ein mRNA-Nachweis zum Einsatz.

Der verwendete Antikörper für MUC6 zeigte in den Zellen der tiefen Drüsen des Huhnes eine moderate Immunreaktion, wohingegen beim Menschen MUC6 in verschiedenen Zelltypen, invariabel in den Kardial- und Antrumdrüsen und zusätzlich in den Zellen des Halsbereichs der Fundusdrüsen, vorkommt (de Bolós et al., 1995; Bartman et al., 1998).

Auffallend ist, dass beim Huhn die gleichen Zellen, die auch für die Produktion der Salzsäure und des Pepsinogens zuständig sind, die „oxynticopeptic cells“, für die Produktion des MUC6 verantwortlich sind. Beim Menschen hat sich mit den Haupt- und Belegzellen jeweils eine eigene Zellart für die Produktion von Salzsäure und Pepsinogen entwickelt und mit den mukoiden Zellen im Halsbereich der Fundusdrüsen ist eine weitere Zellart entstanden, die für die Produktion von MUC6 zuständig ist. Diese drei Aufgaben werden beim Huhn, das zu der entwicklungs geschichtlich älteren Klasse der Vögel zählt, von ein und derselben Zelle übernommen.

Um einen besseren Einblick in die spezifischen Abwehrmechanismen des Drüsenmagens zu erhalten, wurden in dieser Arbeit Tests zur Lokalisation von T-Lymphozyten, IgA und der SC durchgeführt. Durch den Einsatz eines Antikörpers spezifisch für den CD3-Rezeptor ließen sich T-Lymphozyten innerhalb des Drüsenmagens gezielt nachweisen und von anderen Zellen abgrenzen.

Die T-Lymphozyten befanden sich in drei Bereichen der *Lamina propria mucosae*: unter dem Oberflächenepithel im dort befindlichen Bindegewebe, in den Bindegewebssepten der tiefen Drüsen und im Bindegewebe in der Nähe der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen. Diese drei Lokalisationen

beschreiben auch Matsumoto und Hashimoto (2000) in ihrer Arbeit am Huhn. Die Lymphozytenansammlungen in der Nähe der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen fielen schon in der H/E-Färbung auf und mit Hilfe der Immunhistochemie konnten diese Lymphozyten zum Großteil als T-Lymphozyten identifiziert werden. Auch beim Säugetier, beispielsweise beim Schwein, sind kleine Lymphknötchen in der *Lamina propria mucosae* beschrieben (Roy, 1973).

Die Lokalisation der T-Lymphozyten unterhalb des Epithels, nahe am *Lumen* gelegen, ist die logische Konsequenz der Auseinandersetzung des Körpers mit der Außenwelt und den im *Lumen* des Magens befindlichen Erregern. Dennoch ist die Anzahl der Lymphfollikel deutlich geringer als beispielsweise in den *Caeca* des Huhns (Stähle, 2015), da auch der niedrige pH-Wert zur Immunabwehr im Magen beiträgt und erst im Bereich des Dünn- und Dickdarms eine starke Immunabwehr notwendig wird.

Die IgA-positiv markierten Zellen im Drüsenmagen haben bei allen untersuchten Altersstufen die gleiche Verteilung ergeben. Das widerspricht der Untersuchung von Jeurissen et al. (1989), welche erst ab der sechsten Lebenswoche IgA im Drüsenmagen nachweisen konnten. Im Rahmen dieser Untersuchung konnten die IgA-positiven Zellen schon beim einen Tag alten Küken an bis zu drei verschiedenen Stellen im Drüsenmagen dargestellt werden und zwar im Bindegewebe der *Lamina propria mucosae*, im Randbereich der zuvor beschriebenen Lymphozytenansammlungen in der *Lamina propria mucosae* und in den Epithelzellen am Grund der Falten. Allerdings waren IgA-markierte Zellen im Drüsenmagen eher spärlich gesät, besonders die IgA-positiven Epithelzellen traten nicht häufig und nicht bei allen Tieren auf. Das Vorkommen dieser markierten Epithelzellen scheint daher in keinem Zusammenhang mit dem Alter der Tiere, sondern eher mit den individuellen Abwehrvorgängen bei den einzelnen Tieren zu stehen. Aufgrund des sauren Milieus im Drüsenmagen und den vergleichbaren Ergebnissen von Valnes et al. (1986) wurde im Vorfeld der Studie nur mit einer geringen Menge an IgA-positiven Zellen gerechnet.

Bei den oben beschriebenen IgA-positiven Zellen im Randbereich der Lymphozytenansammlungen handelt es sich vermutlich um B-Lymphozyten, da sowohl die Zellform als auch die Untersuchung von Macpherson et al. (2001),

welche die Anfärbarkeit von B-Lymphozyten durch IgA bestätigen, diesen Schluss nahelegen. Damit bestehen die in Verbindung mit dem Antikörper gegen CD3 beschriebenen Lymphozytenansammlungen zum Großteil aus T-Lymphozyten, aber es sind auch einige andere, vermutlich als B-Lymphozyten zu bezeichnende Zellen, vorhanden.

In Bezug auf extrazelluläres IgA zeigten sich zwischen den verschiedenen Altersstufen klare Unterschiede. Das extrazelluläre IgA trat deutlich in der Schleimschicht des einen Tag alten Kükens auf und verlor sich bei den älteren untersuchten Tieren. Die Erklärung dafür liegt sehr wahrscheinlich im Abschlucken der Amionflüssigkeit durch den Hühnerembryo in den letzten Tagen vor dem Schlupf. Diese Amionflüssigkeit enthält maternale Antikörper, insbesondere IgA, und sorgt in den ersten Lebenstagen für eine Immunabwehr im *Lumen* des Magen-Darm-Traktes des Kükens (Davison et al., 2008; Friedman et al. 2012). Mit zunehmendem Alter der Küken nehmen die maternalen Antikörper im Magen-Darm-Trakt ab, was die Abnahme des extrazellulären IgA in der Schleimschicht des Drüsenmagens erklärt.

In einer Untersuchung von Bar-Shira et al. (2014) wurde nachgewiesen, dass maternales IgA beim Küken über einen noch unbekanntem Mechanismus in die Becherzellen der Darmes aufgenommen werden kann und über diese in den Schleimüberzug des Darmes abgegeben wird. Durch die Aufnahme von maternalem IgA in die Becherzellen und die Konservierung im Schleimüberzug des Darmes wird eine verlängerte Halbwertszeit des IgA vermutet. Bar-Shira et al. (2014) konnten in ihrer Arbeit bis zum siebten Lebenstag maternales IgA im *Mucus* des Darms nachweisen. Diese Erkenntnisse decken sich mit dem in dieser Arbeit nachgewiesenen, extrazellulären IgA im Schleimüberzug des Drüsenmagens und untermauern nochmals die Theorie, dass es sich hierbei um maternales IgA handelt. Die Tatsache, dass das extrazelluläre IgA im Drüsenmagen sich auch innerhalb des *Mucus* befindet, lässt vermuten, dass es auch hier durch die Verbindung mit dem Schleimüberzug zu einer verlängerten Halbwertszeit der IgA-Moleküle kommt und auch die Abnahme des extrazellulären IgA im Drüsenmagen des älteren Kükens stimmt mit den Ergebnissen von Bar-Shirah et al. (2014) am Hühnerdarm überein.

Die SC, die beim Menschen für den Transport von IgA durch die Epithelzelle verantwortlich ist (Kaetzel et al., 1991), ließ sich beim Huhn in den Epithelzellen der Oberfläche, der oberflächlichen Drüsen und der Sammelräume darstellen. Die starke Reaktion auf die SC scheint allerdings im Gegensatz zu den spärlich gesäten IgA-positiven Zellen im Drüsenmagen zu stehen. Doch auch beim Menschen ist die SC im Epithel immer nachzuweisen (Ahlstedt et al., 1999), obwohl der Magen des Menschen, wie zuvor beschrieben, im gesunden Zustand ebenfalls wenig IgA-produzierende Zellen aufweist (Valnes et al., 1986). Eine weitere Möglichkeit das Vorhandensein von SC in den Epithelzellen, trotz fehlendem IgA, zu erklären, ist die Tatsache, dass die SC selbst eine unspezifische, antimikrobielle Wirkung hat und damit auch zur Immunabwehr beiträgt, wie Guigliano et al. (1995) in ihrer Arbeit an der menschlichen Milchdrüse nachweisen konnten. Ein weiterer interessanter Aspekt ergibt sich aus der Arbeit von Bar-Shira et al. (2014), welche die SC in der apikalen Becherzellmembran mit der Aufnahme von maternalem IgA in die Becherzelle in Verbindung bringen, wobei die SC als eine Art Rezeptor agiert. Ein ähnlicher Mechanismus könnte auch im oberflächlichen Epithel des Drüsenmagens vorliegen und damit die starke Reaktion auf den SC-Antikörper in diesem Bereich erklären.

Muskelmagen

Die typischen vier Schichten des Magen-Darm-Traktes waren auch beim Muskelmagen des Huhnes vorhanden. Ein besonderes Augenmerk lag hier auf der *Tunica mucosa*, mit den Drüsen des Muskelmagens und der zum *Lumen* hin liegenden Schutzschicht, der Kutikula. Die Ausmessung des Kutikuladurchmessers im Vergleich der unterschiedlichen Altersstufen ergab ein unerwartetes Ergebnis. Der Durchmesser der Kutikula nahm im Vergleich des einen Tag alten Kükens mit dem des drei Tage alten Tieres zuerst leicht ab und danach mit zunehmendem Alter der Tiere zu. Der lockerere Aufbau der Kutikula des einen Tag alten Tieres im Vergleich zum drei Tage alten Tier zeigt deutlich, dass erst mit dem ersten Lebenstag die Nutzung der Kutikula als Reibplatte einsetzt, dadurch scheint diese Dynamik durchaus nachvollziehbar.

Zum einen nutzt sich die lockerer aufgebaute Kutikula beim einen Tag alten Küken leichter ab, als die schon wesentlich kompaktere Kutikula des drei Tage alten Tieres. Zum anderen muss sich das Gleichgewicht zwischen Koilinproduktion und Koilinabnutzung zuerst einpendeln. Der lockere Aufbau der Kutikula beim einen Tag alten Küken lässt sich mit den Erkenntnissen von Hill (1971) in Zusammenhang bringen. Er beschreibt, dass erst die Einwirkung der Salzsäure, mit welcher die Kutikula durch die ersten Kontraktionsvorgänge am ersten Lebenstag intensiv in Verbindung kommt, zur vollständigen Aushärtung des Koilins führt. Berücksichtigt man zusätzlich die Ergebnisse von Ventura et al. (2013), bei welchen die Kutikula bis einschließlich des 20. Entwicklungstages noch nicht ausgebildet ist, erkennt man, dass sich die Koilinproduktion erst an die Verhältnisse anpassen muss.

Die Funktion als Reibplatte und damit als Zahnersatz wurde beim Anblick der Kutikulaoberfläche im rasterelektronenmikroskopischen Bild besonders deutlich. Die zerrufte, unterschiedlich harte Oberfläche, ähnlich einem trockenen Ackerboden oder wie es Svihus (2011) beschreibt, ähnlich einem Sandpapier, war unverkennbar zu identifizieren. Im rasterelektronenmikroskopischen Bild konnte man zwischen den härteren vertikalen Koilinsäulen und der porösen horizontalen Matrix, wie sie schon Akester (1986) beschrieb, deutlich unterscheiden. Auch in der PAS-Reaktion ließ sich der Aufbau aus vertikalen Säulen und horizontaler Matrix durch die PAS-positiven vertikalen Streifen, die eindrucklich in der Kutikula zu erkennen waren, gut nachvollziehen. Das untermauert die Feststellung von Eglitis und Knouff (1962), dass sich die Protein- und Kohlenhydratmischung der vertikalen und horizontalen Matrix in ihrer biochemischen Zusammensetzung voneinander unterscheidet. Die im rasterelektronenmikroskopischen Schnittbild entdeckte, zunehmende Ordnung der Koilinsäulen in Richtung *Lumen* deckt sich mit der Darstellung von Akester (1986), der ein Zusammenlagern der Koilinsäulchen einzelner Drüsen zu breiteren Koilinsäulen innerhalb der Ausführungsgänge beschreibt.

In der Literatur sind verschiedene, auskleidende Zellen des Muskelmagens geschildert worden. Die von Chodnik (1947) und Toner (1964) beschriebenen Hauptzellen kleiden die Drüsen des Muskelmagens aus und haben eine

isoprismatische Gestalt. Dieser Darstellung entsprechende Zellen wurden auch in dieser Untersuchung als Auskleidung der Muskelmagendrüsen gefunden. Allerdings konnte in der H/E-Färbung kein Unterschied zu den als Epithelzellen von Aitken (1958) und Eglitis und Knouff (1962) beschriebenen Zellen im apikalen Bereich der Falten gemacht werden. In der PAS-Reaktion stellten sich diese sogenannten Epithelzellen allerdings, im Gegensatz zu den Zellen der Ausführungsgänge, PAS-positiv dar, wie auch bei Kadhim et al. (2011) demonstriert. Diese Entdeckung wiederum stützt die Unterscheidung zwischen den zwei Zelltypen Hauptzelle und Epithelzelle, die von Aitken (1958), Eglitis und Knouff (1962) und Toner (1964) vorgenommen wurde.

Die von Toner (1964) und Kadhim et al. (2011) beschriebenen Basalzellen, in der Tiefe der Ausführungsgänge mit ihrem blassen Zytoplasma und den großen Zellkernen, haben eine gewisse Ähnlichkeit mit den, vor allem beim einen Tag alten Küken, gefundenen Zellen in der Tiefe der Ausführungsgänge der Muskelmagendrüsen. Auch wenn die in dieser Arbeit durchgeführte lichtmikroskopische Untersuchung nicht so viele Details liefert wie die transelektronenmikroskopische Untersuchung von Toner (1964), besitzen diese Zellen ebenso ein blasses Zytoplasma und einen großen Zellkern. Toner (1964) vermutet in diesen Zellen eine Art von Stammzellen. Diese Annahme lässt sich auch mit dem in dieser Arbeit beobachteten gehäuften Auftreten der Basalzellen beim sehr jungen, im Wachstum befindlichen Tier und dem Fehlen beim adulten Tier in Einklang bringen. Der Nachweis von Basalzellen durch Toner (1964) auch beim adulten Tier hängt vermutlich mit den detaillierteren Ergebnissen einer transelektronenmikroskopischen Untersuchung im Vergleich mit der Lichtmikroskopie zusammen.

Ebenso wie der Drüsenmagen wurde auch der Muskelmagen auf das Vorkommen der Muzine 1, 2, 5AC und 6 getestet. Dabei präsentierte sich beim Muskelmagen eine andere Zusammensetzung dieser Muzine, als sie im Drüsenmagen vorlag.

Das MUC1 war beim Muskelmagen in den Zellen der tubulären Drüsen innerhalb des Zytoplasmas moderat bis deutlich nachzuweisen. Die

oberflächlichen Epithelzellen waren allerdings frei von MUC1. Diese Lokalisation von MUC1 entspricht den Untersuchungen von Liman et al. (2010) bei der Wachtel. Außerdem stützt die Verteilung von MUC1-produzierenden Zellen nochmals die Unterteilung der auskleidenden Zellen in Haupt- und Epithelzellen, die schon oben beschrieben wurde. Die beim Drüsenmagen beschriebene Funktion von MUC1, in Bezug auf Aufbau und Haftung der Schleimschicht auf den Epithelzellen (Parmley und Gendler, 1998), scheint auch beim Muskelmagen von Bedeutung zu sein. So ist es vorstellbar, dass die Schleimschicht auf den Epithelzellen durchaus eine wichtige Rolle beim Schutz dieser Zellen vor Reibung und dem zwischen 150-170 mmHg starken Druck (Oguro und Ikeda, 1974) durch die körpereigene Koilinschicht darstellt.

Das MUC2 ließ sich im Gegensatz zum Drüsenmagen im Muskelmagen in den Epithelzellen der *Tunica mucosa* nachweisen. Die Zellen zeigten vor allem im apikalen Kompartiment eine deutliche Reaktion. Vereinzelt traten auch MUC2-positive Zellen im Bindegewebe auf. Aufgrund des Nachweises von MUC2-positiver Zellen im Bindegewebe, der Tatsache, dass es sich bei MUC2 um das spezifische Becherzellmucin handelt und da MUC2 zur Identifizierung von Magenkarzinomen eingesetzt werden kann (Pinto-de-Sousa et al., 2002), ist es sehr wahrscheinlich, dass es sich hier um eine unspezifische Reaktion mit dem Antikörper handelt. Auch die Tatsache, dass die Intensität des MUC2 in den Epithelzellen in Richtung *Lumen* nachließ, spricht für die Annahme, dass es zu einer unspezifischen Antikörperreaktion kam.

Das MUC5AC ließ sich im Muskelmagen ähnlich wie das MUC1 und das MUC2 in den Epithelzellen nachweisen. Andere Autoren fanden MUC5AC im Muskelmagen der Wachtel auch im Oberflächenepithel und im Koilin (Liman et al., 2010). Auch bei diesem Mucin nimmt die Intensität der Immunreaktion in Richtung des Lumens ab. Da es sich auch bei MUC5AC um ein sekretorisches Mucin handelt (Perez-Vilar und Hill, 1999) liegt die Annahme nahe, dass es ähnliche Aufgaben wie das MUC2 erfüllt.

Das MUC6 ließ sich in dieser Arbeit im Muskelmagen nicht nachweisen. Damit entsprach die nachgewiesene Mucin-Kombination im Muskelmagen weder der des Drüsenmagens noch derjenigen des Magens des Menschen (Ho et al.,

1995). Das dargelegte Muzinmuster hat allerdings Ähnlichkeit mit den Muzinen einer anderen Vogelart, der Wachtel (Liman et al., 2010). Die Muzinverteilung im Muskelmagen hat auch keine Gemeinsamkeit mit der Muzinverteilung im Duodenum des Menschen, mit den nachgewiesenen Muzinen MUC2, MUC3 und MUC6 (Buisine et al., 2000). Daraus lässt sich ableiten, dass es sich beim Muskelmagen um eine entwicklungsgeschichtliche, spezielle Anpassung des Huhnes an seine Umwelt handelt, die keine Parallele im Magen-Darm-Trakt des Säugers findet.

Um die Aufgabe der Kutikula als Barriere gegen Erreger aus dem Magenlumen genauer zu betrachten, wurden Untersuchungen zu einigen spezifischen Abwehrmechanismen des Immunsystems durchgeführt. Der immunhistochemische Test mit einem Antikörper gegen den CD3-Rezeptor zeigte nur sehr vereinzelt liegende T-Lymphozyten innerhalb der *Lamina propria mucosae* und im Bindegewebe der *Tunica muscularis* und lässt damit auf keine signifikante, zelluläre, immunologische Aktivität schließen. Die immunhistochemischen Tests mit den Antikörpern gegen IgA und die SC führten zu keiner positiven Reaktion innerhalb des Muskelmagens. Damit ist auch keine lokale, immunologische Aktivität im gesunden Muskelmagen nachzuweisen. Diese Erkenntnisse bestätigen, dass die Kutikula nicht nur einen hervorragenden Schutz vor Verdauung und Ausfällung der körpereigenen Proteine innerhalb des Muskelmagens bietet (Vollmerhaus und Sinowatz, 2004), sondern auch eine effektive immunologische Barriere gegenüber der Außenwelt darstellt, die keine weiteren Abwehrsysteme benötigt wie beispielsweise die Blinddärme des Huhnes mit der Caecaltonsille (Stähle, 2015).

Die Ergebnisse dieser Arbeit machen zusammenfassend verständlich, dass sowohl im Drüsenmagen als auch im Muskelmagen nach dem Schlupf keine wesentlichen Veränderungen der Histomorphologie mehr stattfanden. Die schwerpunktmäßig untersuchte muköse Abwehr spielt im Drüsenmagen eine wichtige Rolle, aber wie deutlich wurde, nicht nur im Hinblick auf

Krankheitserreger, sondern auch um eine Selbstverdauung durch das gewebebefindliche Milieu des Drüsenmagens zu verhindern. Sie ist ganz ähnlich wie die muköse Abwehr des menschlichen Magens organisiert. Im Muskelmagen fällt der mukösen Schleimschicht vermehrt der Schutz des Epithels vor Reibung durch die körpereigene Koilinschicht zu. Da hier die Koilinschicht selbst als äußerst effektive Barriere zum Schutz vor Erregern zusätzlich vorhanden ist, rückt an dieser Stelle die Immunabwehr durch die Muzine in den Hintergrund. In Bezug auf die spezifischen Abwehrmechanismen waren am Drüsenmagen deutlich mehr Zellen des humoralen und zellulären Immunsystems zu finden, als im, durch die Kutikula gut abgeschirmten, Muskelmagen. Allerdings traten im Vergleich des Drüsenmagens mit anderen Abschnitten des Magen-Darm-Traktes eher wenig Immunzellen in Erscheinung, denn auch das saure Milieu des Drüsenmagens bildet schon eine wirksame Barriere gegen Krankheitserreger, die anderen Teilen des Verdauungstraktes nicht zur Verfügung steht. Im Vergleich der Immunabwehrmechanismen innerhalb der untersuchten Altersstufen zeigte nur das extrazelluläre IgA im Drüsenmagen eine deutliche Veränderung, was auf die Zufuhr von maternalem IgA zurückzuführen ist. In Bezug auf alle anderen Abwehrmechanismen, ob mukoid oder spezifisch, traten keine postnatalen Veränderungen im Drüsen- und Muskelmagen auf.

6 Zusammenfassung

Postnatale Entwicklung des Drüsen- und Muskelmagens beim Huhn

-Eine licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie-

In der vorliegenden Untersuchung wurde die postnatale Entwicklung des Drüsen- und Muskelmagens beim Huhn genauer betrachtet, andererseits wurden auch die mukösen und zellulären Abwehrmechanismen untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Drüsen- und Muskelmägen von 39 Küken in den Altersstufen zwischen dem ersten bis zum 21. Lebenstag und von fünf adulten Hühnern mit Hilfe der Histologie, Immunhistochemie und dem Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht.

Es zeigte sich, dass am Drüsenmagen des Huhns nach dem Schlupf keine histomorphologischen Veränderungen, mit Ausnahme des Größenwachstums, mehr stattfanden und dieser schon beim einen Tag alten Küken vollständig entwickelt war. Auch beim Muskelmagen waren alle Schichten bestehend aus *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis* und *Tunica serosa* bereits beim einen Tag alten Küken vorhanden. Als Besonderheit konnten beim einen Tag alten Küken größere und hellere Zellen im Drüsenepithel des Muskelmagens aufgefunden werden. Bereits beim drei Tage alten Tier waren sie kaum noch vorhanden. Im REM stellte sich die Kutikula mit härteren, vertikalen Koilinsäulen und einer poröseren, horizontalen Matrix dar. Die Unterseite der Kutikula entsprach einem Negativ-Abdruck des Oberflächenepithels mit typischer Wabenstruktur.

Die im Hinblick auf die mukösen Abwehrmechanismen durchgeführten immunhistochemischen Tests auf die Muzine 1, 2, 5AC und 6 zeigten ähnlich wie die morphologischen Untersuchungen keine altersabhängigen Unterschiede in Bezug auf ihre Expressionsmuster. Am Drüsenmagen ließen sich die Muzine 1, 5AC und 6 nachweisen und am Muskelmagen die Muzine 1, 2 und 5AC. Die Muzine 1 und 5AC waren hauptsächlich in den tiefen Drüsen

des Drüsenmagens und in den tubulären Drüsen des Muskelmagens lokalisiert. Das Muzin 6 ließ sich dagegen nur in den tiefen Drüsen des Drüsenmagens darstellen.

Hinsichtlich der zellulären Abwehr wurden Untersuchungen mit Antikörpern gegen den CD3-Rezeptor, das Immunglobulin A (IgA) und die sekretorische Komponente (SC) durchgeführt. Der Nachweis des CD3-Rezeptors als Marker für die T-Lymphozyten führte bei allen Altersstufen zum gleichen Verteilungsmuster. Im Drüsenmagen traten T-Lymphozyten an drei Lokalisationen in Erscheinung: unter dem Oberflächenepithel im dort befindlichen Bindegewebe, in den Bindegewebssepten der tiefen Drüsen und im Bindegewebe in der Nähe der Ausführungsgänge der tiefen Drüsen. Im Muskelmagen traten T-Lymphozyten nur sehr vereinzelt im Bindegewebe auf.

Allein das extrazelluläre IgA zeigte zwischen den untersuchten Altersstufen eine deutliche Veränderung, wobei es im *Mucus* des Drüsenmagens des einen Tag alten Kükens in großen Mengen vorhanden war. Beim sieben Tage alten Tier ließ es sich nur noch abschnittsweise darstellen und verschwand bei den älteren Tieren gänzlich. Beim intrazellulär gelegenen IgA ergaben sich sowohl im Drüsenmagen als auch im Muskelmagen keine altersspezifischen Unterschiede. Es lag in Zellen innerhalb des Bindegewebes und in wenigen Zellen des Epithels des Drüsenmagens vor. Im Muskelmagen war IgA nicht nachzuweisen. Mit der SC verhielt es sich ähnlich wie mit dem intrazellulären IgA. Auch sie wurde altersunabhängig im Oberflächenepithel und im Epithel der Ausführungsgänge des Drüsenmagens nachgewiesen, wohingegen die SC im Muskelmagen nicht exprimiert wurde.

Zusammenfassend wurde gezeigt, dass die Drüsen- und Muskelmägen der Hühner nach dem Schlupf keine starken Veränderungen mehr erfuhren und die muköse und zelluläre Abwehr im Drüsenmagen eine deutlich größere Rolle spielt als im durch die Kutikula geschützten Muskelmagen.

7 Summary

Postnatal development in the chicken proventriculus and ventriculus

- A light- and scanning electron microscopic study -

In the present study, the postnatal development in the chicken proventriculus and ventriculus was examined closer, as well as their mucosal and cellular defence mechanisms. To this end, the proventriculus and ventriculus of 39 chicks in the stages between one and twenty-one days and those of five adult chickens were investigated using histology, immunohistochemistry and scanning electron microscopy (SEM).

Results showed a fully developed proventriculus in the one-day-old chick with no histomorphological changes after hatching apart from increased size. The ventriculus already possessed all its layers in the newly hatched chick, the *Tunica mucosa*, *Tela submucosa*, *Tunica muscularis* and *Tunica serosa*. Noteworthy, larger and lighter cells in the glandular epithelium of the ventriculus existed in the one-day-old chick. These were barely present in the three-day-old animal. The SEM depicted the cuticula with harder, vertical coilin accumulations and a more porous, horizontal matrix. The underside of the cuticula formed a negative imprint of the surface epithelium with its typical honeycomb structure.

The immunohistochemical tests on the mucins 1, 2, 5AC and 6 in the context of the mucosal defence mechanisms reflected the results of the morphological examination. Their expression patterns showed no age-related differences. The mucins 1, 5AC and 6 were found in the proventriculus and the mucins 1, 2 and 5AC were found in the ventriculus. The mucins 1 and 5AC were located primarily in the deep glands of the proventriculus and in the tubular glands of the ventriculus. However, the mucin 6 was only located in the deep glands of the proventriculus.

With regard to the cellular defence mechanisms, tests were carried out using antibodies against CD3 receptor, immunoglobulin A (IgA) and secretory component (SC). The detection of the CD3 receptor as a marker for T-lymphocytes exhibited the same distribution pattern in all stages. In the proventriculus, T-lymphocytes appeared in three locations: in the connective tissue underneath the surface epithelium, in the connective tissue septa of the deep glands and in the connective tissue near the excretory ducts of the deep glands. In the ventriculus, only few T-lymphocytes could be found scattered in the connective tissue.

Only extracellular IgA immunoreactivity showed a marked difference between the stages. In the one-day-old chick it was present in the mucus of the proventriculus in large quantities. It was only detectable in individual sections in the seven-day-old animal and was not detectable at all in older stages. Intracellular IgA showed no age-related differences in the proventriculus or in the ventriculus. It was detected in cells within the connective tissue and in few cells of the proventriculus epithelium. IgA was not detected in the ventriculus. The results for SC immunoreactivity were similar to those for intracellular IgA. Regardless of age, SC was detected in the surface epithelium and in the epithelium of the excretory ducts of the proventriculus but was not expressed in the ventriculus.

In summary, the study showed that the chicken proventriculus and ventriculus undergo no further fundamental changes after hatching and that mucosal and cellular defence plays a much greater role in the proventriculus than in the ventriculus, which is protected by cuticula.

8 Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pober, J. S. (2000)

Activation of T Lymphocytes

Aus: Abbas, A. K., Lichtman, A. H., Pober, J. S.: Cellular and Molecular Immunology.

W.B. Saunders Company, Pennsylvania, 4. Aufl.: 161-181

Abumandour, M. M. A. (2014)

Histomorphological studies on the stomach of Eurasian Hobby (*Falconinae: Falco subbuteo*, Linnaeus 1758) and its relation with its feeding habits.

Life Sci, 11(7): 809-819

Ahlstedt, I., Lindholm, C., Lönroth, H., Hamlet, A., Svennerholm, A. M., Quiding-Järbrink, M. (1999)

Role of local cytokines in increased gastric expression of the secretory component in *Helicobacter pylori* infection.

Infect Immun, 67(9): 4921-4925

Aitken, R. N. C. (1958)

A histochemical study of the stomach and intestine of the chicken.

J Anat, 92(3): 453-466

Akester, A. R. (1986)

Structure of the glandular layer and koilin membrane in the gizzard of the adult domestic fowl.

J Anat, 147: 1-25

Alison, B. C. (1990)

The ontogeny and distribution of glucagon- and pancreatic polypeptide-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the chicken.

Anat Embryol (Berl), 182(6): 605-610

Alumets, J., Håkanson, R., Sundler, F. (1978)

Distribution, ontogeny and ultrastructure of pancreatic polypeptide (PP) cells in the pancreas and gut of the chicken.

Cell Tissue Res, 194(3): 377-386

- Amerah, A. M., Ravindran, V., Lentle, R. G., Thomas, D. G. (2008)**
Influence of feed particle size on the performance, energy utilization, digestive tract development, and digesta parameters of broiler starters fed wheat-and corn-based diets.
Poult Sci, 87(11): 2320-2328
- Ashwell, J. D., Klausner, R. D. (1990)**
Genetic and mutational analysis of the T-cell antigen receptor.
Annu Rev Immunol, 8(1): 139-167
- Attia, H. F. (2008)**
Some histological studies on the proventriculus of the quail during pre and post hatching periods.
Minufiya Vet J, 5(2): 441-453
- Audie, J. P., Janin, A., Porchet, N., Copin, M. C., Gosselin, B., Aubert, J. P. (1993)**
Expression of human mucin genes in respiratory, digestive, and reproductive tracts ascertained by in situ hybridization.
J Histochem Cytochem, 41(10): 1479-1485
- Bansil, R., Turner, B. S. (2006)**
Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications.
Curr Opin Colloid Interface Sci, 11(2): 164-170
- Bar-Shira, E., Cohen, I., Elad, O., Friedman, A. (2014)**
Role of goblet cells and mucin layer in protecting maternal IgA in precocious birds.
Dev Comp Immunol, 44(1): 186-194
- Bartman, A. E., Buisine, M. P., Aubert, J. P., Niehans, G. A., Toribara, N. W., Kim, Y. S., Kelly, E.J., Crabtree, J.E., Ho, S. B. (1998)**
The MUC6 secretory mucin gene is expressed in a wide variety of epithelial tissues.
J Pathol, 186(4): 398-405
- Bell, S., Xu, G., Forstner, J. (2001)**
Role of the cystine-knot motif at the C-terminus of rat mucin protein Muc2 in dimer formation and secretion.
Biochem J, 357: 203-209
- Bell, S., Xu, G., Khatri, I., Wang, R., Rahman, S., Forstner, J. (2003)**
N-linked oligosaccharides play a role in disulphide-dependent dimerization of intestinal mucin Muc2.
Biochem J, 373: 893-900

- Bellairs, R.** (1953)
Studies on the Development of the Foregut in the Chick Blastoderm
1. The Presumptive Foregut Area.
J Embryol Exp Morphol, 1(2): 115-124
- Bellairs, R., Osmond, M.** (2005)
Atlas of Chick Development.
Academic Press, London, 2. Aufl.: 70
- Bennett, T., Cobb, J. L.** (1969a)
Studies on the avian gizzard: the development of the gizzard and its innervation.
Z Zellforsch Mikrosk Anat, 98(4): 599-621
- Bennett, T., Cobb, J. L.** (1969b)
Studies on the avian gizzard: Auerbach's plexus.
Z Zellforsch Mikrosk Anat, 99(1): 109-120
- Bernot, A., Auffray, C.** (1991)
Primary structure and ontogeny of an avian CD3 transcript.
Proc Natl Acad Sci U S A, 88(6): 2550-2554
- Bienenstock, J., Perey, D. Y. E., Gauldie, J., Underdown, B. J.** (1972)
Chicken immunoglobulin resembling γ A.
J Immunol, 109(2): 403-406
- Bobek, L. A., Tsai, H., Biesbrock, A. R., Levine, M. J.** (1993)
Molecular cloning, sequence, and specificity of expression of the gene encoding the low molecular weight human salivary mucin (MUC7).
J Biol Chem, 268(27): 20563-20569
- Bonifacino, J. S., Chen, C., Lippincott-Schwartz, J., Ashwell, J. D., Klausner, R. D.** (1988)
Subunit interactions within the T-cell antigen receptor: clues from the study of partial complexes.
Proc Natl Acad Sci U S A, 85(18): 6929-6933
- Brandtzaeg, P.** (1974)
Mucosal and glandular distribution of immunoglobulin components: differential localization of free and bound SC in secretory epithelial cells.
J Immunol, 112(4): 1553-1559
- Buisine, M. P., Devisme, L., Maunoury, V., Deschodt, E., Gosselin, B., Copin, M. C., Aubert, J.-P., Porchet, N.** (2000)
Developmental mucin gene expression in the gastroduodenal tract and accessory digestive glands. I. Stomach: a relationship to gastric carcinoma.
J Histochem Cytochem, 48(12): 1657-1666

- Burhol, P.G.** (1982)
Regulation of gastric secretion in the chicken.
Scand J Gastroenterol, 17(3): 321-323
- Carrato, C., Balagué, C., De Bolós, C., Gonzalez, E., Gambus, G., Planas, J., Perini, J.M., Andreu, D., Real, F. X.** (1994)
Differential apomucin expression in normal and neoplastic human gastrointestinal tissues.
Gastroenterology, 107(1): 160-172
- Černý, H.** (1993)
Verdauungssystem
Aus: Salomon, V.: Lehrbuch der Geflügelanatomie.
Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart: 131-173
- Chen, C. L., Ager, L. L., Gartland, G. L., Cooper, M. D.** (1986)
Identification of a T3/T cell receptor complex in chickens.
J Exp Med, 164(1): 375-380
- Chikilian, M., De Speroni, N. B.** (1996)
Comparative study of the digestive system of three species of tinamou. I. *Crypturellus tataupa*, *Nothoprocta cinerascens*, and *Nothura maculosa* (*Aves: Tinamidae*).
J Morphol, 228(1): 77-88
- Chodnik, K. S.** (1947)
A Cytological Study of the Alimentary Tract of the Domestic Fowl (*Gallus Domesticus*).
Q J Microsc Sci, 3(4): 419-443
- Clevers, H., Alarcon, B., Wileman, T., Terhorst, C.** (1988)
The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble.
Annu Rev Immunol, 6(1): 629-662
- Cornselius, C.** (1925)
Morphologie, Histologie und Embryologie des Muskelmagens der Vögel.
Gegenbaurs Morphol Jahrb, 54: 507-559
- Dawson, A. B., Moyer, S. L.** (1948)
Histogenesis of the argentophile cells of the proventriculus and gizzard of the chicken.
Anat Rec, 100(4): 493-515
- Davison, F., Magor, K.E., Kaspers, B.** (2008)
Structure and evolution of avian immunoglobulins
Aus: Davison, F., Kaspers, B., Schat, K.A.: Avian Immunology.
Academic Press, London: 107-129

- Dänicke, S., Vahjen, W., Simon, O., Jeroch, H.** (1999)
Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium. on transit time of feed, and on nutrient digestibility.
Poult Sci, 78(9): 1292-1299
- De Bolós, C., Garrido, M., Real, F. X.** (1995)
MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach.
Gastroenterology, 109(3): 723-734
- Denbow D.M.** (2000)
Gastrointestinal Anatomy and Physiology
Aus: Whittow G.C.: Sturkie's Avian Physiology.
Academic Press, London, 5. Aufl.: 299-325
- Desseyn, J. L., Tetaert, D., Gouyer, V.** (2008)
Architecture of the large membrane-bound mucins.
Gene, 410(2): 215-222
- Duke, G. E.** (1982)
Gastrointestinal motility and its regulation.
Poult Sci, 61(7): 1245-1256
- Duke, G. E.** (1992)
Recent studies on regulation of gastric motility in turkeys.
Poult Sci, 71(1): 1-8
- Dumm, M. E., Levy, M.** (1949)
Chemistry of the chick embryo. VII. The accumulation of solids, nitrogen, lipids, and peptidase by the gizzard and liver of the chick embryo.
J Cell Physiol, 33(3): 373-382
- Edelman, G.** (1991)
Antibody structure and molecular immunology.
Scand J Immunol, 34(1): 1-22
- Eglitis, I., Knouff, R.A.** (1962)
An Histological and Histochemical Analysis of the Inner Lining and Glandular Epithelium of the Chicken Gizzard.
Am J Anat, 111(1): 49-65
- Feder, V. F.-H.** (1969)
Beitrag zur makroskopischen und mikroskopischen Anatomie des Verdauungsapparates beim Wellensittich (*Melopsittacus undulatus*).
Anat Anzeiger, 125: 233-255

- Ferrando, C., Vergara, P., Jiménez, M., Goñalons, E. (1987)**
Study of the rate of passage of food with chromium-mordanted plant cells in chickens (*Gallus gallus*).
Q J Exp Physiol, 72(3): 251-259
- Friedman, A., Elad, O., Cohen, I., Bar Shira, E. (2012)**
The gut associated lymphoid system in the post-hatch chick: dynamics of maternal IgA.
Israel J Vet Med, 67(2): 75-81
- Gabella, G. (1985)**
Chicken gizzard. The muscle, the tendon and their attachment.
Anat Embryol (Berl), 171(2): 151-162
- Gabella, G., Halasy, K. (1987)**
On the nerve plexus of the chicken gizzard.
Anat Embryol (Berl), 177(2): 97-103
- Gendler, S. J. (2001)**
MUC1, the renaissance molecule.
J Mammary Gland Biol Neoplasia, 6(3): 339-353
- Gendler, S. J., Spicer, A. P. (1995)**
Epithelial mucin genes.
Annu Rev Physiol, 57(1): 607-634
- Gendler, S. J., Lancaster, C. A., Taylor-Papadimitriou, J., Duhig, T., Peat, N., Burchell, J., Pemberton, L., Lalani, E.-N., Wilson, D. (1990)**
Molecular cloning and expression of human tumor-associated polymorphic epithelial mucin.
J Biol Chem, 265(25): 15286-15293
- Giugliano, L. G., Ribeiro, S. T. G., Vainstein, M. H., Ulhoa, C. J. (1995)**
Free secretory component and lactoferrin of human milk inhibit the adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli*.
J Med Microbiol, 42(1): 3-9
- Göbel, T. W., Dangy, J. P. (2000)**
Evidence for a stepwise evolution of the CD3 family.
J Immunol, 164(2): 879-883
- Göbel, T. W., Fluri, M. (1997)**
Identification and analysis of the chicken CD3 ϵ gene.
Eur J Immunol, 27(1): 194-198
- Götte, A. (1867)**
Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Darmkanals im Hühnchen.
Verlag der H. Laupp'schen Buchhandlung, Tübingen: 37-40

Gruenwald, P. (1941)

Normal and abnormal detachment of body and gut from the blastoderm in the chick embryo, with remarks on the early development of the allantois.

J Morphol, 69(1): 83-125

Gum, J. R., Hicks, J. W., Toribara, N. W., Siddiki, B., Kim, Y. S. (1994)

Molecular cloning of human intestinal mucin (MUC2) cDNA. Identification of the amino terminus and overall sequence similarity to prepro-von Willebrand factor.

J Biol Chem, 269(4): 2440-2446

Hall, C., Berkhout, B., Alarcon, B., Sancho, J., Wileman, T., Terhorst, C. (1991)

Requirements for cell surface expression of the human TCR/CD3 complex in non-T cells.

Int Immunol, 3(4): 359-368

Hauke, Ch. (1987)

Histologische, histochemische und ultrastrukturelle Untersuchung am Drüsen- und Muskelmagen der japanischen Wachtel (*Conturnix japonica*).

Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München

Hayashi, K. (1987)

Thinning of the basement membrane and localized cell proliferation during gland formation of the chick proventriculus.

Dev Growth Differ, 29(3): 285-295

Henry, K. M., MacDonald, A. J., Magee, H. E. (1933)

Observations on the functions of the alimentary canal in fowls.

J Exp Biol, 10(2): 153-171

Hetland, H., Svihus, B., Olaisen, V. (2002)

Effect of feeding whole cereals on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens.

Br Poult Sci, 43(3): 416-423

Hetland, H., Svihus, B., Krogdahl, Å. (2003)

Effects of oat hulls and wood shavings on digestion in broilers and layers fed diets based on whole or ground wheat.

Br Poult Sci, 44(2): 275-282

Hibbard, H. (1942)

The „Golgi apparatus“ during development in the stomach of *Gallus domesticus*.

J Morphol, 70(1): 121-149

- Herpol, C.** (1964)
Activité protéolytique de l'appareil gastrique d'oiseaux granivores et carnivores.
Ann Biol Anim Biochem Biophys, 4(3): 239-244
- Herpol, C., Van Grembergen, G.** (1967a)
L'activité protéolytique du système digestif de *Gallus domesticus*.
Z vergl Physiol 57 (1): 1-6
- Herpol, C., Van Grembergen, G.** (1967b)
La signification du pH dans le tube digestif de *Gallus domesticus*.
Ann Biol Anim Biochem Biophys, 7: 33-38
- Hill, K. J.** (1971)
The structure of the alimentary tract
Aus: Bell, D. J., Freeman, B. M.: Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl.
Academic Press, London, 1. Aufl.: 1-23
- Hinsch, G. W.** (1967)
Histochemical patterns in the proventriculus of the developing chick.
J Morphol, 122(3): 231-247
- Ho, S. B., Niehans, G. A., Lyftogt, C., Yan, P. S., Cherwitz, D. L., Gum, E. T., Dahiya, R., Kim, Y. S.** (1993)
Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues.
Cancer Res, 53(3): 641-651
- Ho, S. B., Shekels, L. L., Toribara, N. W., Kim, Y. S., Lyftogt, C., Cherwitz, D. L., Niehans, G. A.** (1995)
Mucin gene expression in normal, preneoplastic, and neoplastic human gastric epithelium.
Cancer Res, 55(12): 2681-2690
- Hodges, R.D.** (1974)
The Digestive System
Aus: Hodges, R.D.: The Histology of the Fowl.
Academic Press, London: 35-113
- Imai, M., Shibata, T., Moriguchi, K., Yamamoto, M., Hayama, H.** (1991)
Proventricular Glands in Fowl.
Okajimas Folia Anat Jpn, 68(2-3): 155-160
- 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

- 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
- Joos, C.** (1952)
Untersuchungen über die Histogenese der Drüsenschicht des Muskelmagens bei Vögeln.
Rev Suisse Zool, 59: 315-338
- Joos, M.** (2007)
Licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zum Feinbau des Verdauungstraktes beim Huhn.
Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Kadhim K.K., Zuki, A.B., Noordin M.M., Babjee, S.M.** (2011)
Histomorphology of the Stomach, Proventriculus and Ventriculus of the Red Jungle Fowl.
Anat Histol Embryol 40(3): 226-233
- Kaetzel, C. S., Robinson, J. K., Chintalacheruvu, K. R., Vaerman, J. P., Lamm, M. E.** (1991)
The polymeric immunoglobulin receptor (secretory component) mediates transport of immune complexes across epithelial cells: a local defense function for IgA.
Proc Natl Acad Sci U S A, 88(19): 8796-8800
- Kaiya, H., Van Der Geyten, S., Kojima, M., Hosoda, H., Kitajima, Y., Matsumoto, M., Geelissen, S., Darras V. M., Kangawa, K.** (2002)
Chicken ghrelin: purification, cDNA cloning, and biological activity.
Endocrinology, 143(9): 3454-3463
- Kerr, M. A.** (1990)
The structure and function of human IgA.
Biochem J, 271(2): 285-296
- Kim, C. H., Oh, Y., Han, K., Seo, H. W., Kim, D., Kang, I., Park, C., Jang, K.Y., Kim, S.-H., Chae, C.** (2012)
Expression of secreted mucins (MUC2, MUC5AC, MUC5B, and MUC6) and membrane-bound mucin (MUC4) in the lungs of pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*.
Res Vet Sci, 92(3): 486-491
- Kobayashi, K., Hirai, H.** (1980)
Studies on subunit components of chicken polymeric immunoglobulins.
J Immunol, 124(4): 1695-1704

- Koenig, C. S., Dabiké, M. (1990)**
Redistribution of membranes and cytoskeletal proteins in chicken oxyntic cells during the HCl secretory cycle: Ultrastructural and immunofluorescence study.
Anat Rec, 228(2): 111-122
- König, H.E., Misek, I., Liebich H.-G., Korbel, R. (2008)**
Nervensystem
Aus: König, H.E., Liebich H.-G., Korbel, R.: Die Anatomie des Vogels.
Schattauer Verlag, Stuttgart, 2. Aufl.: 199-223
- Kuo, Z.-Y., Shen, T. C. (1936)**
Ontogeny of embryonic behavior in Aves. X. Gastric movements of the chick embryo.
J Comp Psychol, 21(1): 87-93
- Kuru, N. (2010)**
Macroanatomic investigations on the course and distribution of the celiac artery in domestic fowl (*Gallus gallus domesticus*).
Sci Res Essays, 5(23): 3585-3591
- Lamblin, G., Degroote, S., Perini, J. M., Delmotte, P., Scharfman, A., Davril, M., Lo-Guidice J.-M., Houdret, N., Dumur, V., Klein, A., Rousse, P. (2001)**
Human airway mucin glycosylation: a combinatory of carbohydrate determinants which vary in cystic fibrosis.
Glycoconj J, 18(9): 661-684
- Lamont, J. T. (1992)**
Mucus: the front line of intestinal mucosal defense.
Ann N Y Acad Sci, 664(1): 190-201
- Latimer, H. B. (1928)**
Growth changes in the body and some of the organs of the chick at time of hatching.
Anat Rec, 39(2): 215-228
- Lebacqz-Verheyden, A.-M., Vaerman, J. P., Heremans, J. F. (1972a)**
A possible homologue of mammalian IgA in chicken serum and secretions.
Immunology, 22(1): 165-175
- Lebacqz-Verheyden, A.-M., Vaerman, J. P., Heremans, J. F. (1972b)**
Immunohistologic distribution of the chicken immunoglobulins.
J Immunol, 109(3): 652-654
- Lee, C. S., Kaestner, K. H. (2004)**
Clinical endocrinology and metabolism. Development of gut endocrine cells.
Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 18(4): 453-462

- Leslie, G. A., Clem, L. W.** (1969)
Phylogeny of immunoglobulin structure and function III. Immunoglobulins of the chicken.
J Exp Med, 130(6): 1337-1352
- Leslie, G. A., Martin, L. N.** (1973)
Studies on the Secretory Immunologic System of Fowl III. Serum and Secretory IgA of the Chicken.
J Immunol, 110(1): 1-9
- Li, D., Gallup, M., Fan, N., Szymkowski, D. E., Basbaum, C. B.** (1998)
Cloning of the Amino-terminal and 5'-Flanking Region of the Human MUC5AC Mucin Gene and Transcriptional Up-regulation by Bacterial Exoproducts.
J Biol Chem, 273(12): 6812-6820
- 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
- Lim, R.K.S., Ivy, A.C., McCarthy, J.E.** (1925)
Contributions to the physiology of the gastric secretion.
I: Gastric secretion by local (mechanical and chemical) stimulation.
Q J Exp Physiol, 15(1): 13-53
- Liman, N., Alan, E., Küçük Bayram, G.** (2010)
The differences between the localizations of MUC1, MUC5AC, MUC6 and osteopontin in quail proventriculus and gizzard may be a reflection of functional differences of stomach parts.
J Anat, 217(1): 57-66
- Litman, G. W., Rast, J. P., Shablott, M. J., Haire, R. N., Hulst, M., Roess, W., Litman, R.T., Hinds-Frey, K.R., Zilch, A., Amemiya, C. T.** (1993)
Phylogenetic diversification of immunoglobulin genes and the antibody repertoire.
Mol Biol Evol, 10(1): 60-72
- Loeffler, K.** (2015)
Einhöhliger Magen
Aus: Loeffler, K., Gäbel, G.: Anatomie und Physiologie der Haustiere.
Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, 14. Aufl.: 219-225
- Long, J. F.** (1967)
Gastric secretion in unanesthetized chickens.
Am J Physiol, 212: 1303-1307

- Luppa, H.** (1962)
Histologie, Histogenese und Topochemie der Drüsen des Sauropsidenmagens II. Aves
Acta histochem, 13: 233-300
- Macpherson, A. J., Lamarre, A., McCoy, K., Harriman, G. R., Odermatt, B., Dougan, G., Hengartner, H., Zinkernagel, R. M.** (2001)
IgA production without μ or δ chain expression in developing B cells.
Nat Immunol, 2(7): 625-631
- Mangold, E.** (1906)
Der Muskelmagen der körnerfressenden Vögel, seine motorischen Funktionen und ihre Abhängigkeit vom Nervensystem.
Pflug Arch Eur J Physiol, 111(5): 163-240
- Mansikka, A.** (1992)
Chicken IgA H chains. Implications concerning the evolution of H chain genes.
J Immunol, 149(3): 855-861
- Martínez, A., López, J., Sesma, P.** (1993)
Development of the diffuse endocrine system in the chicken proventriculus.
Cell Tissue Res, 271(1): 107-113
- Martínez, A., López, J., Sesma, P.** (2000)
The nervous system of the chicken proventriculus: an immunocytochemical and ultrastructural study.
Histochem J, 32(1): 63-70
- Matsumoto, R., Hashimoto, Y.** (2000)
Distribution and developmental change of lymphoid tissues in the chicken proventriculus.
J Vet Med Sci, 62(2), 161-167
- McLelland, J.** (1978)
Verdauungssystem
Aus: King, A.S., McLelland J.: Anatomie der Vögel.
Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart: 92-110
- Menzies, G., Fisk, A.** (1963)
Observations on the oxyntico-peptic cells in the proventricular mucosa of *Gallus domesticus*.
Q J Microsc Sci, 3(66): 207-215
- Michel, G.** (1971)
Zur Histologie und Histochemie der Schleimhaut des Drüsen- und Muskelmagens von Huhn und Ente.
Monatsh Veterinärmed, 26(23): 907-911

Michel, G. (1993)

Lymphgefäßsystem

Aus: Salomon, V.: Lehrbuch der Geflügelanatomie.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart: 302-307

Mirabella, N., Squillaciotti, C., Gevonese, A., Germano, G., Paino, G. (2003)

Topography and neurochemistry of the enteric ganglia in the proventriculus of the duck (*Anas Platyrhynchos*).

Anat Embryol (Berl), 207(2): 101-108

Monesi, V. (1960)

Differentiation of argyrophil and argentaffin cells in organotypic cultures of embryonic chick intestine.

J Embryol Exp Morphol, 8(3): 302-313

Moniaux, N., Nollet, S., Porchet, N., Degand, P., Laine, A., Aubert, J. (1999)

Complete sequence of the human mucin MUC4: a putative cell membrane-associated mucin.

Biochem J, 338: 325-333

Moore, S. J. (1999)

Food breakdown in an avian herbivore: who needs teeth?

Aust J Zool, 47(6): 625-632

Mulisch, M., Welsch, U. (2010)

Romeis Mikroskopische Technik

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 18. Aufl.

Murphy, K., Travers, P., Walport, M. (2009)

Die Struktur eines typischen Antikörpermoleküls

Aus: Murphy, K., Travers, P., Walport, M.: Janeway Immunologie.

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 7. Aufl.: 143-151

Neglia, S., Arcamone, N., Esposito, V., Gargiulo, G., de Girolamo, P. (2005)

Presence and distribution of ghrelin-immunopositive cells in the chicken gastrointestinal tract.

Acta histochem, 107(1): 3-9

Nishida, T., Paik, Y., Yasuda, M. (1969)

Comparative and Topographical Anatomy of the Fowl

LVIII. Blood Vascular Supply of the Glandular Stomach (Ventriculus glandularis) and the Muscular Stomach (Ventriculus muscularis).

Jpn J Vet Sci, 31(2): 51-70

Ogunkoya, Y. O., Cook, R. D. (2009)

Histomorphology of the Proventriculus of three Species of Australian Passerines: *Lichmera indistincta*, *Zosterops lateralis* and *Poephila guttata*.

Anat Histol Embryol, 38(4): 246-253

- Oguro, K., Ikeda, M.** (1974)
Studies on the Transit of the Content in the Chicken Gastro-Intestine.
II. Relationship between Movements of Gizzard and Duodenum and the
Transit of Contents in the Small Intestine.
Nihon Juigaku Zasshi, 36(6): 513-523
- Olowo-Okoron, M. O., Amure, B. O.** (1973)
Gastrin Activity in the Chicken Proventriculus.
Nature, 246(5433): 424-425
- Palatroni, P., Gabrielli, G., Scattolini, B.** (1980)
Histochemical localization of carbonic anhydrase in fowl proventriculus.
Experientia, 36(6): 678-679
- Parmley, R. R., Gendler, S. J.** (1998)
Cystic fibrosis mice lacking Muc1 have reduced amounts of intestinal
mucus.
J Clin Invest, 102(10): 1798-1806
- Parry, S. H., Porter, P.** (1978)
Characterization and localization of secretory component in the chicken.
Immunology, 34(3): 471-478
- Perez-Vilar, J., Hill, R. L.** (1999)
The structure and assembly of secreted mucins.
J Biol Chem, 274(45): 31751-31754
- Peppard, J. V., Rose, M. E., Hesketh, P.** (1983)
A functional homologue of mammalian secretory component exists in
chickens.
Eur J Immunol, 13(7): 566-570
- Pinto-de-Sousa, J., David, L., Reis, C. A., Gomes, R., Silva, L., Pimenta, A.**
(2002)
Mucins MUC1, MUC2, MUC5AC and MUC6 expression in the evaluation
of differentiation and clinico-biological behaviour of gastric carcinoma.
Virchows Arch, 440(3): 304-310
- Porchet, N., Aubert, J. P.** (2004)
Les gènes MUC: mucin or not mucin? That is the question.
Med Sci (Paris), 20(5): 569-574
- Ramos-Vara, J. A.** (2005)
Technical aspects of immunohistochemistry.
Vet Pathol, 42(4): 405-426
- Rawdon, B. B., Andrew, A.** (1981)
An immunocytochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal
tract of chicks at hatching.
Cell Tissue Res, 220(2): 279-292

Reis, C. A., David, L., Nielsen, P. A., Clausen, H., Mirgorodskaya, K., Roepstorff, P., Sobrinho-Simões, M. (1997)

Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody.

Int J Cancer, 74(1): 112-121

Reis, C. A., David, L., Correa, P., Carneiro, F., de Bolós, C., Garcia, E., Mandel, U., Clausen, H., Sobrinho-Simões, M. (1999)

Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression.

Cancer Res, 59(5): 1003-1007

Rodríguez-Burford, C., Barnes, M. N., Berry, W., Partridge, E. E., Grizzle, W. E. (2001)

Immunohistochemical expression of molecular markers in an avian model: a potential model for preclinical evaluation of agents for ovarian cancer chemoprevention.

Gynecol Oncol, 81(3): 373-379

Romanoff, A. L. (1960)

The digestive system

Aus: Romanoff A. L.: The avian embryo. Structural and Functional Development.

The Macmillan Company, New York: 429-482

Rose, M. C., Voynow, J. A. (2006)

Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease.

Physiol Rev, 86(1): 245-278

Roy, M. K. (1973)

On the distribution of lymphocytes and mast cells in the gastric mucosa of the pig (*Sus scrofa domestica* L.).

Nord Vet Med, 25(1): 33-37

Salomon, F.-V. (1993)

Kreislaufsystem

Aus: Salomon, V.: Lehrbuch der Geflügelanatomie.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart: 265-302

Scholl, K. (2004)

Histologische und immunhistochemische Untersuchung zur postnatalen Entwicklung der Fundusdrüsenregion des Schweinemagens.

Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München

Seeger, J. (1993)

Nervensystem

Aus: Salomon, V.: Lehrbuch der Geflügelanatomie.

Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart: 335-373

- Sheehan, J. K., Kirkham, S., Howard, M., Woodman, P., Kutay, S., Brazeau, C., Buckley, J., Thornton, D. J.** (2004)
Identification of molecular intermediates in the assembly pathway of the MUC5AC mucin.
J Biol Chem, 279(15): 15698-15705
- Shires, A., Thompson, J. R., Turner, B. V., Kennedy, P. M., Goh, Y. K.** (1987)
Rate of passage of corn-canola meal and corn-soybean meal diets through the gastrointestinal tract of broiler and white leghorn chickens.
Poult Sci, 66(2): 289-298
- Sinowatz, F.** (2010)
Gastrulation beim Vogel
Aus: Rüsse, I., Sinowatz, F.: Lehrbuch der Embryologie der Haussäugetiere.
Paul Parey Verlag, München: 143-144
- Sjögren, S.J.** (1941)
Über die Embryonalentwicklung des Magens beim Huhn.
Gegenbaurs Morpholog Jahrb, 86: 382-406
- Smith, D. M., Grasty, R. C., Theodosiou, N. A., Tabin, C. J., Nascone-Yoder, N. M.** (2000)
Evolutionary relationships between the amphibian, avian, and mammalian stomachs.
Evol Dev, 2(6): 348-359
- Solari, R., Kraehenbuhl, J. P.** (1984)
Biosynthesis of the IgA antibody receptor: a model for the transepithelial sorting of a membrane glycoprotein.
Cell, 36(1): 61-71
- Stähle, U. C.** (2015)
Licht- und rasterelektronenmikroskopische Studie zur postnatalen Entwicklung der Blinddärme des Huhnes (*Gallus domesticus*).
Vet med Diss, Ludwig-Maximilians-Universität München
- Strous, G. J., Dekker, J.** (1992)
Mucin-type glycoproteins.
Crit Rev Biochem Mol Biol, 27(1-2): 57-92
- Svihus, B.** (2011)
The gizzard: function, influence of diet structure and effects on nutrient availability.
World's Poult Sci J, 67(2): 207-224
- Tamate, H., McGilliard, A. D., Jacobson, N. L., Getty, R.** (1963)
The effect of various diets on the histological development of the stomach in the calf.
Tohoku J Agric Res, 14: 171-193

- Tizard, I.** (2002)
The avian antibody response.
Semin Avian Exot Pet, 11(1): 2-14
- Toner, P. G.** (1963a)
Postosmication of submucosal gland cells in the fowl proventriculus.
Z Zellforsch Mikrosk Anat, 60(2): 204-212
- Toner, P. G.** (1963b)
The fine structure of resting and active cells in the submucosal glands of the fowl proventriculus.
J Anat, 97: 575-583
- Toner, P. G.** (1964)
The fine structure of gizzard gland cells in the domestic fowl.
J Anat, 98: 77-85
- Toner, P. G.** (1965)
Development of the acid secretory potential in the chick embryo proventriculus
J Anat, 99: 389-398
- Tur, J. A., Rial, R. V., Esteban, S., Rayó, J. M.** (1986)
Ontogeny of the gastrointestinal motility in young broilers.
Comp Biochem Physiol A Physiol, 83(1): 61-65
- Turk, D. E.** (1982)
The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization.
Poult Sci, 61(7): 1225-1244
- Turner, B. S., Bhaskar, K. R., Hadzopoulou-Cladaras, M., LaMont, J. T.** (1999)
Cysteine-rich regions of pig gastric mucin contain von Willebrand factor and cystine knot domains at the carboxyl terminal.
Biochim Biophys Acta, 1447(1): 77-92
- Usellini, L., Tenti, P., Fiocca, R., Capella, C., Buffa, R., Terenghi, C., Polak, J.M., Solcia, E.** (1983)
The endocrine cells of the chicken proventriculus.
Basic Appl Histochem, 27(2): 87-102
- Valnes, K., Brandtzaeg, P., Elgjo, K., Stave, R.** (1986)
Quantitative distribution of immunoglobulin-producing cells in gastric mucosa: relation to chronic gastritis and glandular atrophy.
Gut, 27(5): 505-514
- Van Alten, P. J., Fennell, R. A.** (1957)
Histogenesis and histochemistry of the digestive tract of chick embryos.
Anat Rec, 127(4): 677-695

- Van der Klis, J. D., Verstegen, M. W. A., De Wit, W.** (1990)
Absorption of minerals and retention time of dry matter in the gastrointestinal tract of broilers.
Poult Sci, 69(12): 2185-2194
- Ventura, A., do Nascimento, A. A., dos Santos, M. A. J., Vieira-Lopes, D. A., Sales, A., Pinheiro, N. L.** (2013)
Histological Description of Morphogenesis of the Gastroesophageal Mucosa of *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus, 1758).
Int J Morphol, 31(4): 1331-1339
- Verma, M., Davidson, E. A.** (1994)
Mucin genes: structure, expression and regulation.
Glycoconj J, 11(3): 172-179
- Vial, J. D., Garrido, J.** (1979)
Comparative cytology of hydrochloric acid secreting cells.
Arch Biol Med Exp, 12(1): 39-48
- Vial, J. D., Garrido, J., Dabike, M., Koenig, C.** (1979)
Muscle proteins and the changes in shape of avian oxynticopeptic cells in relation to secretion.
Anat Rec, 194(2): 293-309
- Viertlboeck, B., Göbel, T.W.F.** (2008)
Avian T Cells: Antigen Recognition and Lineages
Aus: Davison, F., Kaspers, B., Schat, K. A.: Avian Immunology.
Academic Press, London: 91-106
- Vollmerhaus, B., Sinowatz, F.** (2004)
Verdauungsapparat
Aus: Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E.: Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere, Band V: Anatomie der Vögel.
Paul Parey Verlag, Stuttgart, 3. Aufl.: 176-224
- Wada, R., Sakata, I., Kaiya, H., Nakamura, K., Hayashi, Y., Kangawa, K., Sakai, T.** (2003)
Existence of ghrelin-immunopositive and-expressing cells in the proventriculus of the hatching and adult chicken.
Regul Pept, 111(1-3): 123-128
- Waibl, H., Sinowatz, F.** (2004)
Kreislaufapparat und Lymphatisches System
Aus: Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E.: Lehrbuch der Anatomie der Haussäugetiere, Band V: Anatomie der Vögel.
Paul Parey Verlag, Stuttgart, 3. Aufl.: 283-331

Walter, G. F. (1977)

Entwicklung und Funktion endokriner Zellen im embryonalen Proventriculus des Huhnes.

Virchows Arch A Path Anat Histol, 372(4): 343-354

Watanabe, H., Kobayashi, K. (1974)

Peculiar secretory IgA system identified in chickens.

J Immunol, 113(5): 1405-1409

Winget, C. M., Ashton, G. C., Cawley, A. J. (1962)

Changes in gastrointestinal pH associated with fasting in the laying hen.

Poult Sci, 41(4): 1115-1120

Yamamoto, Y., Kubota, T., Atoji, Y., Suzuki, Y. (1996)

Structure of the perilobular sheath of the deep proventricular gland of the chicken: presence and possible role of myofibroblasts.

Cell Tissue Res, 285(1): 109-117

Yamanaka, Y., Yamada, J., Kitamura, N., Yamashita, T. (1989)

An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract.

Z Mikrosk Anat Forsch, 103(3): 437-446

Zhu, L., Wang, J. J., Shi, X. D., Hu, J., Chen, J. G. (2013)

Histological Observation of the Stomach of the Yellow-billed Grosbeak.

Int J Morphol, 31(2): 512-515

Ziswiler V., Farner D.S. (1972)

Digestion and the digestive system

Aus: Farner, D. S, King, J. R.: Avian Biology.

Academic Press, London, 2. Aufl.: 343-430

8.2 Abkürzungsverzeichnis

A., Aa.	Arteria, Arteriae
Abb.	Abbildung
a. d.	an der
AG	Aktiengesellschaft
Aqua dest.	Aqua destillata (Destilliertes Wasser)
°C	Grad Celsius
ca.	zirka
CCK	Cholecystokinin
CD	Cluster of differentiation
cm	Zentimeter
C-Region	konstante Region
Co.	Company
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CPD	Critical Point Dryer
DAB	Diaminobenzidin
et al.	et alii
Fa.	Firma
g	Gramm
GAH	Glutaraldehyd
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
H-Kette	schwere Kette
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HCl	Salzsäure
H/E	Hämatoxylin-Eosin
IgA	Immunglobulin A
IgD	Immunglobulin D
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
IgY	Immunglobulin Y
ITAM	immunoreceptor tyrosine-based activation motif
J-Kette	joining Kette
L-Kette	Leicht-Kette
LLC	Limited Liability Company
LSAB	Labelled-Streptavidin-Biotin
Ltd.	Limited company
M., Mm.	Musculus, Musculi
mA	Milliampere
MDa	Megadalton
M/E	Methanol/Eisessig
mg	Milligramm
MHC	Major Histocompatibility Complex
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol
mm	Millimeter

Verzeichnisse

mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MUC	Mucin
MW	Mittelwert
N., Nn.	Nervus, Nervi
PBS	Phosphate buffered saline
PC	Personal Computer
pH	potentia Hydrogenii
REM	Rasterelektronenmikroskop
SC	sekretorische Komponente
Stabw.	Standardabweichung
Tab.	Tabelle
TCR	T-Zell-Rezeptor
µm	Mikrometer
V., Vv.	Vena, Venae
V-Region	variable Region

8.3 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen:

Abb. 1	Transversalschnitt durch einen Hühnerembryo (modifiziert nach Bellairs und Osmond, 2005); 1 und 2 Schluss des primitiven Darmrohrs; 3 Verlust des ventralen Mesenteriums	3
Abb. 2	Schematische Darstellung des Drüsenmagens (nach Yamamoto et al., 1996).....	13
Abb. 3	Immunglobulinmonomer des Vogels (in Anlehnung an Murphy et al., 2009); V- variabler Abschnitt; C- konstanter Abschnitt; --SH ₂ -Brücken	25
Abb. 4	Übersicht über den Drüsenmagen; 1. Lebenstag; tiefe Drüse mit Mündung des Ausführungsganges auf einer Papille; ↖ hochprismatisches Epithel des Ausführungsganges und der oberflächlichen Drüsen; H/E-Färbung.....	36
Abb. 5	<i>Tunica mucosa</i> des Drüsenmagens; 7. Lebenstag; Zellen des Oberflächenepithels stark PAS-positiv; Zellen des Ausführungsgangs (A) und des Sammelraums (S) moderat bis schwach PAS-positiv; Insert: Oberflächliches Epithel; supranukleär deutlich positive PAS-Reaktion der Epithelzellen; PAS-Reaktion	36
Abb. 6	Sägeblattoptik der tiefen Drüsen; adult; ↖ azidophile Vesikel im Zytoplasma der Drüsenzellen; H/E-Färbung	37
Abb. 7	Aufsicht auf eine Papille des Drüsenmagens; 14. Lebenstag; zirkulär verlaufende Falten um ★ die Mündung des Ausführungsgangs der tiefen Drüse; Mündung teilweise durch den zähen <i>Mucus</i> des Drüsenmagens verschlossen; REM-Aufnahme.....	39
Abb. 8	Querschnitt durch einen Ausführungsgang einer tiefen Drüse des Drüsenmagens; 1. Lebenstag; ★ hexagonaler Grundriss der Epithelzellen erkennbar; ↖ im Anschnitt hochprismatische, einschichtige Anordnung der Epithelzellen; REM-Aufnahme	40
Abb. 9	Oberflächenepithel des Drüsenmagens; 1. Lebenstag; Epithelzellen wölben sich ins <i>Lumen</i> vor und tragen Mikrovilli auf der Oberfläche; REM-Aufnahme	40

Abb. 10	Querschnitt der tiefen Drüsen des Drüsenmagens; REM-Aufnahme; A: multilobuläre Drüsen; einzelne Drüsenpakete sind durch starke Bindegewebssepten voneinander abgeteilt; 1. Lebenstag; B: tiefe Drüsenzellen; Ährenoptik; Drüsenzellen haben nur im basalen Bereich Verbindung mit der Nachbarzelle; adult.....	41
Abb. 11	Durchmesser der Kutikula in den verschiedenen Altersstufen; Dargestellt sind der Mittelwert (MW) und die Standardabweichung (Stabw.)	42
Abb. 12	Epithel der Muskelmagendrüsen beim einen Tag alten Küken; ↯ Viele hellere, größere Zellen; H/E-Färbung	44
Abb. 13	Epithel der Muskelmagendrüsen beim drei Tage alten Küken; ↯ Wenige hellere, größere Zellen; H/E-Färbung	44
Abb. 14	Epithel der Muskelmagendrüsen beim adulten Huhn; einheitliche Epithelzellen; H/E-Färbung	44
Abb. 15	Epithel des Muskelmagens mit Kutikula; 7. Lebenstag; deutlich PAS-positive vertikale Koilinsäulen innerhalb der Drüsen; Fortsetzung der vertikalen Streifung innerhalb der Kutikula; PAS-Reaktion.....	45
Abb. 16	Aufsicht auf die Kutikula des Muskelmagens; 14. Lebenstag; ★ Vertikale härtere Koilinsäulen im Wechsel mit poröser horizontaler Matrix; Ackerbodenoptik; REM-Aufnahme.....	46
Abb. 17	Unterseite der abgezogenen Kutikula; 3. Lebenstag; Negativ-Abdruck des Oberflächenepithels mit Wabenstruktur; REM-Aufnahme	47
Abb. 18	Epitheloberfläche des Muskelmagens nach Entfernung der Kutikula; 3. Lebenstag; sich in der Tiefe verzweigende Schlauchdrüsen erkennbar mit vereinzelt Rückständen der Kutikula; REM-Aufnahme.....	47
Abb. 19	Querschnitt durch den Muskelmagen im Übergangsbereich zwischen Epithel (E) und Kutikula (K); 1. Lebenstag; Vertikale Koilinsäulen (S) innerhalb der Ausführungsgänge der Muskelmagendrüsen; Grad der Säulenorganisation nimmt in Richtung Kutikula zu; REM-Aufnahme	48
Abb. 20	Immunhistochemischer Nachweis von MUC1 am Drüsenmagen; Oberflächenepithelzellen moderat positiv markiert; tiefe Drüsenzellen deutlich positiv markiert; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan A: 3. Lebenstag; B: 14. Lebenstag	50
Abb. 21	Immunhistochemischer Nachweis von MUC1 im Epithel des Muskelmagens; 7. Lebenstag; Epithelzellen supranukleär positiv markiert für MUC1; ↯ lumennahe Zellen sind nicht markiert; Kutikula (K); DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	51

Abb. 22	Immunhistochemischer Nachweis von MUC2 im Epithel des Muskelmagens; 14. Lebenstag; ↖ apikales Kompartiment der Zellen stärker angefärbt als basales Kompartiment; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	52
Abb. 23	Immunhistochemischer Nachweis von MUC5AC am Drüsenmagen; 7. Lebenstag; deutlich positive Reaktion der tiefen Drüsenzellen; Insert: das Zytoplasma der Drüsenzellen zeigt eine homogen positive Reaktion; Nuklei der Drüsenzellen sind negativ; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	53
Abb. 24	Immunhistochemischer Nachweis von MUC5AC am Muskelmagen; 3. Lebenstag; ↖ positive Reaktion der Epithelzellen abnehmend in Richtung Kutikula (K); DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	54
Abb. 25	Immunhistochemischer Nachweis von MUC6 in den tiefen Drüsen des Drüsenmagens; 7. Lebenstag; schwache bis moderate Reaktion der Drüsenzellen; ↖ vermehrt supranukleär gelegene positive Vesikel im Zytoplasma der Drüsenzellen, negativer Zellkern; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	55
Abb. 26	Lymphozyten im Drüsenmagen; 14. Lebenstag; A: ↖ Lymphozytenansammlung im Bindegewebe einer tiefen Drüse in der Nähe des Ausführungsgangs; H/E-Färbung; B: CD3-Rezeptor markierte T-Lymphozyten im Drüsenmagen; T-Lymphozytenansammlung im Bindegewebe einer tiefen Drüse in der Nähe des Ausführungsgangs; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	57
Abb. 27	T-Lymphozytenansammlung nahe eines Ausführungsgangs; 7. Lebenstag; durch den CD3-Rezeptor deutlich markierte Zellmembran der T-Lymphozyten; moderate Reaktion des Zytoplasmas; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	58
Abb. 28	Nachweis von IgA-produzierenden Zellen in den Bindegewebssepten der tiefen Drüsen des Drüsenmagens; 21. Lebenstag; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	59
Abb. 29	IgA-positive Zellen in der <i>Lamina propria mucosae proventricularis</i> ; 14. Lebenstag; einzelne positive Zellen im Randbereich einer Lymphozytenansammlung; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun	60
Abb. 30	IgA-markierte Epithelzellen im Faltenbereich des Oberflächenepithels; 21. Lebenstag; homogene Reaktion des Zytoplasmas der IgA-markierten Zellen, negativer Zellkern; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalaun.....	61

Abb. 31	Extrazelluläres IgA im <i>Mucus</i> des Drüsenmagens beim einen Tag alten Küken; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	62
Abb. 32	Extrazelluläres IgA im <i>Mucus</i> des Drüsenmagens beim sieben Tage alten Küken; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	62
Abb. 33	Nachweis der SC in den Zellen des Oberflächenepithels und im anhaftenden <i>Mucus</i> ; 7. Lebenstag; Insert: Intensive Reaktion des supranukleär gelegenen Zytoplasmas der Epithelzellen auf SC; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan.....	63
Abb. 34	Lokalisation der SC im apikalen Bereich der Epithelzellen eines Sammelraums im Drüsenmagen; 7. Lebenstag; Entstehung eines positiven Randsaums; DAB-Reaktion, Gegenfärbung mit Hämalan	64

Tabellen:

Tab. 1	Probenmaterial.....	27
Tab. 2	Anästhesieprotokoll.....	28
Tab. 3	Übersicht über die verwendeten Antikörper	31
Tab. 4	Positivkontrollen	32
Tab. 5	Durchmesser des Kutikula-Querschnitts in μm im Vergleich der verschiedenen Altersstufen; Messwerte an je 5 verschiedenen Lokalisationen pro Tier.....	108

9 Anhang

Tab. 5 Durchmesser des Kutikula-Querschnitts in μm im Vergleich der verschiedenen Altersstufen; Messwerte an je 5 verschiedenen Lokalisationen pro Tier

1 Tag	M 1	M 2	M 3	M 4	M 5		MW	Stabw
Kük 20	584,5	496,1	430,2	503,8	456,2			
Kük 22	344,1	335,5	505,5	265,9	389,6			
Kük 23	444,3	421,9	384,3	410,9	690,3		444,2	100,8
3 Tage								
Kük 6	320,8	429,3	410,4	416,8	395,4			
Kük 24	332,2	305,8	355,7	457	362,5			
Kük 26	405	530,3	421	486,3	357		399,0	60,2
7 Tage								
Kük 28	642	589,2	511,1	739,5	507,9			
Kük 30	548,4	489,4	352,1	783,3	385,7			
Kük 31	352,2	357,8	553,6	475,8	562,3		523,4	127,7
14 Tage								
Kük 33	475,1	682,3	683,2	820,2	379,3			
Kük 34	568,9	923,5	591,8	493,1	568			
Kük 35	389,6	492,2	655,8	603,2	638		597,6	142,6
21 Tage								
Kük 36	766,9	986,8	716,9	687,3	488,9			
Kük 38	508,1	626,9	588,2	768,5	764,3			
Kük 39	649,6	705,4	1031	587,6	835,3		714,1	149,6
>210 Tage								
Huhn 1	795,7	919,9	1007	661,1	797,1			
Huhn 2	882,3	673,7	715	656,9	693,8			
Huhn 3	876,3	701,7	863,5	918,5	982		809,6	116,4

M: Messung; MW: Mittelwert, Stabw: Standardabweichung

10 Danksagung

Mein herzlicher Dank für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Betreuung, den fachlichen Rat und die stetige, persönliche Unterstützung bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit gilt Herrn Prof. Dr. Amselgruber und im Besonderen Herrn PD Dr. Steffl, der mich nach der Pensionierung von Herrn Prof. Amselgruber weiterhin betreut hat.

Ganz herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Dr. Gareis für die Übernahme und Vorlage der Dissertation an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwigs-Maximilians-Universität in München.

Herrn Dr. Schweiger möchte ich sehr für den fachkundigen und stets hilfreichen Rat bei der Korrektur meiner Arbeit danken.

Ferner gilt mein Dank Frau Müller für die Unterstützung und freundliche Anleitung bei der Laborarbeit, sowie allen anderen Mitarbeitern des Instituts und der Tierklinik für das freundliche Arbeitsklima und die angenehme Zusammenarbeit.

Bei meinen Promotionskollegen und meiner Promotionskollegin möchte ich mich für ihre stete Unterstützung bei der Probennahme, den konstruktiven Austausch und das freundschaftliche Miteinander herzlich bedanken.

Des Weiteren bedanke ich mich bei der Versuchsstation „Unterer Lindenhof“ der Universität Hohenheim und der Firma A.C. Weiss, Kirchberg/Iller für die Überlassung der Tiere.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir mit ihrer stetigen Unterstützung und ihrem Verständnis das Studium und die Promotion ermöglicht haben und auf die ich mich immer verlassen kann.