

Feinstrukturelle Morphologie und Histopathologie der verhornenden Epidermis

Von

Constantin E. Orfanos

82 Abbildungen in 132 Einzeldarstellungen
5 Tabellen



Georg Thieme Verlag Stuttgart

Feinstrukturelle Morphologie und Histopathologie der verhornenden Epidermis

Von

Constantin E. Orfanos

82 Abbildungen in 132 Einzeldarstellungen
5 Tabellen

1972



Georg Thieme Verlag Stuttgart

Dozent Dr. CONSTANTINE E. ORFANOS,
Oberarzt an der Universitäts-Hautklinik, Köln

Gedruckt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Diejenigen Bezeichnungen, die zugleich eingetragene Warenzeichen sind, wurden *nicht* besonders kenntlich gemacht. Es kann also aus der Bezeichnung einer Ware mit dem für diese eingetragenen Warenzeichen nicht geschlossen werden, daß die Bezeichnung ein freier Warenname ist. Ebenso wenig ist zu entnehmen, ob Patente oder Gebrauchsmuster vorliegen.

Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Photokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

© Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1972 — Printed in Germany — Satz und Druck: C. Maurersche Buchdruckerei, Geislingen/Steige.

ISBN 3 13 466801 7

Feinstrukturelle Morphologie
und Histopathologie
der verhornenden Epidermis

Vorwort

Grundlage dieser Studie sind eigene elektronenmikroskopische Untersuchungen an der gesunden und krankhaft veränderten *Haut*, sowie an anderen verhornenden Geweben des menschlichen Körpers (*Nägel, Haare*), die mit verschiedenen Methoden durchgeführt wurden. Darüber hinaus werden in diesem Buch die wichtigsten elektronenmikroskopischen Befunde an der menschlichen Epidermis in kurzer Form zusammengefaßt und mit den eigenen Beobachtungen verglichen.

Unsere Untersuchungen wurden im Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie der Universität Düsseldorf unter der Anleitung von Herrn Prof. H. RUSKA in Angriff genommen und in der Hautklinik der Universität Köln von Herrn Prof. G. K. STEIGLEDER gefördert und bis heute fortgesetzt. Beiden möchte ich an dieser Stelle für ihre Kritik, Beratung und bereitwillige Unterstützung meinen aufrichtigen Dank aussprechen. Nur dadurch war es möglich, das Studium der gesunden und der krankhaft veränderten Haut licht- und elektronenmikroskopisch voranzutreiben und die elektronenmikroskopischen Befunde den lichtmikroskopischen gegenüberzustellen.

Weiterhin bin ich Herrn Prof. H. GARTMANN (Universitäts-Hautklinik Köln) für die wertvollen Anregungen und Diskussionen über das lichtmikroskopische Substrat zahlreicher Dermatosen und Herrn Prof. Th. NASEMANN (Direktor der Universitäts-Hautklinik Frankfurt a. M.) für die freundliche Überlassung einiger elektronenmikroskopischer Abbildungen zu Dank verpflichtet.

Meine besondere Anerkennung gebührt meinen Mitarbeitern, Herrn Dr. G. MAHRLE, Fr. E. BODEUX, Fr. G. DEDERICHS und Fr. I. WESTERMANN, die mich bei der Zusammenstellung unserer Befunde und der Anfertigung der Zeichnungen und der elektronenmikroskopischen Abbildungen in mühevoller Arbeit unterstützt haben. Herr Dr. G. MAHRLE war darüber hinaus an vielen Teiluntersuchungen, die hier auszugsweise erwähnt werden, maßgeblich beteiligt. Das Elektronenmikroskop Zeiss EM 9a ist eine Gabe der Volkswagen-Stiftung. Einige elektronenmikroskopische Aufnahmen in hohen Vergrößerungen hat Herr Dipl.-Phys. M. HAHN im Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie der Universität Düsseldorf (Dir.: Prof. H. RUSKA) mit einem Siemens Elmiskop I gemacht.

Die Untersuchungen mit dem Rasterelektronenmikroskop wurden im Institut für Medizinische Physik der Universität Münster (Direktor: Prof. G. PFEFFERKORN), im Institut für Angewandte Mikroskopie, Photographie und Mikrophotographie in Karlsruhe (Direktor: Dr. ing. habil. H. REUMUTH) und in den Laboratorien der Fa. Henkel & Cie GmbH Düsseldorf durchgeführt.

Dieser Monographie diene als Grundlage meine Habilitationsschrift, die 1969 der Universität Köln vorgelegt und angenommen wurde. Ihre Veröffentlichung ist der Initiative des Georg Thieme Verlages, Stuttgart und der finanzieller Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg, zu verdanken.

Köln, im Dezember 1971

CONSTANTIN E. ORFANOS

Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1	PATHOLOGISCH VERÄNDERTE EPIDERMIS	85
Material und Methoden	3	Allgemeiner Teil	85
NORMALE EPIDERMIS	5	Spongiose	85
Keratinozyten	5	Akanthose	87
Keratinozyten der embryonalen Haut	5	Hyperkeratose	89
Keratinozyten der Erwachsenenhaut	7	Dyskeratose	91
Morphologie der Keratinozyten	10	Parakeratose	93
Stratum Malpighii	10	Akantholyse	99
Stratum intermedium	17	Echte Akantholyse	101
Stratum corneum	22	Pseudoakantholyse	101
Allgemeines	22	Zytolyse oder Nekrolyse	101
Die drei Zonen des Stratum corneum	25	Atrophie	103
Die Hornzellengrenzen	27	Schlußfolgerungen	105
Palmar- und Plantarhaut	28	Spezieller Teil	109
Die Barriere im Elektronenmikroskop	35	Dermatitis	109
Interzellularräume	38	Allergische Spätreaktion vom Ekzemtyp und vom Tuberkulintyp	109
IZR des Stratum Malpighii und des Stratum intermedium	38	Dermatitis actinica acuta	112
Keratinosomen (sog. Selby-Odland-bodies)	40	Dermatitis actinica chronica	112
IZR des Stratum corneum	43	Lichen ruber planus	113
Interzelluläre Kontaktzonen	44	Hautkrankheiten mit Hyperkeratose und Dyskeratose	120
Allgemeines	44	Ichthyosis nitida (acquisita)	120
Desmosomen	44	Ichthyosis vulgaris	122
Nexus	52	Erythrodermia congenitalis ichthyosiformis	124
Saure Phosphatase und Lysosomen	54	Naevus verrucosus	126
Die Bedeutung der epidermalen sauren Phosphatase	56	Zinsser-Cole-Engmann-Syndrom (sog. Dyskeratosis congenita)	129
Arylsulfatase — unspezifische Esterasen (Cholinesterasen usw.)	59	Psoriasis vulgaris	129
Keratin und Keratinisation		Mucinosis follicularis	144
Allgemeines	62	Bullöse Dermatosen	144
Die Darstellung der Keratinstruktur mit saurem Na-thioglykolat [sNaThG-Methode]	64	Blasenkrankheiten mit akantholytischer Blasenbildung	147
Aufbau und Struktur der α -Keratine	67	Pemphigus vulgaris	147
Das harte und das weiche Keratin	73	Pemphigus foliaceus	149
Vorläufer des weichen epidermalen Keratins	75	Pemphigus erythematosus (Senear-Usher)	149
Tonofilamente und Tonofibrillen	75	Pemphigus chronicus benignus familiaris (Hailey-Hailey)	152
Keratohyalin	77	Dyskeratosis follicularis (Morbus Darier)	153
Die epidermale Keratinisation	81	Hautkrankheiten mit epidermolytischer Blasenbildung	154
Struktur des epidermalen Keratins		Epidermolysis bullosa simplex	156
A- und B-Hornzellen	81	Epidermolysis bullosa letalis	156
Der Keratinisationsprozeß	82		

Epidermolysis bullosa dystrophica	158	Keratoakanthom	167
Erythema exsudativum multiforme	158	Morbus Paget	169
Dermatitis herpetiformis Duhring	160	Morbus Bowen	169
Bullöses Pemphigoid		Erregerbedingte Hautkrankheiten	171
(sog. Alterspemphigus)	160	Bakterien, Pilze	171
Benignes Schleimhautpemphigoid	162	Viren	175
Blasen verschiedener Ätiologie	162	Herpesviren	176
Lyell-Syndrom, Porphyria cutanea tarda,		Papovaviren	176
experimentelle Blasenbildung u. a.	162	Die Gruppe der Pockenviren	182
Epidermale Neubildungen	163	Schlußwort	185
Verruca seborrhoica	163	Literatur	187
Basaliom	165	Sachverzeichnis	201

Einleitung

Die Elektronenmikroskopie ist ein relativ junger Zweig der experimentellen Forschung. Die ersten auswertbaren Ergebnisse dieser Methode an der Haut sind nicht über 12–15 Jahre alt. In diesem kurzen Zeitraum wurde jedoch viel Arbeit geleistet und zahlreiche neue Kenntnisse über den Aufbau der Haut und die Pathogenese der krankhaften Hautveränderungen gewonnen. Dadurch konnten manche falsche Vorstellungen ausgeräumt und manche neue Wege zur Erforschung der Pathogenese der Hautkrankheiten eingeschlagen werden.

In diesem Buch wird die Feinstruktur der verhornenden Epidermiszelle dargestellt. Die elektronenmikroskopischen Befunde an den Melanozyten und den Langerhans-Zellen wurden hier nicht oder nur am Rande berücksichtigt, da darüber bereits ausführliche Publikationen bzw. Monographien vorhanden sind. Der erste Abschnitt der vorliegenden Monographie befaßt sich mit der normalen Morphologie und mit dem Schicksal der Keratinozyten im epidermalen Zellverband. Dem Ke-

ratinationsvorgang wird in diesem Zusammenhang ein besonderer Platz eingeräumt. Daher mußten auch elektronenmikroskopische Befunde berücksichtigt werden, die an anderen verhornenden Geweben, z. B. am Nagel und am Haar, gewonnen wurden.

Im zweiten Abschnitt werden die Veränderungen der Keratinozyten bei verschiedenen Hautkrankheiten und unter verschiedenen experimentellen Bedingungen beschrieben. Dabei wurde der Versuch unternommen, die zahlreichen elektronenmikroskopischen Befunde untereinander zu vergleichen und einige wichtige Begriffe der konventionellen Dermato-Histopathologie (Spongiose, Akanthose, Hyper-, Para- und Dyskeratose) elektronenmikroskopisch zu erläutern und nach Möglichkeit zu definieren. Damit sollte eine Brücke zur lichtmikroskopischen Betrachtungsweise des histopathologischen Substrats der Haut geschlagen werden. Bei der Besprechung der einzelnen Dermatosen werden daher die wichtigsten lichtmikroskopischen Befunde in kurzer Form vorangestellt.

Material und Methoden

Das eigene Material umfaßt elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Haut (Haaren und Nägeln) von über 80 Personen. Darunter befanden sich etwa 12 gesunde Probanden, an denen 18 verschiedene Stanzexzisionen der Haut durchgeführt wurden. Die gesunde Haut stammt aus dem behaarten Kopf, aus dem Rücken, aus der Areola mammae, aus dem Unterarm, dem Oberarm, aus der Handinnenfläche, aus der Fingerbeere und aus hyperkeratotischen kallösen Bereichen der Handinnenfläche. Zwei männliche Probanden waren Angehörige der dunklen Rasse (Ghana), 1 Proband war Japaner, die restlichen waren Europäer (Männer und Frauen). Krankhafte Veränderungen der Epidermis haben wir bei etwa 54 Patienten mit verschiedenen Hautkrankheiten elektronenmikroskopisch studieren können. Die Exzisionen wurden aus typischen Effloreszenzen bei folgenden Krankheiten der Haut entnommen: *Ichthyosis acquisita*, *Ichthyosis vulgaris*, *Ichthyosis congenita*, *Erythrodermie congenitale ichthyosiforme (bulleuse)*, *Lichen ruber planus* und *L.r.p. partim bullosus*, *Psoriasis vulgaris*, *Basaliom*, *Pemphigus vulgaris*, *Pemphigus erythematosus* (SENEAR-USHER), *Dermatitis herpetiformis* DUHRING, *Epidermolysis bullosa (dystrophica)*, *Akrodermatitis atrophicans* HERXHEIMER, *Mucinosis follicularis*, *Mycosis fungoides*, *Mastozytose*, *Lupus vulgaris*, *Lepra* (lepromatosa und tuberculoides), *Riesenkondylom* BUSCHKE-LOEWENSTEIN und „*Steiroidhaut*“. Die restlichen Patienten hatten Tumoren des Coriums oder Systemerkrankungen mit geringen oder fehlenden Epidermisveränderungen. In diesem Zusammenhang wurden nur die Keratinozyten berücksichtigt, während auf die Veränderungen der Langerhans-Zellen, der Melanozyten und der Basalmembran nur am Rande eingegangen wird. Bei allen Patienten wurde die Diagnose lichtmikroskopisch gesichert.

Bei einem Teil der Probanden wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen der Haut nach experimenteller Vorbehandlung mit *Trypsin* und anderen proteolytischen Fermenten bzw. mit Gefäßsubstanzen durchgeführt, deren Ergebnisse in diesem Zusam-

menhang stellenweise erwähnt wurden. Bei 6 Probanden (je 3 mit gesunder und krankhaft veränderter Haut) wurde die Aktivität der sauren *Phosphatase* in der Epidermis elektronenmikroskopisch-histochemisch dargestellt, bei 3 weiteren gesunden Probanden die (Acetyl-) *Cholinesterasen* (zur Methodik s. unten). Die Ergebnisse dieser Untersuchungen an der gesunden Haut werden eingehend besprochen.

Die Haut wurde in der Regel mit einer 4-mm-Stanze und zumeist unter Lokalanästhesie entnommen (Novocain oder Scandicain 1%) und sofort in kalter, 1%iger OsO_4 -Lösung 1–2 Std. fixiert. Als Puffer verwendeten wir Phosphatpuffer (pH 7,2). Während der Fixierungszeit erfolgte die Zerkleinerung des Stanzenmaterials in kleine Würfel mit etwa 1 mm Seitenlänge. Einige Objekte, die nicht sofort bearbeitet werden konnten, wurden mit 6,5%iger gepufferter Glutaraldehydlösung vorfixiert und bis zur Einbettung in Pufferlösung im Eisschrank aufbewahrt (2 Stunden bis zu 14 Tagen). Die mit Glutaraldehyd vorbehandelten Objekte wurden mindestens 18 Std. in Pufferlösung gespült, in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert und in Vestopal W oder Durcupan eingebettet. Die Herstellung der dünnen Schnitte erfolgte mit einem Porter-Blum- oder/und mit einem REICHERT-Ultramikrotom, meistens unter Verwendung von Glasmessern. Diamantmesser wurden in der Regel nur für harte Objekte herangezogen. Die Nachkontrastierung der Schnitte wurde mit Uranylacetatlösung (WATSON) verschiedener Konzentrationen (15 bis 45 Min.) und mit Bleihydroxid nach REYNOLDS (3–5 Min.) durchgeführt. Zur elektronenmikroskopischen Untersuchung standen uns die Siemens-Elektronenmikroskope UM 100 und Elmiskop I (Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie der Universität Düsseldorf, Direktor: Prof. Dr. H. RUSKA) sowie das Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9a zur Verfügung.

Von den meisten Objekten wurden gleichzeitig ca. 2 μm dünne Vestopalschnitte angefertigt, mit verschiedenen Färbemethoden gefärbt

(modifizierte HE-Färbung, Methylenblau usw., ORFANOS 1966 a) und zwecks besserer Orientierung im Lichtmikroskop untersucht.

Die Darstellung der sauren Phosphatase in der normalen Epidermis erfolgte in Anlehnung an die von LAZARUS u. Mitarb. (1966) angegebene Methode. Das Exzisionsmaterial wurde mit 6,5%iger Glutaraldehyd-Glukose-Pufferlösung 15 Min. vorfixiert, mit Glukosepufferlösung gespült und mit dem Kryostaten in 20–40 μm dicke Scheiben geschnitten. Als Pufferlösung verwendeten wir 0,15 molaren Na-acetatpuffer. Der Glukosezusatz betrug 5%. Die Präparate wurden in Gomori-Lösung*

* 50 ml Na-acetat (0,05 molar pH5) und 0,06 g Bleinitrat und 5 ml 3% Na- β -glyzerophosphat ($\sim$ 0,1 molar). Der fertigen Lösung (s. PEARSE 1961) wurden 5% Aqua dest. und 5% Glykose zugesetzt.

20 Min. bei 37° C inkubiert, mit Glukosepufferlösung gespült und in 1%iger OsO₄-Lösung (gepuffert mit 0,15 molaren Na-acetatpuffer und 5% Glukosezusatz) 1–2 Std. nachfixiert. Die Einbettung sowie die weitere Verarbeitung haben wir wie üblich durchgeführt. Vergleichsweise wurden einige Präparate zusätzlich mit Ammoniumsulfid behandelt und lichtmikroskopisch untersucht. Zwei Leerversuche dienten jeweils als Kontrolle. Die Gomori-Lösung wurde nach der Vorschrift von PEARSE (1961) angefertigt.

Zur Darstellung der Cholinesterasen in der Haut wurde die Methode von KARNOVSKY (1964) in leicht modifizierter Form verwendet: Die Hautexzidate wurden in ca. 16 m² kleine Stücke zerteilt, in Phosphatpuffer (pH 7,2 mit 8,6%igem Saccharosezusatz) bei 4° C 5 Min. lang gespült, in 4%igem gepuffertem Formalin 3 Std. fixiert, erneut in Pufferlösung gewaschen, im Kryostat in 200–300 μm dicke Scheiben geschnitten und die Schnitte in Pufferlösung über Nacht aufbewahrt (18 Std.). Die Inkubation erfolgte in frisch angesetzter Inkubationslösung, die nach der Vorschrift von KARNOVSKY mit Acetylthiocholin als Substrat angesetzt wurde (2x20 Min. bei 4° C). Anschließend wurden die Schnitte in 0,1 molarem natriumsauren Maleatpuffer (pH 6 mit 8,6%igem Saccharosezusatz) gewaschen, in der Phosphatpufferlösung 30 Min. gespült und in gepufferter Osmiumlösung 1 Std. fixiert. Die Entwässerung und Einbettung fanden wie üblich in einer aufsteigen-

den Alkoholreihe bzw. in Epon (Durcupan) statt.

Für die Nägel (gesunde und psoriatische), die Haare (gesunde und krankhaft veränderte, z. B. bei Psoriasis, Alopecia areata, Netherton disease usw.) sowie einige Hautproben (Kallus, sowie 2 Hornschichtproben gesunder Haut) wurde die Na-thioglykolat-Methode (s. ORFANOS u. Mitarb. 1971 c) verwendet:

Sämtliche Präparate wurden in Äther-Alkohol (1:1) 90 Min. entfettet, anschließend mit Aqua dest. 15 Min. gespült und in Na-thioglykolat-Lösung (0,5 molarem Na-thioglykolat eingestellt auf pH 4,6 mit n/10 HCL) 18 Std. bei 35° C eingetaucht. Nach gründlichem Waschen in Aqua dest. erfolgte die Fixierung in 1% wäßriger OsO₄-Lösung (Haut: 90 Min., Nägel: 90 Min. und 3 Tage, Haare: 3 und 10 Tage) bei Zimmertemperatur unter Lichtabschluß. Nach erneutem gründlichem Waschen in Aqua dest. wurden die Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und in Vestopal W bzw. in Epon wie üblich eingebettet.

Weitere Details über die Vorbehandlung der Haare s. ORFANOS u. RUSKA (1968a). Das Haut- und Kallusmaterial, das mit dieser Methode vorbehandelt wurde, haben wir ohne Lokalanästhesie mit der Rasierklinge in flachen Scheiben abgetragen.

Im Stereoelektronenmikroskop (SEM) wurden Haut und Haare (gesunde Haut, Kallus, Ichthyosis, Psoriasis, Morbus Darier) nach folgender Methode untersucht: Die Haut wurde mit einer Stanze unter Lokalanästhesie entnommen (Scandicain 1%), die Haare mit der Schere in kleine ca. 1 cm lange Stücke geschnitten und in 6,5%iger Glutaraldehydlösung (gepuffert mit Phosphatpuffer bei einem pH von 7,2 mit 5% Glukosezusatz) 2 Std. fixiert. Nach gründlicher Spülung (mindestens 4 Std.) wurde das Material in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und bis zur Untersuchung (über Nacht) in 100%igem Alkohol aufbewahrt. Nach Lufttrocknung wurden die Exzidate etwa an der Korium-Epidermis-Grenze flach geschnitten und auf den Objektträger des Mikroskopes montiert. Die Untersuchung der Haare erfolgte in toto, indem sie am Objektrand mit einem Spezialkleber angeklebt wurden. Anschließend wurden sämtliche Präparate mit Kohle und Gold kegelbedampft, die flachen Hautscheiben mit Leitsilber kontaktiert und in einem „Stereoscan Mk I“ Rasterelektronenmikroskop bei 20–30 kV untersucht.

Normale Epidermis

Die menschliche Epidermis besteht einerseits aus einer Zellpopulation, die den epidermalen Zellverband bildet und deren Hauptaufgabe die Bildung des epidermalen Keratins ist (*Keratinocyten*) und andererseits aus Zellen, die mit der Keratinproduktion offenbar nichts zu tun haben (*Nichtkeratinocyten*). Nichtkeratinocyten sind die Melanozyten und die Langerhans-Zellen.

Die Keratinocyten sind durch die interzellulären Kontaktzonen (Desmosomen) gekennzeichnet, mit denen sie untereinander verbunden sind und durch die Keratinvorstufen (Tonofibrillen, Keratohyalin), die sie enthalten. Die Nichtkeratinocyten sind demgegenüber in der Lage, sich frei innerhalb der interzellulären Kanäle zu bewegen, die die Keratinocyten bilden. Sie stellen sich im Elektronenmikroskop heller dar, da sie keine osmiophilen Keratinvorstufen aufweisen. Der Keratinozyt ist die eigentliche Epidermiszelle. Die epidermale Verhornung spielt sich in den Keratinocyten ab. Schädigungen der Keratinocyten rufen in der Regel Verhornungsanomalien hervor. Im folgenden sollen die Feinstruktur der Keratinocyten und der Verhornungsprozeß der gesunden Haut beschrieben werden, so wie sie sich im elektronenmikroskopischen Bild darstellen lassen.

Keratinocyten

Keratinocyten der embryonalen Haut

Die Keratinocyten stammen aus dem Ektoderm. Aus lichtmikroskopischen Untersuchungen ist bekannt, daß die Epidermis bis zum 2. Schwangerschaftsmonat größtenteils aus einer Zellschicht besteht (*Stratum germinativum*). Innerhalb des 2. Monats wird das *Stratum germinativum* durch eine zweite Zellschicht, das *Periderm*, bedeckt. Eine dritte, *intermediäre Schicht* erscheint lichtmikroskopisch erst im 4. bis 5. Monat. Nach dem Auftreten dieser Zellschicht lassen sich in der embryonalen Epidermis auch Keratohyalin granula nachweisen. Erst danach entwickelt

sich das *Stratum corneum* (HORSTMANN 1960). Über die Feinstruktur der Embryonalhaut und die Entwicklung des Keratinocyten liegen nur wenige elektronenmikroskopische Untersuchungen vor: RIEGEL (1965), BREATHNACH u. WYLLIE (1965 a), BONNEVILLE (1965), IWASHITA (1966), HASHIMOTO u. Mitarb. (1966 d), HOYES (1968), LISTER (1968). Obwohl diese Mitteilungen noch kein lückenloses Bild über die Entwicklung der Keratinocyten gewinnen lassen, ist es doch möglich, in manchen Details, die lichtmikroskopischen Befunde zu ergänzen bzw. sie zu berichtigen.

Bereits in der 12. Embryonalwoche läßt die Epidermis drei Zellager erkennen: Das *Stratum germinativum* aus kleinen, fast kubischen Zellen (einschichtig), das *Stratum intermedium* aus großen, fast aufgeblähten, ovalen oder spindeligen Zellen (ein–dreischichtig), und das *Periderm*, aus flachen Zellen, deren freie Oberfläche mit Mikrovilli versehen ist (einschichtig).

Zwischen diesen Zellen finden sich bereits in der 14. Embryonalwoche noch aktive, zum Teil reife Melaningranula enthaltende Melanozyten sowie Langerhans-Zellen (BREATHNACH u. WYLLIE 1965 b).

Nach den neueren Befunden ist die Langerhans-Zelle nicht ektodermalen, wie man früher vermutete, sondern mesenchymalen Ursprungs (HASHIMOTO u. TARNOWSKI 1968, GIANOTTI u. Mitarb. 1968 u. a. mehr). Trotz der ungewöhnlichen Beobachtung von BELL (1969) über das Vorkommen von Langerhans-Zellgranula in den embryonalen Keratinocyten eines Rhesusaffen finden sich in der menschlichen Epidermis keine Hinweise für das Vorliegen entwicklungs-genetischer Beziehungen zwischen den Langerhans-Zellen und den Keratinocyten.

Bemerkenswert ist das Verhalten der Keratinocyten embryonaler Haut hinsichtlich ihres Gehaltes an *Glykogen*: Im Gegensatz zur Epidermis des Erwachsenen enthalten alle Zellager der embryonalen Epidermis reichlich Glykogen. Meistens handelt es sich um intrazelluläre Ansammlungen, doch vor der 13. Embryonalwoche wurde im *Stratum germinativum* auch interzellulär gelagertes Glykogen nachgewiesen (HASHIMOTO u. Mitarb. 1966 d).

Danach nimmt der Glykogengehalt der Epidermis relativ schnell ab, so daß nach der 16. Embryonalwoche nur noch in den Keratinocyten des Stratum intermedium Glykogen vorkommt. Es ist denkbar, daß in der Erwachsenenhaut krankhafte Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels den Gehalt und die Lokalisation des epidermalen Glykogens verändern. KEDDIE (1969) vermutet, daß solche Störungen mit oberflächlichen Pilzinfektionen der Haut in Verbindung gebracht werden können.

Die ersten *Desmosomen* finden sich im Stratum intermedium etwa im 2. Embryonalmonat (EM). Tonofibrillen sind zu diesem Zeitpunkt kaum nachweisbar. Im 3. EM sind im Stratum intermedium einige Desmosomen mit feinen, kurzen Tonofibrillenbündeln vorhanden. Im 4. EM treten im Stratum germinativum die ersten Halbdesmosomen und einige Tonofibrillenbündel auf, während zu diesem Zeitpunkt die Zellen des Stratum intermedium Mikrovilli, Desmosomen und viele Tonofibrillen enthalten (IWASHITA 1966). Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß die ersten, kurzen Tonofibrillen an den Desmosomen verankert sind, während im Zytoplasma keine freien Tonofibrillen vorkommen, wie in den späteren Keratinocyten. Offensichtlich unterstützt dieser Befund die Annahme, daß die Polymerisation der Tonofilamente von ihrer desmosomalen Seite ausgeht. Nach dieser Vorstellung sollen die Desmosomen nicht das Ende sondern den Ursprung der Tonofilamente darstellen. Im 5. EM lassen auch die Halbdesmosomen des Stratum germinativum Tonofibrillen erkennen.

Keratohyalin granula treten verhältnismäßig spät, etwa in der 14. bis 16. Embryonalwoche auf und leiten die Keratinisation ein. Die Keratinisation findet nicht gleichzeitig in der gesamten oberflächlichen Schicht, sondern zunächst nur in einigen Zellen statt. Dadurch können verschiedene Keratinisationsstadien nebeneinander beobachtet werden. Während der Keratinisation wandeln sich offenbar die Peridermzellen in verhornende Keratinocyten um. Doch darüber ist nichts Genaueres bekannt.

Morphologisch unterscheiden sich die *Peridermzellen* von den restlichen Zellen der embryonalen Epidermis. Ihre freie Oberfläche, die mit Amnionflüssigkeit benetzt wird, ist mit Mikrovilli versehen. In ihrem Zytoplasma lassen sich neben den Tonofilamenten zahlreiche, größere Vesikeln nachweisen. BONNEVILLE (1965) hat die Vermutung geäußert,

daß, bevor die Keratinisierung eingeleitet wird, das Periderm eine ähnliche Funktion wie das Amnionepithel hat. Auch HASHIMOTO u. Mitarb. (1966 b) betonen die Ähnlichkeit der Peridermzellen mit den Zellen der nicht verhornenden bukkalen Mukosa, der Ausführungsgänge ekkriner und apokriner Drüsen und des Amnionepithels. Alle diese Epithelien sind durch den ständigen Kontakt mit einer umgebenden Flüssigkeit (Fruchtwasser, Speichel, Drüsensekret), durch eine erhöhte Desquamations- und eine gesteigerte Wachstumsrate gekennzeichnet.

Die mikromorphologischen Besonderheiten der Peridermzellen lassen manche Ähnlichkeiten zu *sekretorisch aktiven Zellen* erkennen (BREATHNACH u. Mitarb. 1965 a). Es wird vermutet, daß die Peridermzellen Muzin produzieren und an ihrer Oberfläche ausscheiden. In den zytoplasmatischen Vakuolen ist ein schwach osmiophiles, feinfilamentär aufgebautes Material vorhanden, das auch an der Zelloberfläche zwischen den Mikrovilli nachweisbar ist. HOYES (1967) hat gezeigt, daß dieses Material ein saures Mukopolysaccharid ist. Offenbar bestehen manche Beziehungen zwischen diesen Befunden und den Befunden von FELL u. Mitarb., die nach hohen Vitamin-A-Dosen in vitro eine „muköse Metaplasie“ von Epidermiszellen beobachteten (Haut von Hühnerembryonen, FELL 1962, FELL u. JACKSON 1963). Auch in krankhaften Keratinocyten kann es offensichtlich zum Auftreten muzinähnlicher Substanzen kommen, mit oder ohne Applikation von Vitamin-A-Säure (vgl. Keratoakanthom, Psoriasis). Vielleicht ist diese „Verschleimung“ Zeichen einer Rückentwicklung der Keratinocyten im Rahmen proliferativer Prozesse der Epidermis.

Ein Material ähnlicher Struktur wie an den Peridermzellen haben BLÜMCKE u. Mitarb. (1967) an der Oberfläche des regenerierten Korneaepithels in vitro beobachtet.

Insgesamt ist es wahrscheinlich, daß die Zellen der embryonalen Epidermis, insbesondere die Peridermzellen, Muzin bzw. Mukopolysaccharide produzieren, bevor sie sich auf die Keratinisation umstellen. Hier sind manche Ansatzpunkte zur Phylogenese erkennbar, die noch weiterer Untersuchung bedürfen.

Über die Entwicklung der Melanozyten und der Langerhans-Zellen siehe BREATHNACH u. Mitarb. (1965 b), der Halbdesmosomen und der Basalmembran KOBAYASHI (1966), der Haaranlage BREATHNACH u. SMITH (1968), des Nagelbettes und

des Nagels HASHIMOTO u. Mitarb. (1966 e); vgl. auch MERCER (1961), ELLIS (1967), PINKUS u. TANNAY (1968).

Keratinocyten der Erwachsenenhaut

Im Gegensatz zu anderen Organen unterliegt die Epidermis einer dauernden Zellabnutzung bzw. -ausstoßung, die ihrerseits eine dauernde, adäquate Zellregeneration erfordert. Die Bildung neuer Zellen und die Ausstoßung der abgestorbenen sind die Merkmale, die den Aufbau der Epidermis prägen. Doch jede neugebildete Epidermiszelle muß, bevor sie ausgestoßen wird, Differenzierungs- und Reifungsprozesse durchmachen, die zu ihrer Verhornung führen. Daher sind innerhalb des epidermalen Zellverbandes drei Entwicklungsstadien der Keratinocyten zu unterscheiden:

- a) *Regeneration und Differenzierung*,
- b) *Reifung*,
- c) *Verhornung*.

Das Auftreten verschiedener epidermaler Schichten ist die Folge der zeitlich und örtlich regelmäßigen Wiederholung dieser Prozesse in allen Keratinocyten.

Die *Regeneration* der Keratinocyten findet durch mitotische Zellteilung der Zellen statt, die unmittelbar der subepidermalen Basalmembran aufsitzen (Stratum germinativum). Offenbar wird in der gesunden Epidermis nur von diesen Zellen Thymidin-³H aufgenommen und DNS synthetisiert (LEBLOND u. Mitarb. 1959, 1964; VAN SCOTT 1964; WEINSTEIN u. VAN SCOTT 1965). Feinstrukturell sind die Zellen des Stratum germinativum unter anderem durch das häufige Auftreten einer gut ausgebildeten Golgi-Zone gekennzeichnet. In der gesunden Epidermis ist in den Zellschichten oberhalb des Stratum germinativum die mitotische Aktivität gering (FUKUYAMA u. Mitarb. 1961, 1965) und das Vorkommen einer Golgi-Zone selten. Allerdings sind in Keratinocyten krankhafter Epidermis auch in höheren Zellagen Golgi-Zonen nachweisbar (z. B. Psoriasis).

Mitotische Teilung der epidermalen Keratinocyten. Die Mitosen, die gelegentlich im Stratum germinativum elektronenmikroskopisch nachweisbar sind, zeigen charakteristische feinstrukturelle Veränderungen, die sich den bekannten mitotischen Stadien zuordnen lassen (OLSON u. Mitarb. 1969 a). In der *Prophase*

vermehren sich das endoplasmatische Retikulum und die Ribosomen. Die meisten Zellorganellen sind während dieser Phase in einer perinukleären „hellen Zone“ lokalisiert, während die Tonofilamente zur Peripherie verdrängt werden. Im Kern wird das Chromatinmaterial randständig angehäuft, der Nukleolus verschwindet und die Kernmembran weist umschriebene Brüche auf. Bei der *Metaphase* häuft sich das Kernmaterial, nunmehr ohne Membranhülle, in der Mitte der Keratinocyten an, quergelagert zwischen den zwei Zentriolen. Die übrigen Zellorganellen werden bipolar angeordnet. In der *Anaphase* teilt sich das Kernmaterial in zwei annähernd gleiche Teile, wandert auseinander und wird jeweils von einer neugebildeten Kernmembran umhüllt. Im Zentrum der Zelle finden sich zahlreiche Ribosomen und Polyribosomen sowie einige Ergastoplasmamembranen bzw. Mitochondrien. In der *Telophase* schließlich wird die Bildung der zwei neuen Kerne abgeschlossen, das Zytoplasma schnürt sich etwa in der äquatorialen Ebene des Keratinocyten ein und teilt sich.

Bemerkenswerterweise sind nach OLSON u. Mitarb. (1969 a) in allen Stadien der Mitose intakte Desmosomen nachweisbar. In unserem Material jedoch hatten wir den Eindruck, daß die Desmosomen schwach ausgeprägt und zahlenmäßig vermindert sind. Keratinocyten, die sich in der Mitose befinden, lassen manchmal kleine Invaginationen und Mikrovilli ihres Plasmalemmas erkennen, die an aufgelöste Desmosomen erinnern bzw. der Desmosomauflösung vorangehen (Abb. 1).

Die mitotische Zellteilung der Keratinocyten läßt offenbar zwei gleichwertige Tochterzellen entstehen. Beide sind vermutlich in der Lage, sich zu reproduzieren oder nach oben zu wandern und zu verhornen. Autoradiographisch finden sich markierte Tochterzellen erst nach Ablauf mehrerer Stunden oder Tage in den Zellschichten oberhalb des Stratum germinativum (LEBLOND u. Mitarb. 1964). Elektronenmikroskopisch sind alle Keratinocyten dieser Region durch die gleichen mikromorphologischen Merkmale gekennzeichnet. Die *Differenzierung* der neugebildeten Tochterzellen zu Keratinocyten findet demnach frühzeitig statt. Die Synthese der charakteristischen Tonofilamente beginnt bereits während der Anaphase. In den höheren Zellschichten wird lediglich die Polymerisation der Tonofilamente fortgesetzt und ihre Bündelung zu dichteren und längeren Tonofibrillen eingeleitet. Manche Autoren sind so-

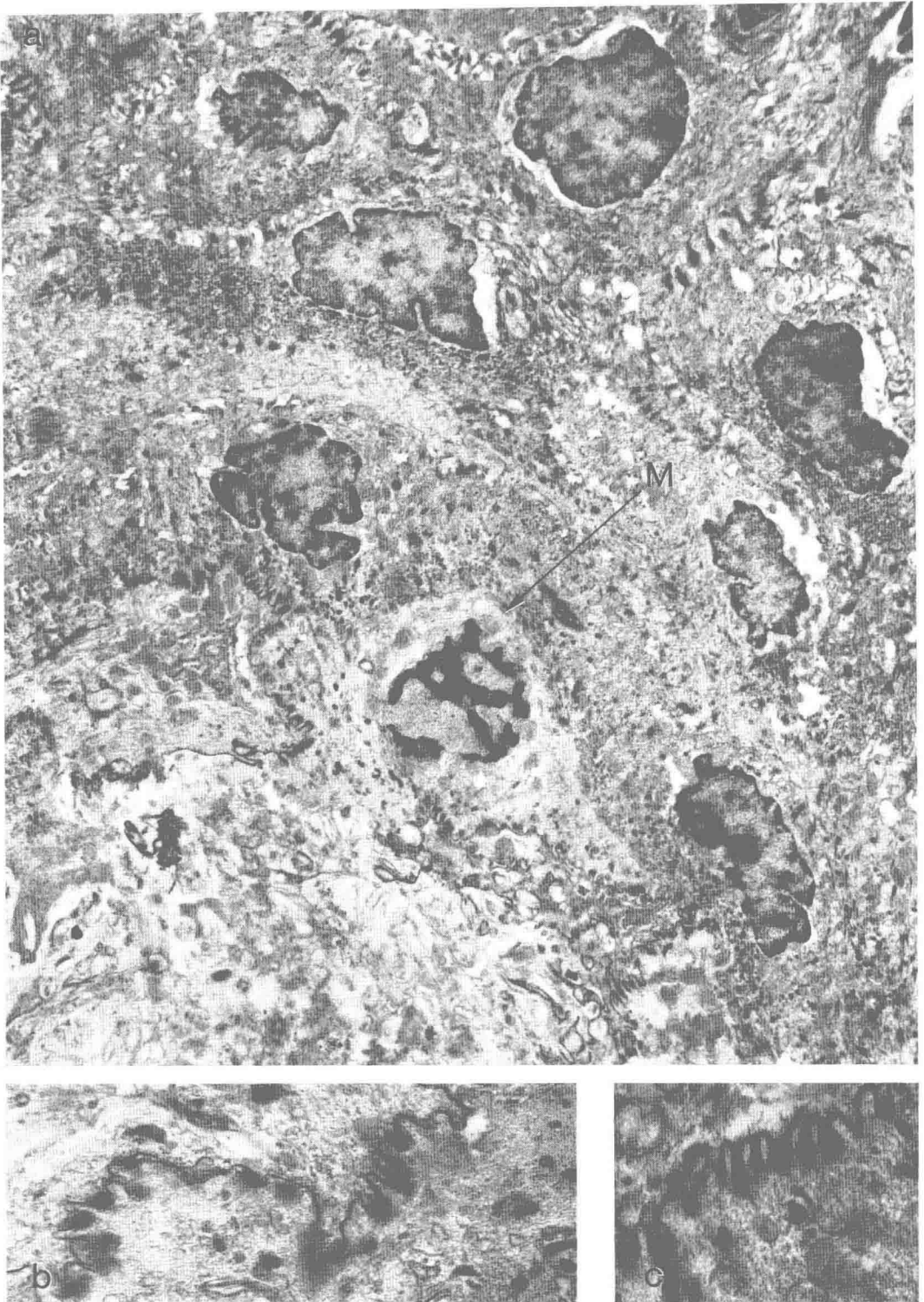


Abb. 1 a-c. Mitose im Stratum germinativum gesunder Epidermis (M). Intakte Desmosomen sind nachweisbar, doch das Plasmalemm weist an einigen Stellen ungewöhnliche Mikrovilli auf, die möglicherweise die Auflösung der Desmosomen einleiten (Vergr. ca. 7000 : 1 [a]; 21 000 : 1 [b und c])

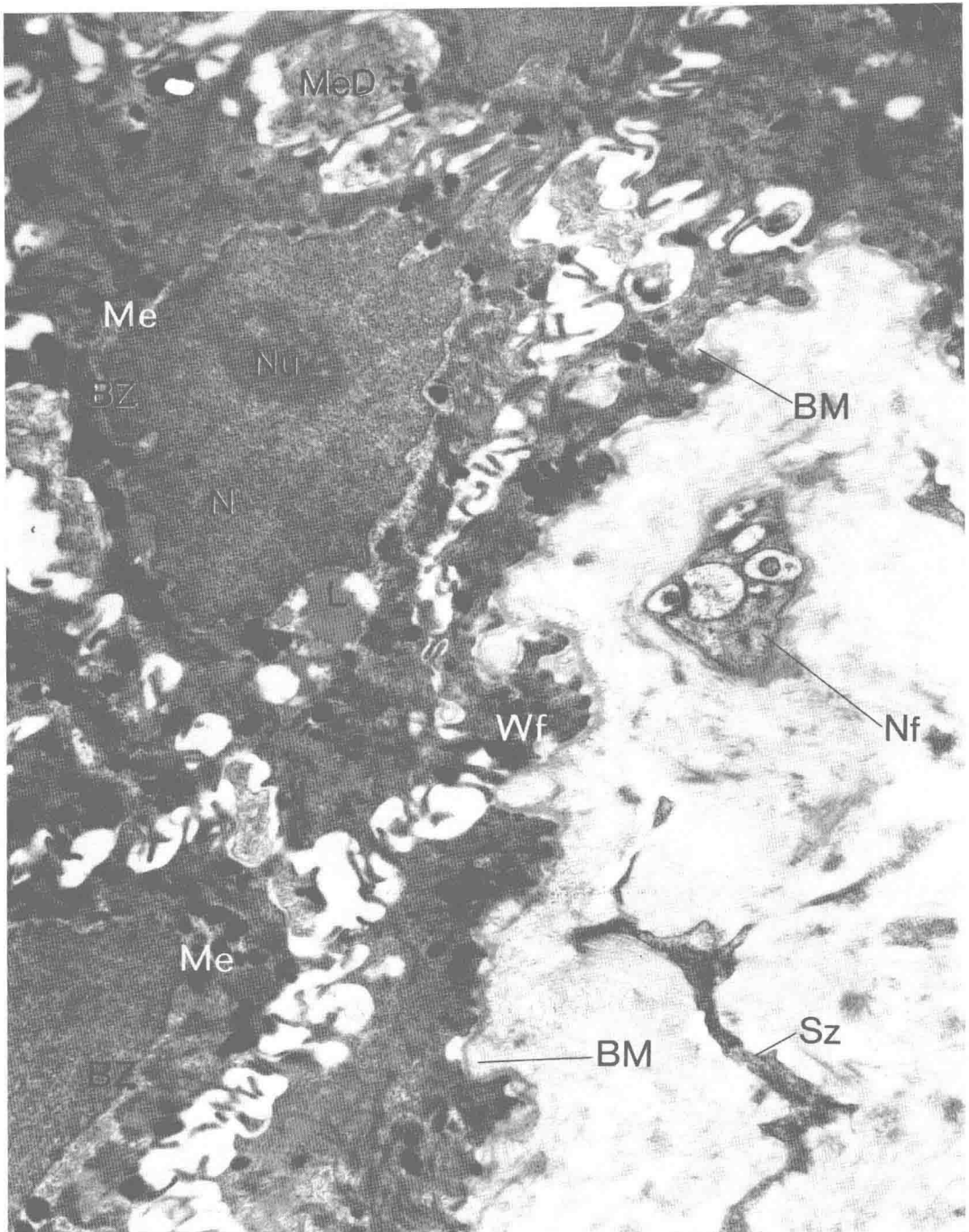


Abb. 2. Dermoepidermale Grenze gesunder Haut. Auf der linken Bildseite Basalzellen (BZ) mit Melaninpigment (Me). Die IZR sind etwas erweitert und enthalten Anschnitte von Melanodendriten (MeD). Die dermoepidermale Grenze, die durch die elektronenmikroskopische Basalmembran (BM) gekennzeichnet wird, ist unregelmäßig und weist mehrere Wurzelfüßchen (Wf) auf. Nf = subepidermale Nervenfasern mit mehreren Axonen, Sz = Anschnitte eines Ausläufers einer interstitiellen Stützzelle, L = Lipideinschluß einer Basalzelle (sog. „irregular dense body“), N = Nukleus, Nu = Nukleolus (Vergr. ca. 13 800 : 1).

gar der Ansicht, daß der Gehalt an Tonofilamenten in allen nichtverhornten Keratinocyten gleich ist. Das würde bedeuten, daß die Differenzierung der Keratinocyten bereits im Stratum germinativum weitgehend abgeschlossen wird.

Die endgültige Reifung der Keratinocyten wird durch das Auftreten der Keratohyalin-Granula und die Bildung von Tonofilament-Keratohyalin-Komplexen morphologisch sichtbar. Gleichzeitig sind Änderungen der Zellform, der Zellmembran, der Interzellularräume und der interzellulären Kontaktzonen nachweisbar. Sie kündigen die bevorstehende Verhornung an.

Die Verhornung der epidermalen Keratinocyten findet in der Regel abrupt statt. Offenbar sind bestimmte Änderungen des Zellmilieus erforderlich, um die Umwandlung der Tonofilament-Keratohyalin-Komplexe in epidermalem Keratin zu ermöglichen. Mit der Keratinisation verliert die Zelle ihren Kern und ihre zytoplasmatischen Organellen. Doch erst nach dem Verlust der Desmosomen werden die verhornten Keratinocyten durch mechanische und physikalische Scheuerwirkung vom Zellverband abgelöst und ausgestoßen.

Die epidermalen Zellschichten, in denen diese Vorgänge stattfinden, wurden mit verschiedenen Namen belegt. Die allgemein geläufige Einteilung in die *Strata basale, spinosum, granulosum, lucidum* und *corneum* wurde größtenteils im vergangenen Jahrhundert geprägt. Sie ist zum Teil der Lokalisation, zum Teil der Morphologie der Zellen entnommen. Nach den elektronenmikroskopischen Befunden der letzten Jahre bedürfen manche dieser Bezeichnungen einer Korrektur.

Die Synthese des Keratins bzw. seiner Vorstufen beginnt im Stratum basale und setzt sich im Stratum spinosum fort. Ein prinzipieller, feinstruktureller Unterschied zwischen den Zellen dieser zwei Schichten ist nicht vorhanden. Mitosen können gelegentlich, vor allem unter pathologischen Bedingungen, auch im Stratum spinosum auftreten. Die Stacheln („Spinae“) sind kein geeignetes morphologisches Zeichen um eine besondere Zellschicht zu charakterisieren, denn sie kommen elektronenmikroskopisch in allen nicht verhornten Keratinocyten vor, mit Ausnahme der Zellen, die kurz vor ihrer Verhornung stehen. Außerdem stellen die Stacheln mit großer Wahrscheinlichkeit Artefakte dar, die besonders hervortreten, wenn die Fixierung zur Zellschrumpfung geführt hat. – Auch die Bezeichnung „Stratum granulosum“ ist in fein-

struktureller Hinsicht nicht ausreichend. Neben den Keratohyalin-Granula weist die „Körnerschicht“ auch andere mikromorphologische Merkmale auf. Das Fehlen der Keratohyalin-Granula ist nicht unbedingt mit dem Fehlen der dazugehörigen Schicht verbunden (BRODY 1962). Mit anderen Worten, es kommt ein „Stratum granulosum“ ohne Granula vor.

Die Keratinocyten der menschlichen Epidermis werden nach ihren zytomorphologischen Merkmalen in drei Zellager unterteilt:

- a) *Stratum Malpighii*. Das Stratum Malpighii umfaßt alle nichtverhornten Keratinocyten des Stratum basale und des Stratum spinosum. Diese Zellschicht ist durch die Regeneration (Stratum germinativum, unteres Stratum Malpighii), das Wachstum und die Differenzierung (mittleres und oberes Stratum Malpighii) der Keratinocyten gekennzeichnet.
- b) *Stratum intermedium*. Es umfaßt die Keratinocyten des Stratum granulosum sowie alle Übergangsformen zwischen nichtverhornten und verhornten Keratinocyten. Im Stratum intermedium finden die Reifungsprozesse statt, die der Keratinisation unmittelbar vorausgehen.
- c) *Stratum corneum*. Darunter sind alle vollständig verhornten Zellen zu verstehen.

Die Bezeichnung „Stratum“ oder „Rete Malpighii“ ist von mehreren Autoren mit verschiedenen Deutungen gebraucht worden (SIEMENS, LEVER, MONTAGNA u. a. mehr; Lit. s. BRODY 1968 a). Die Bezeichnung „Stratum intermedium“ wurde von BRODY (1962) aufgrund elektronenmikroskopischer Kriterien für das Stratum granulosum empfohlen. Er griff dabei den alten Vorschlag AUHAMMERS von einem „Übergangsepithel“ zu sprechen, auf. Die Bezeichnung „Stratum intermedium“ darf nicht mit anderen ähnlichen Termini verwechselt werden (Übergangszone, Intermediärzone, Transitionalzone), die sich von histochemischen Befunden ableiten lassen.

Morphologie der Keratinocyten

Stratum Malpighii

Die Keratinocyten des Stratum Malpighii sind große (6–10 μm) Zellen, die einen großen runden oder ovalen Kern enthalten. Die tiefer gelegenen Zellen (Stratum germinativum) sind rundlich-polygonal, die oberflächlicheren längsoval bis flachspindelig geformt. Der Zellkern ist meist zentral gelegen, hat eine gleichmäßige, verhältnismäßig dichte Chromatin-