

Aus dem Zentrum für Anatomie und Hirnforschung

Institut für Anatomie II

Direktor: Prof. Dr. H. G. Hartwig

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Integument von  
*Corydoras aeneus* (Teleostei, Siluriformes) mit besonderer Berücksichtigung  
der „Axillardrüsen“

**Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Tim Flasbeck

2006

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.: Univ.-Prof. Dr. Dr. B. Nürnberg  
Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Passia

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Greven

## Verzeichnis der Abkürzungen

ag:	Ausführungsgang
bk:	Bindegewebskapsel
bs:	Bindegewebssepten
bl:	Basallamelle
bz:	Basalzelle
co:	Kollagenfasern
dz:	Drüsenzelle
D:	Dermis
ep:	Epidermis
fs:	Flossenstrahl
gk:	Geschmacksknospe
K:	Knochenspange
k:	Knochenplatte
kh:	Knochenhöhle
lu:	Lumen
m:	Melanozyten
mi:	Mitochondrien
mu:	Muskulatur

nu: Nukleus

s: Sekret

ts: Tela subcutanea

## Widmung

Ich widme diese Arbeit meinem Onkel,

Dr. med. Rainer Flasbeck.



## **Inhaltsverzeichnis**

1.	Einleitung .....	Seite 3
2.	Material und Methoden.....	Seite 5
	2.1 Herkunft der Fische.....	Seite 5
	2.2. Lichtmikroskopie.....	Seite 6
	2.3. Elektronenmikroskopie.....	Seite 7
3.	Ergebnisse.....	Seite 7
	3.1. Epidermis.....	Seite 7
	3.1.1. Epithelzellen.....	Seite 8
	3.1.2. Große, runde bis hochovale Zellen.....	Seite 8
	3.1.3. Große, spindelförmige Zellen.....	Seite 9
	3.1.4. Becherzellen.....	Seite 9
	3.2. Dermis und Tela subcutanea.....	Seite 10
	3.3. Axillardrüse.....	Seite 12
	3.3.1. Lage und Ausdehnung der Drüse.....	Seite 12

3.3.2. Histologie der Axillardrüse.....	Seite 13
3.4. Pektoralstachel.....	Seite 14
3.5. Feinstruktur der Drüse.....	Seite 15
4. Diskussion.....	Seite 17
5. Zusammenfassung.....	Seite 22
6. Literaturverzeichnis.....	Seite 23
7. Lichtmikroskopische Abbildungen.....	Seite 28
8. Elektronenmikroskopische Abbildungen.....	Seite 38
9. Danksagung.....	Seite 46
10. Lebenslauf.....	Seite 47

## 1. Einleitung

Die wohl bekanntesten Welsartigen (Siluroidei) sind die Panzerwelse (Callichthyidae), unter denen sich beliebte und weit verbreitete Aquarienfische finden. Die Callichthyidae sind auf den Körperseiten durch zwei Reihen V-förmig angeordneter, sich dachziegelartig überlappender Knochenplatten, eine großen Rückenflosse und große Brustflossen mit kräftigem, arretierbaren Stachel sowie Barteln am Oberkiefer gekennzeichnet. Die meisten Arten sind bodenlebend (u. a. Hieronimus 1989). Die Knochenplatten bieten offenbar sowohl Schutz vor Prädatoren als auch vor mechanischen Verletzungen (Rauther 1940). Darüber hinaus dürften bei der Verteidigung auch toxische Hautsekrete eine Rolle spielen, sog. Crinotoxine. Diese, wie bei verschiedenen Siluriformes nachgewiesen, werden von einzelnen, auf dem Körper verteilten Drüsenzellen, von Ansammlungen solcher Drüsenzellen, die mit modifizierten Strahlen der Dorsal- und Pectoralflossen assoziiert sind, oder von Axillardrüsen, die unterhalb des Brustflossenstachels ausmünden, abgegeben. Da die mit Flossenstrahlen assoziierten Giftdrüsen offenbar über eine Verletzung durch diese Flossenstrahlen in den Angreifer gelangen, werden solche Gifte häufig auch Ichthyocanthotoxine genannt (vgl. Cameron & Endeau 1972, 1973).

Verletzungen die durch diese Flossenstrahlen ausgelöst werden können je nach Welsart unterschiedliche Symptome hervorrufen, wie z.B. Ödeme, Hämorrhagien bis hin zu starken Schmerzen und Gewebsnekrosen. Das gilt auch für die Crinotoxine, wenn diese in Wunden gelangen (u. a. Halstead 1970, Sheperd et al. 1994). Bei Streß der Fische werden diese Toxine vermehrt ins Wasser abgegeben (Perrière & Goudey-Perrière 2003).

Im Gegensatz zu vielen anderen Welsartigen ist das Integument der Callichthyidae im Hinblick auf die oben genannten Drüsen und Drüsenzellen sowie deren Sekrete nur unzureichend untersucht (vgl. Whitear & Mittal 1983, Arratia 2003). In einem neueren Übersichtsartikel, der sich mit toxischen Hautsekreten von Welsen befasst, findet sich keine einzige Arbeit über Panzerwelse (Perrière & Goudey-Perrière 2003). Das ist insofern verwunderlich, als vor allem in der aquaristischen Literatur immer wieder berichtet wird, dass Wunden, die durch den Brustflossenstachel dieser Tiere verursacht wurden, nicht nur stark schmerzen sondern auch schlecht heilen. Zudem wird davor gewarnt, frisch gefangene Corydoras-Arten zu mehreren mit anderen Fischen zu transportieren, da erstere offenbar ein Sekret abgeben, dass toxisch wirkt (u. a. Hieronimus 1989, Evers 2002 ).

Die vorliegende Arbeit beschreibt nicht nur den histologischen Aufbau des Integumentes des in Aquarien recht häufig vorkommenden Metallpanzerwels

*Corydoras aeneus* (siehe Abb. E9, S.46) sondern weist auch erstmals das Vorkommen einer „Axillardrüse“ bei einem Vertreter der Callichthyidae nach. Darüber hinaus werden Befunde zur Ultrastruktur dieser Axillar-Drüsenzellen vorgelegt.



## 2. Material und Methoden

Abb. 0: *Corydoras aeneus*

### 2.1. Herkunft der Fische

Der Metallpanzerwels *Corydoras aeneus* (siehe Abb.0) ist ein bis zu 6 cm lang werdender Callichthyidae, der in den Süßgewässern Trinidads und La Platas beheimatet ist. Die Tiere sind relativ leicht zu züchten und werden regelmäßig im Handel angeboten. Die untersuchten Fische, Männchen und Weibchen, stammten aus dem Handel. Die Tiere wurden mit einer Überdosis MS 222 (Tricain-Methansulfonat) getötet und, nachdem die Schwanzflosse abgeschnitten wurde, in Bouin fixiert (s.u.).

## 2.2. Lichtmikroskopie

Die vorbehandelten Tiere wurden eine Woche wie in 2.1. beschrieben in Bouin fixiert, anschließend 3-6 h in fließendem Wasser gespült, und daraufhin 8 Wochen mit Titriplex III ® der Firma Merck und 40%igem Natriumhydroxid der Firma Merck entkalkt. Nach der Entkalkung wurden die Präparate für 24h in 5%ige Natriumsulfatlösung eingebracht, um eine Quellung des Bindegewebes bei der anschließenden Wässerung zu vermeiden. Nach Entfernung der überschüssigen Pikrinsäure mit 70%-igem Alkohol wurden die Objekte über eine aufsteigende Alkoholreihe sowie Methylbenzoat, Benzol und Benzol-Paraffin in Paraffin eingebettet.

Die so behandelten Präparate wurden mit einem Mikrotom (Firma Leica; RM/2155) quer in Serie (Kopf bis zum Ansatz der Schwanzflosse) etwa 7 µm dick geschnitten. Die Schnitte wurden auf Objektträger aufgetragen, alternierend mit Azan nach Heidenhain oder PAS-Alcianblau (pH 2,5) gefärbt (Romeis, B. (1968) und mit Eukitt eingedeckt. Mittels eines universellen Mikroskops der Firma Leitz Labor Lux D wurden die Serienschnitte bei 10-, 20- und 40-facher Vergrößerung untersucht, befundet und dokumentiert. Fotografiert wurde mit einer Digitalkamera (Olympus Camedia; 3,3 Megapixel).

### 2.3. Elektronenmikroskopie

Für die Elektronenmikroskopie wurden kleine Stücke des „Axillar“-bereichs drei Stunden in 2,5 % Glutaraldehyd in 0,1 mol/l Cacodylatpuffer, pH 7,2, fixiert, etwa 1 h in 1% Osmiumtetroxid im gleichen Puffer nachfixiert und über eine aufsteigende Alkoholreihe in Kunststoff (Spurr, 1969) eingebettet.

Ultradünnschnitte wurden mit einem Diamantmesser an einem (Reichert OM2-) Mikrotom hergestellt und mit einem Elektronenmikroskop (Hitachi H600) untersucht.

## 3. Ergebnisse

Das Integument bedeckt die gesamte äußere Oberfläche des Fisches. Es gliedert sich in die mehrschichtige Epidermis und die Dermis.

### 3.1. Epidermis

Die Epidermis besteht aus einem mehrschichtigem unverhornten Plattenepithel. Ihre Dicke und somit die Anzahl der Zellschichten variiert in Abhängigkeit von der Körperregion. Die Epidermis des Rückens ist etwa 150 µm dick, die der Flanken

etwa 70  $\mu\text{m}$  und die des Bauches etwa 180  $\mu\text{m}$ . Entsprechend beträgt die Anzahl der Zelllagen bauchwärts bis zu ca. 10, im Bereich der Flanken 2-5 und am Rücken 5-8 (Abb. 1-3). Das Epithel liegt einer dünnen Basallamelle auf, die sich mit der Azanfärbung blau darstellt (Abb. 4, Pfeil).

Lichtmikroskopisch lassen sich in der Epidermis vier verschiedene Zelltypen identifizieren:

### 3.1.1. Epithelzellen.

Die größtenteils polyedrischen Epithelzellen sind die kleinsten Zellen der Epidermis. Die der Basalmembran unmittelbar aufliegenden Epithelzellen, das Stratum basale, sind kubisch bis prismatisch und besitzen große, runde bis ovale Kerne (Abb 5, Pfeil). In den folgenden Schichten, dem Stratum intermedium, werden die Zellkerne und Epithelzellen etwas kleiner und flachen nach apikal hin zunehmend ab (Abb. 5).

Das Zytoplasma dieser Zellen erscheint in der Azan-Färbung ungefärbt und in der AB-PAS Färbung stellt es sich zart rosa dar.

### 3.1.2. Große, runde bis hochovale Zellen.

Diese Zellen besitzen ein helles Zytoplasma, das sich in der Azan-Färbung zartrosa darstellt und nach der AB-PAS-Reaktion ungefärbt bleibt. Der Kern liegt

zentral. Diese Zellen haben einen Durchmesser von ca. 40-80  $\mu\text{m}$  und finden sich in allen Hautpartien; sie bestimmen das histologische Bild der Epidermis (Abb. 6, Pfeil), erreichen aber nicht die Epidermis-Oberfläche, da sie noch von einigen Lagen „normaler“ Epithelzellen bedeckt werden. Einige scheinen aber unmittelbar der Basalmembran aufzusitzen (Abb. 6).

### 3.1.3. Große, spindelförmige Zellen.

Diese Zellen sind ventral am größten und zahlreichsten. Sie erreichen hier eine Höhe von bis zu 100  $\mu\text{m}$  und eine Breite von ca. 30-50  $\mu\text{m}$ . An den Flanken und auf dem Rücken kommen sie nur vereinzelt vor, erreichen aber auch hier eine Höhe von 30-50  $\mu\text{m}$ . Charakteristisch ist ihre Füllung mit Sekretgranula, die nach Azan-Färbung rot-orange und nach AB-PAS-Behandlung zart lila gefärbt erscheinen. Die relativ großen Kerne werden durch die Sekretfüllung an den Rand der Zelle gedrückt (Abb. 7).

### 3.1.4. Becherzellen.

Becherzellen haben ihre typische Form und kommen in großer Zahl überall in der Epidermis vor; ihr Kern liegt basal. Die meist apikal vorkommenden Becherzellen grenzen unmittelbar an die Oberfläche. Ihre Sekrete stellen sich

nach Azan Färbung rot-violett und nach AB-PAS Färbung violett dar (Abb. 8, Pfeil).

Im Bereich des Kopfes finden sich in der Epidermis vereinzelt Geschmacksknospen. Auffällig ist, dass diese Geschmacksknospen nur an Melanozyten tragenden Dermisbereichen vorkommen. Die Melanozyten wölben sich im Bereich der Geschmacksknospen in die Epidermis vor. Diese Knospen haben eine ovale Form und „öffnen“ sich zur Oberfläche hin mit einem kleinen Porus. Ihre Höhe beträgt 30-60  $\mu\text{m}$  (Abb. 8).

Das Seitenlinienorgan zieht sich vom Kopf, wo es zahlreiche Verzweigungen bildet, entlang der Flanken bis zum Schwanz. Im Querschnitt handelt es sich um einen ovalen Knochenkanal, der von einem dünnen Epithel ausgekleidet ist. In bestimmten Abständen finden sich Neuromasten. Jeder Neuromast besteht aus einer Anhäufung von Sinneszellen und Stützzellen (keine Abbildung).

### 3.2. Dermis und Tela subcutanea

Die Dermis liegt zwischen der Epidermis und der sich anschließenden Muskulatur. Zwischen der Epidermis und dem für Corydoras-Arten typischen

Knochenpanzer kommen, je nach Körperregion, mehr oder weniger lockeres Bindegewebe und zahlreiche Melanozyten vor.

Im Bereich des gesamten Rückens befindet sich eine Schicht von Melanozyten unmittelbar unter der Basallamelle (Abb. 9, Pfeil). Lockeres Bindegewebe ist hier nur spärlich vertreten und im lichtmikroskopischen Präparat oft kaum nachweisbar. Die gekammerten Knochenplatten haben hier eine Dicke von etwa 300  $\mu\text{m}$  und sind synostotisch mit den Knochenplatten der Flanke verbunden (Abb. 10, Pfeil). An den Flanken nimmt die Anzahl der Melanozyten zum Bauch hin stark ab. Zwischen Basallamelle und Knochenplatten liegt nur eine dünne Schicht lockeren Bindegewebes. Die Knochenplatten sind 70-210  $\mu\text{m}$  dick und auch hier synostotisch miteinander verbunden (keine Abbildung).

Die Dermis der Bauchseite enthält keine Verknöcherungen, sondern eine 300-400  $\mu\text{m}$  dicke Schicht, die hauptsächlich aus sich kreuzenden Kollagenfasern besteht (Abb. 11). Der Übergang von seitlichen Knochenplatten zur Kollagenschicht des Bauches erfolgt ebenfalls synostotisch (Abb. 11). Melanozyten fehlen auf der Bauchseite, ebenso auch lockeres Bindegewebe, so dass die Basallamelle unmittelbar der kompakten Kollagenschicht aufliegt (Abb.11).

Die Knochenplatten zeigen Höhlungen, die mit lockerem Bindegewebe und Fettgewebe gefüllt und kapillarisiert sind (Abb. 10).

Vereinzelt sieht man Odontoden, die in unregelmässigen Abständen auf den Knochenplatten verankert sind und die Epidermis durchstossen (Abb. 12, Pfeil).

Ihr Vorkommen ist nicht an bestimmte Hautbezirke gebunden.

Die Tela subcutanea besteht aus lockerem kollagenen Bindegewebe (Abb. 11).

### 3.3. Die Axillardrüsen

*Corydoras aeneus* verfügt über einen ausgeprägten, stark verknöcherten ersten Flossenstrahl der Brustflossen. An der Basis dieses Flossenstrahls findet sich eine Öffnung, bei der es sich um den Ausgang der Axillardrüse handelt. Schnitte durch diese Region bestätigen das Vorhandensein einer mehrzelligen Drüse.

#### 3.3.1. Lage und Ausdehnung der Axillardrüse

Die Drüse liegt beidseitig im Bereich der Flanken innerhalb der Tela subcutanea. Anhand einer Querschnittsserie eines etwa 3,2 cm langen Exemplars war folgende Ausdehnung der Drüse zu ermitteln: das Drüsengewebe beginnt vor dem ersten Brustflossenstrahl und erstreckt sich entlang der Flanke nach dorsal. Seine Länge beträgt ca. 5,5 mm. Die Drüse hat im Bereich ihrer größten Ausdehnung eine Höhe von ca. 3,5 mm.

### 3.3.2. Histologie der Axillardrüse

Die Drüse ist von einer dünnen Bindegewebskapsel umhüllt, von der sehr feine Septen in das Organinnere ziehen und die Drüse untergliedern (Abb. 13). Bauchwärts grenzt die Bindegewebskapsel an die dermalen Knochenplatten. Die Knochenplatte bildet hier einen Vorsprung, so dass eine längsverlaufende Knochenrinne entsteht, in die die Drüse eingebettet ist (Abb. 14).

Zur Leibeshöhle hin verläuft längs zur Drüse ein Bündel aus quergestreifter Muskulatur. Damit wird die Drüse lateral von Knochen und medial von Muskulatur begrenzt (Abb. 14). Die Drüsenzellen sind groß, und weisen eine polare Gliederung auf: Sie haben einen basal gelegenen Kern und sind überwiegend prall mit Sekret gefüllt. Insgesamt lassen sich nur sehr wenige Zellkerne nachweisen. Das Sekret ist nach der Azan Färbung leuchtend orange, nach AB-PAS aber nur ganz schwach rosa und nicht blau gefärbt (Abb. 15). Auch das Lumen der Drüse ist mit Sekret gefüllt (Abb. 15).

Die Drüse besitzt einen Ausführungsgang, dessen Zellen sehr viel flacher sind, deren Zytoplasma aber ähnlich gefärbt ist wie das der tiefer liegenden sekretgefüllten Zellen. Der Ausführungsgang mündet unmittelbar an der Basis des ersten Brutflossenstrahls. Er ist mit einem mehrschichtigen (2-4 Zellschichten)

Epithel ausgekleidet. Das Epithel liegt auf kollagenen Fasern, die der Drüsenkapsel entspringen, und geht ohne Übergang in die Epidermis über (Abb. 16).

### 3.4. Der Pectoralstachel

Die Epidermis des Pectoralstachels besteht aus einem mehrschichtigen unverhornten Plattenepithel. Die Epithelzellen sind größtenteils polyedrisch. Die der Basalmembran unmittelbar aufliegenden Epithelzellen, das sogenannte Stratum basale, sind kubisch bis prismatisch und besitzen große, runde bis ovale Kerne (Abb.17). In den folgenden Schichten, dem Stratum intermedium, werden die Zellkerne und Epithelzellen etwas kleiner und flachen zunehmend ab. (Abb.17).

Das Zytoplasma dieser Zellen erscheint in der Azan-Färbung ungefärbt und in der AB-PAS-Färbung zart rosa.

Innerhalb des Epithels finden sich große runde bis spindelförmige einzellige Drüsen, deren Sekretgranula sich wie das Sekret der großen, spindelförmigen Zellen des übrigen Integuments (s.o.) nach Azan-Färbung rot-orange färben (Abb.17, Pfeil). Diese Drüsenzellen erreichen eine Größe von bis zu zwei Dritteln der Dicke des Epithels. Ihre Kerne sind an den Rand der Zelle gedrückt und nur

an sehr wenigen Stellen zu identifizieren. Sie sind in allen Bereichen des Pectoralstachelepithels zu finden. Ihre Basis ist durch 1-2 Schichten Epithelzellen von der darunter liegenden Basallamelle getrennt.

Unterhalb der Basallamelle befindet sich das Bindegewebe und der zum „Stachel“ modifizierte 1. Brustflossenstrahl. Dieser ist hohl und mit lockerem Bindegewebe gefüllt (Abb. 17,18). Die restlichen Flossenstrahlen setzen sich aus jeweils zwei einander gegenüberliegenden Knochenstangen zusammen, die durch Kollagenfasern zu einer Röhre verbunden sind (Abb. 18, Pfeil ; Abb. 19). Zwischen den einzelnen Knochenröhren befindet sich ein feines Gerüst aus kollagenen Fasern (Abb.19).

### 3.5. Feinstruktur der „Axillardrüse“

Das mehrschichtige Epithel der „Axillardrüse“ ruht auf einer dünnen Basallamelle (Abb. E1, E2). Unterhalb der Basallamelle finden sich zahlreiche kollagene Fasern, zwischen denen Fibrozyten mit ihren Ausläufern liegen (Abb. E1, E2).

Innerhalb des Drüsenepithels sind mehrere Zelltypen zu unterscheiden. Basal liegen weitgehend undifferenzierte Zellen (Abb. E6), die keine Sekretgranula enthalten und sich zwischen die sekretbeladenen Zellen schieben (Abb. E6).

Schmale im Lichtmikroskop nicht mehr zu identifizierende (s.o.) Ausläufer der undifferenzierten Zellen trennen die sekretbeladenen Zellen von der Basallamelle. Die Basalzellen sind durch ein relativ helles Zytoplasma mit den üblichen Zellorganellen und Kompartimenten gekennzeichnet (Abb. E3, E4). Rauhes endoplasmatisches Retikulum und Dictyosomen sind nicht auffallend vermehrt; der Kern ist relativ arm an Heterochromatin (Abb. E4). Vereinzelt finden sich in den Basalzellen extrem große Mitochondrien mit einer reduzierten Anzahl von Cristae (Abb. E4).

Die Zellen oberhalb der Basalzellen sind stets mehr oder weniger mit Sekret gefüllt; dieses ist von Membranfragmenten durchzogen (keine Abbildung). Das Sekret ist z.T. von extrem unterschiedlicher Elektronendichte (Abb. E7) und zeigt darüber hinaus noch verschiedene Einschlüsse unbekannter Natur (keine Abbildung).

Das Cytoplasma mit seinen Organellen ist durch die Sekretfüllung auf einen kleinen Bereich um den basal oder lateral gelegenen z.T. gelappten und stark heterochromatischen Zellkern beschränkt (Abb. E5). Hier finden sich bemerkenswerte Mengen von rauhem endoplasmatischem Retikulum und Dictyosomen, sowie am Rande der großen Sekretansammlungen Vesikel, die miteinander und mit der Hauptmasse des Sekretes zu verschmelzen scheinen (Abb. E8, Pfeile).

#### 4. Diskussion

Detaillierte Untersuchungen zur Histologie und Feinstruktur des Integumentes von Corydoras-Arten sind selten (s. Rauther 1940; Whitear & Mittal 1983). Zudem sind Axillardrüsen bei den Callichthyidae bisher noch nicht beschrieben worden (s. die Zusammenfassung bei Perrière und Goudey-Perrière 2003). Dabei ist das Vorkommen von Drüsen im Bereich des ersten Brustflossenstrahls aufgrund der zahlreichen Beobachtungen, namentlich von Importeuren und Fischzüchtern, zu erwarten gewesen. Der „Stich“ des Brustflossenstachels vieler Corydoras-Arten ist schmerzhaft (s. Einleitung). Darüber hinaus scheinen die Tiere bei Stress ein toxisch wirkendes Sekret abzugeben, das manchmal das Wasser in den Transportbehältern trübt und zum Tode der anderen Fische führen kann (u.a. Hieronimus 1993, Evers 2002). Dieses Sekret könnte allerdings auch aus Drüsenzellen des Integumentes stammen.

Ausgehend von diesen Beobachtungen wurde in der vorliegenden Arbeit zunächst anhand histologischer Präparate das gesamte Integument einer Panzerwelsart (*Corydoras aeneus*) beschrieben. Die im Verlaufe der Untersuchungen an der Basis der Brustflosse entdeckte tubuläre Drüse, -die Axillardrüse-, wurde darüber hinaus noch transmissionselektronenmikroskopisch untersucht.

Die generelle Struktur des Integumentes (Epidermis, Dermis) sowie der dermalen Knochenplatten und Odontoden wurden bei Rauther (1940), ohne die Knochenplatten bei Whitear (1986) und Arratia (2003) beschrieben. Im Hinblick auf die Struktur und das Vorkommen verschiedener Zelltypen im Integument unterscheidet sich *C. aeneus* nicht wesentlich von anderen Welsen und Teleostei (vgl. Whitear 1986, Zaccone et al. 2001). Nachzuweisen sind neben den normalen Epidermiszellen stets PAS-positive Schleim- oder Becherzellen, die nach Azan-Färbung weitgehend ungefärbten „club cells“ oder Schreckstoffzellen sowie sogenannte sacciforme Zellen mit deutlich granulärem Sekret (vgl. Bhalti 1938, Mittal et al. 1981, Whitear und Mittal 1983, Arratia 2003). Über die genauere Zusammensetzung der Sekrete dieser Drüsenzellen bei Corydoras-Arten ist bis heute nichts bekannt. Die sacciformen Zellen sind möglicherweise für die Produktion von Crinotoxinen, die „club-cells“ für die Sekretion von Pheromonen, die die Schreckreaktion der Ostariophysen und einiger anderer Teleostien, die nicht zu den Ostariophysen gehören hervorrufen, verantwortlich. Von größerem Interesse ist die bei *C. aeneus* beidseitig an der Basis der Brustflosse gelegene tubuläre Drüse. Sie mündet direkt unter dem vertikalen, posthumeralen Vorsprung des Cleithrums nach aussen.

Die gesamte Drüse ist von einer Bindegewebskapsel umgeben. Es handelt sich dabei um eine Einsenkung des Integumentes. Die Epidermiszellen sind jedoch

bereits am Eingang der Drüse unterhalb des ersten Brustflossenstrahls zu Drüsenzellen modifiziert. Welche der verschiedenen Epidermiszellen während der Organogenese zu Drüsenzellen umgewandelt werden, ist unklar, ebenso, ob das Drüsenepithel mehrschichtig wie die Epidermis oder nur einschichtig ist. Die licht- und transmissionselektronen-mikroskopische Analyse zeigt lediglich große sekretgefüllte Zellen, deren Grenzen kaum oder nur unzureichend erkennbar sind. Whitear et al. (1991) vermuten aufgrund feinstruktureller Untersuchungen an der Axillardrüse von *Ictalurus nebulosis*, dass die Drüsenzellen der „Axillardrüse“ und der Giftdrüsen von Welsen Neubildungen seien und nicht, wie wiederholt diskutiert wird (s. Perrière und Goudey-Perrière 2003), modifizierte „club-cells, die bei Ostariophysen, zu denen auch die Siluriformes zählen, in Schrecksituationen Pheromone sezernieren ( u.a. Pfeiffer, 1970 ).

Unklar ist z. Zt. auch die Zusammensetzung des Sekretes der Axillardrüsen von *C. aeneus*. Da sich das Sekret weder mit PAS-Reaktion noch mit Alcianblau-Färbung darstellen lässt, dürften Polysaccharide, wenn überhaupt, nur einen geringen Teil des Sekrets ausmachen. Die Ausstattung dieser Drüsenzellen - überwiegend mit rauhem endoplasmatischem Retikulum und relativ wenig Dictyosomen- spricht ebenfalls für eine im wesentlichen Protein sezernierende Zelle.

Neue Untersuchungen belegen, dass das Sekret der Axillardrüsen von *Corydoras sterbai* Proteinfractionen mit Molekulargewichten von 71000, 26000 und 21700 D enthält und bakterizid wirkt (Kiehl et al. 2006).

Die transmissionselektronenmikroskopischen Aufnahmen der mit Sekret vollgepackten Drüsen (vgl. Abb. E2-E3, E5-E8) erlauben keine eindeutige Aussage über den Sekretionsmodus. Soweit untersucht, wird für die Axillardrüsen anderer Welse eine merokrine Sekretion angenommen (z.B. Whitear et al. 1991).

Der „Giftapparat“, den viele Welse besitzen, besteht aus stark verknöcherten Flossenstrahlen (der Dorsalflosse und/oder der Brustflossen) und Giftdrüsen. In vielen Fällen ist der Flossenstrahl von Ansammlungen einzelliger Drüsen ohne Ausführgang umgeben. Viele Arten haben daneben auch Axillardrüsen, z.B. *Galeichthys felis* (Ariidae) (Halstead et al. 1953, 1970), *Plotosus galeatus* (Plotosidae), *Ictalurus nebulosus* (Whitear et al. 1991) und Noturus- und Schilbeodes-Arten (Reed, 1907). Das Gift gelangt wahrscheinlich über den Flossenstrahl in die Wunde. Die Flossen werden bei Störung abgespreizt und der Flossenstrahl dringt in den Körper, z.B. eines Badenden, ein. Dabei werden die Drüsenzellen, die dem Flossenstrahl aufliegen, zusammengedrückt oder sogar zerstört, so dass das Gift in die Wunde gelangt, wo es verschiedene pharmakologische Wirkungen entfalten kann (sog. Ichthyocanthotoxine, vgl.

Cameron & Endean 1972, 1973). Vermutlich wird in solchen Fällen auch das Sekret der Axillardrüse abgegeben und gelangt über den arretierten ersten Brustflossenstrahl in die Wunde. Die in dieser Arbeit angefertigten Bilder zeigen, dass *C. anaeus* nicht über eine besondere Ansammlung von Drüsenzellen im Integument über dem Pectoralstachel verfügt. Bei *Corydoras aeneus* und anderen *Corydoras*-Arten liegt die Axillardrüse eingebettet in eine Knochenrinne. Sie wird bauchwärts der Länge nach durch ein Muskelbündel aus quergestreifter Muskulatur „überspannt“. Kontrahiert dieser Muskel, wird die Drüse gegen die Knochenrinne gedrückt. Auf diese Art könnte das Sekret rasch und in größeren Mengen durch den Ausführungsgang transportiert werden.

Biochemie und pharmakologische Eigenschaften (u.a. LD 50 meist von Säugern, Molekulargewichte bestimmter Fraktionen etc.) von Wels-Toxinen sind z.T. recht gut untersucht (u.a. Al-Hassan et al. 1987, Zusammenfassung bei Perrière und Goudey-Perrière 2003). Das gilt aber im Wesentlichen für die epidermalen Gifte; über die Wirksamkeit von Giften der Axillardrüsen ist so gut wie nichts bekannt (vgl. Al-Hassan et al. 1987). Generell sagen aber solche Untersuchungen kaum etwas über die tatsächliche Funktion solcher Toxine aus.

Im Hinblick auf die oben genannten Befunde an *Corydoras sterbai* und Ergebnisse an anderen Welsen, die eine antimikrobielle Aktivität von Epidermissekreten zeigen (Al Hassan et al. 1987, Robinette et al. 1998) dürften

die toxischen Sekrete von Welsen auch an der Abwehr von Bakterien und Pilzen und sogar an einer Beschleunigung der Wundheilung (s. Al-Hassan et al. 1987) beteiligt sein.

## **5. Zusammenfassung**

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Integument von *Corydoras aeneus* (Teleostei, Siluriformes) mit besonderer Berücksichtigung der „Axillardrüsen“

1.- In der Epidermis von *C. aeneus* lassen sich vier verschiedene Zelltypen nachweisen:

- Epithelzellen, große, runde bis hochovale Zellen mit hellem Zytoplasma, große, spindelförmige Zellen, charakteristisch ist ihre Füllung mit Sekretgranula, Becherzellen, die in großer Zahl überall in der Epidermis vorkommen.

2.- In der Dermis finden sich der für *Corydoras*-Arten typische Knochenpanzer, mehr oder weniger lockeres Bindegewebe und zahlreiche Melanozyten. Die ventrale Dermis des Bauchs besitzt keine Knochenplatten, sondern eine dicke Schicht sich kreuzender Kollagenfaserbündel.

3.- *Corydoras aeneus* verfügt über einen ausgeprägten, stark verknöcherten ersten Flossenstrahl der Brustflossen. Die Epidermis des Pektoralstachels besteht aus

einem mehrschichtigem unverhornten Plattenepithel und besonders vielen spindelförmigen Zellen.

4.- An der Basis dieses Flossenstrahls findet sich eine Öffnung. Es handelt sich hierbei um den Ausgang der Axillardrüse.

5.- Die Axillardrüse ist offenbar ein Derivat des Integumentes. Sie besteht aus großen Zellen, die mit AB-PAS-negativem Sekret gefüllt sind.

6.- Aufgrund der Sekretfüllung liegen sowohl der Kern als auch die Zellorganellen (ER, Dictyosomen, Mitochondrien) am Rand der Zelle.

7.- Häufig treten in diesem Bereich vor allem Dictyosomen und Vesikel, die z.T. mit dem Sekret verschmelzen, auf. Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist nicht auffällig ausgeprägt.

8.- An der Basis der mit Sekret gefüllten Zellen liegen kleine undifferenzierte Zellen mit z.T. großen Mitochondrien.

## **6 . Literaturverzeichnis**

Al-Hassan, J.M., M. Thomson, M. Ali, & R.C. Criddle (1987): Toxic and pharmacologically active secretions from the Arabian Gulf catfish (*Arius thalassinus*, Ruppell). *J. Toxicol. Toxin Rev.* 6, 1-43.

Arratia, G. (2003): The skin of catfishes- a review, pp. 177-199, In: Catfishes, Vol. 2 (Arratia, G., Kapoor, B.G., Chardon, M., Diogo, R., eds.) Science Publishers, Enfuld.

Bhali, H.K. (1938): The integument and dermal skeleton of Siluroidea. Trans. Zool, Soc., London 24, 1-102.

Cameron, A.M., & R. Endean (1972): The venom glands of teleost fishes. Toxicon 10, 301-303.

Cameron, A.M., & R. Endean (1973): Epidermal secretions and the evolution of venom glands in fishes. Toxicon 11, 401-410.

Evers, H.-E. (2002): Der lange Weg der Panzerwelse. Aquaristik Fachmagazin 34 (5), 10-13.

Halstead, B.W. (1970): Poisonous and venomous marine animals in the world, Vol. 3. Vertebrates, Osteichthyes. US Government Printing Office, Washington.

Hieronimus, H. (1989): Welse, Biologie und Haltung in der aquaristischen Praxis. Ulmer Verlag, Stuttgart.

Kiehl, E., Rieger, M., & H. Greven (2005): Secretions of the axillary glands in *Corydoras sterbai* (Callichthyidae, Siluriformes) are bactericidal. *Verh. Ges. Ichthyol.* 5, im Druck.

Mittal, A.K., Whitear, M. Bullock & A.M. (1981): Sacciform cells in the skin of teleost fish. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* 95, 559-585.

Pfeiffer, W. (1970): Über die Schreckstoffzellen der Siluriformes (Ostariophysi, Pisces). *Anat. Anz.* 126, 113-119.

Perrière, C., Goudey-Perrière, & F. (2003): Poisonous catfishes: Venom apparatus, acanthotoxins, crinotoxins and other skin secretions, pp. 291-314. In: *Catfishes Vol. 2* ( Arratia, G., Kapoor, B. G., Chardon, M., Diogo, R., eds). Science Publishers, Enfield.

Rauther, M. (1940): *Echte Fische*, 1.1. Integument. *Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. 6. Wirbeltiere, Vol. I, 2, 1, S. 1-184.* Leipzig, Akademische Verlagsgesellschaft.

Reed, H.D. (1907): The poison glands of *Noturus* and *Schilbeodus*. *Amer. Naturalist* 41, 553-566.

Robinette, D., S. Wada, T. Carroll, M. G. Levy, W. L. Miller, & E. J. Noga. 1998. Antimicrobial activity in the skin of the channel catfish *Ictalurus punctatus*: characterization of broad-spectrum histone-like antimicrobial proteins. *Cell Mol. Life Sci.* 54, 467-475.

Romeis, B.: *Mikroskopische Technik*. Verlag R. Oldenbourg Verlag, München-Wien (1968).

Shepherd, S., S.H. Thomas, & S. Stone (1994): Catfish envenomation. *J. Wild. Med.* 5, 67-70.

Spurr, A. R. (1969): A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 26, 31-43.

Whitear, M. (1986): The skin of fishes, pp. 8-64, In: *Biology of the integument 2, Vertebrates* (Bereiter-Hahn, J. , Matoltsy, A. G. , Richards, K. S. , eds), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Whitear, M., & A.K. Mittal (1983): Fine structure of the club cells in the skin of ostariophysan fish. *Z. mikrosk. Anat. Forsch.* 97, 141-157.

Whitear, M., Zaccone, G., Fasulo, S., & A. Licata (1991): Fine structure of the axillary gland in the brown bullhead (*Ictalurus nebulosus*). *J. Zool. London* 224, 669-676.

Zaccone, G., Kapoor, B.G., Fasulo, S. & L. Ainis (2001): Structural, histochemical and functional aspects of the epidermis of fishes. *Adv. Marine Biol.* 40, 253- 348.

## 7. Lichtmikroskopische Abbildungen

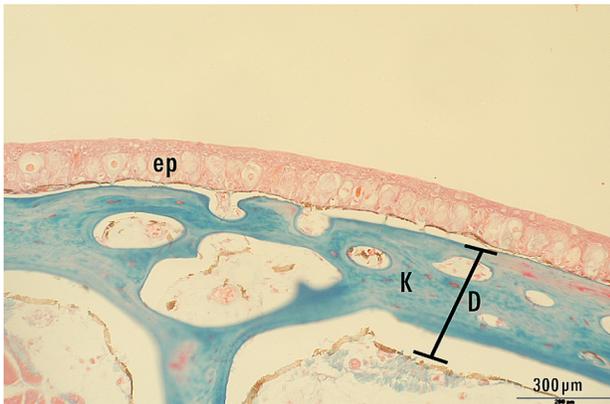


Abbildung 1

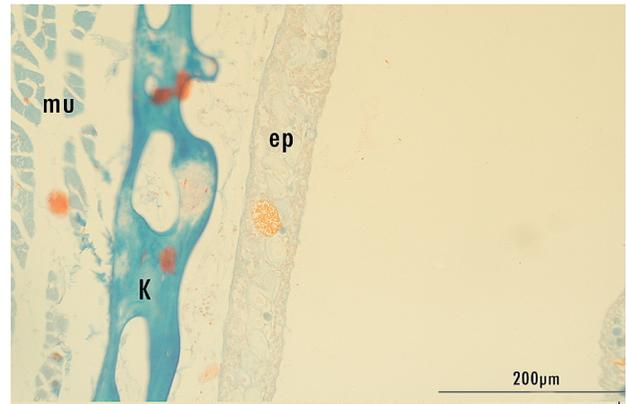


Abbildung 2

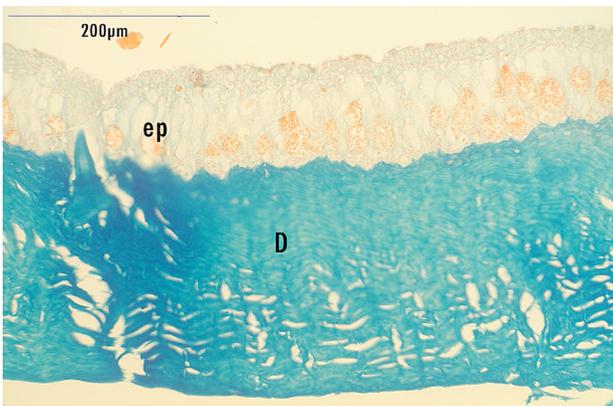


Abbildung 3

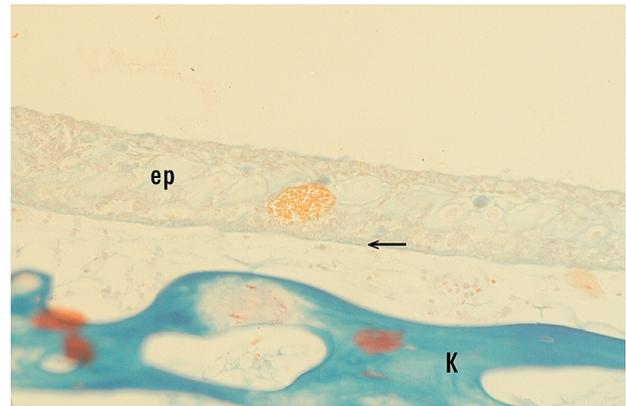


Abbildung 4

Abb. 1-4: Epidermis und Dermis von *C. aeneus* aus verschiedenen Körperregionen. Färbung: Azan.

Abb. 1: Rücken. Die Knochenplatten (k) reichen unmittelbar unter die Epidermis (ep).

Abb. 2: Flanke

Abb. 3: Bauch. Kollagene Dermis (D) ohne Knochenplatten

Abb. 4: Flanke. Man beachte die dünne Basallamelle (Pfeil), der das Epithel aufliegt.

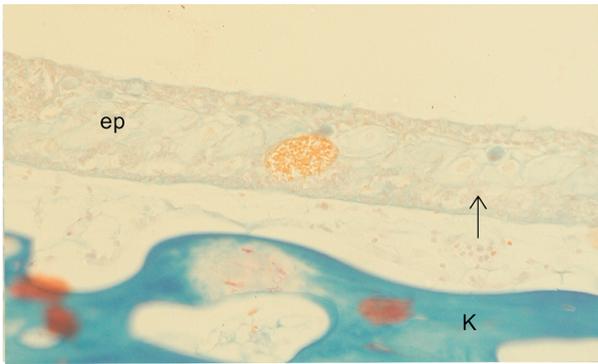


Abbildung 5

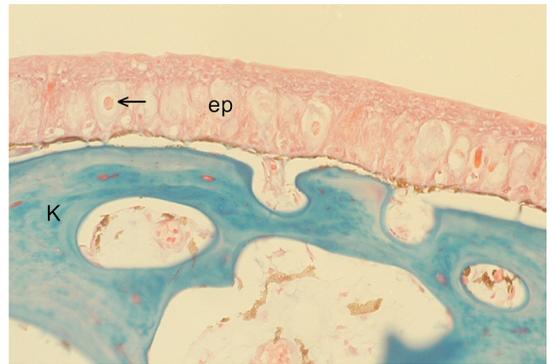


Abbildung 6

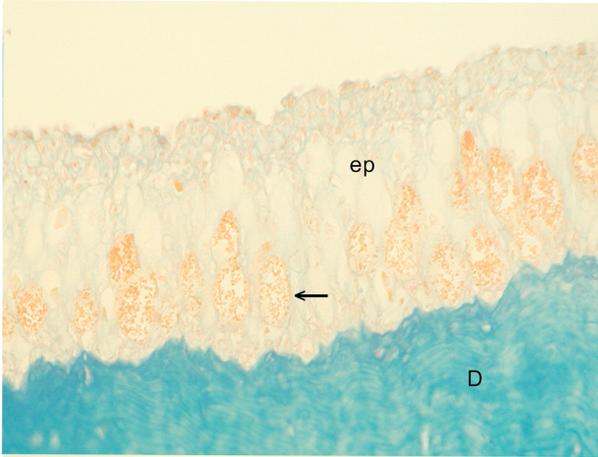


Abbildung 7

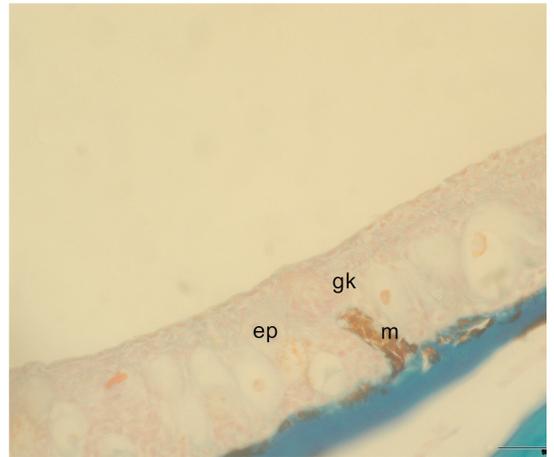


Abbildung 8

Abb. 5-8: Epidermis und Dermis von *C. aeneus* aus verschiedenen Körperregionen. Färbung: Azan

Abb. 5: Flanke. Die Epithelzellen sind basal kubisch bis prismatisch und besitzen große, runde bis ovale Kerne. Von basal nach apikal werden die Zellkerne kleiner und flachen zunehmend ab.

Abb. 6: Rücken. Man beachte die große, runde bis hochovale Zelle mit hellem Zytoplasma (Pfeil) in der Epidermis (ep).

Abb. 7: Bauch. Man beachte die spindelförmigen Zellen mit orange gefärbten Sekret-Granula in der Epidermis (ep).

Abb. 8: Flanke. Geschmacksknospe (gk), mit auffallender Ansammlung von Melanozyten (m). Becherzellen (Pfeil).

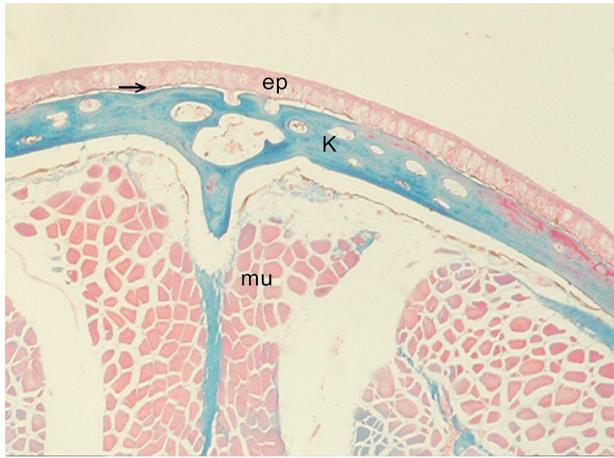


Abbildung 9



Abbildung 10

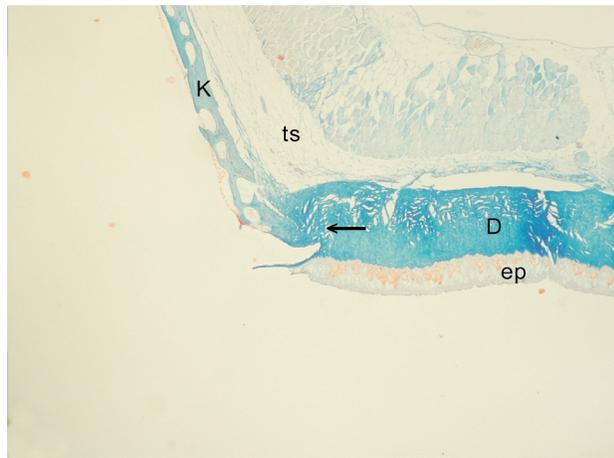


Abbildung 11



Abbildung 12

Abb. 9-12: Epidermis und Dermis von *C. aeneus* aus verschiedenen Körperregionen. Färbung: Azan.

Abb. 9: Rücken. Man beachte die Melanozyten (Pfeil) unmittelbar unter der Basallamelle.

Abb. 10: Rücken. Man beachte die synostotische Verbindung zwischen den Knochenplatten der Flanke mit denen des Rückens (Pfeil).

Abb. 11: Flanke und Bauch. Synostotischer Übergang der Knochenplatten der Flanke in die Kollagenschicht des Bauchs (Pfeil).

Abb. 12: Rücken. Die Knochenplatten tragen Odontoden (Pfeil).

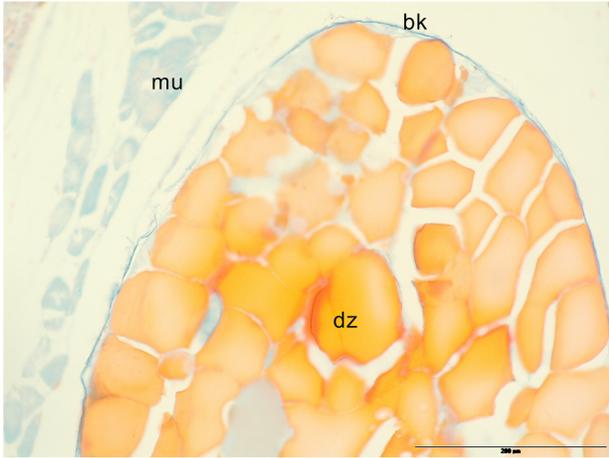


Abbildung 13

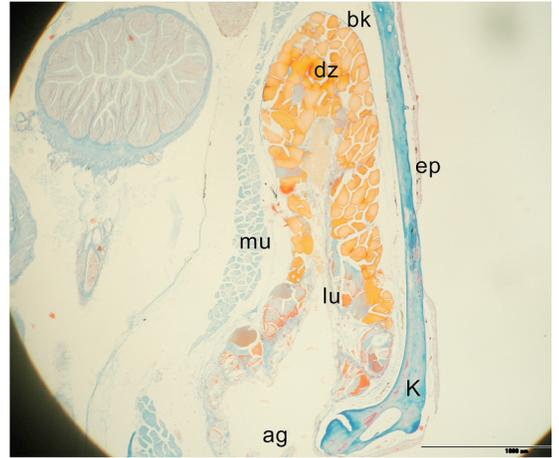


Abbildung 14



Abbildung 15

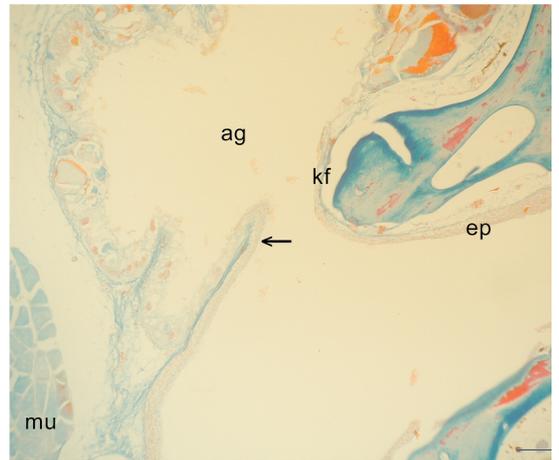


Abbildung 16

Abb. 13-16: Axillardrüse von *C. aeneus*. Färbung: Azan.

Abb. 13: Kaudaler Abschnitt der Drüse. Man beachte die feine Bindegewebskapsel (bk) und die großen sekretgefüllten Zellen.

Abb. 14: Gesamtübersicht mit Knochenspanne (K) und medialer Muskulatur (mu), in die die Drüse eingebettet ist.

Abb. 15: Mittlerer Abschnitt der Drüse mit feinen Bindegewebssepten (bs) und dem mit Sekret gefülltem Lumen (lu).

Abb.16: Ausführungsgang der Drüse. Der Pfeil markiert eine epidermale Vorwölbung, die die Drüsenöffnung wahrscheinlich verschliessen kann.

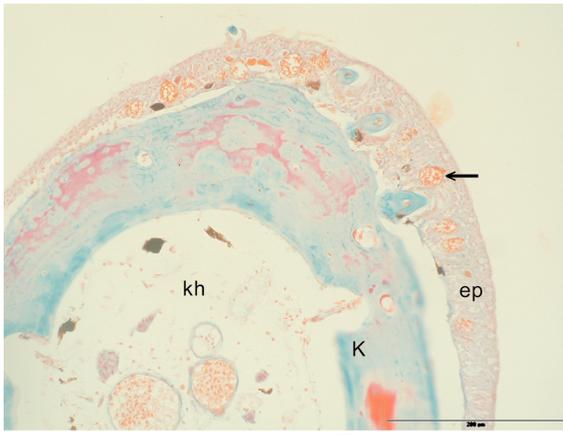


Abbildung 17

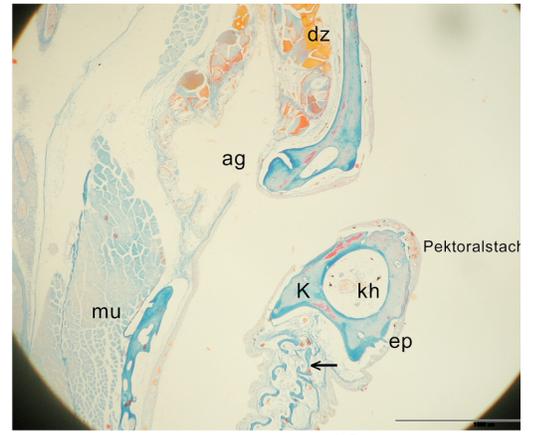


Abbildung 18

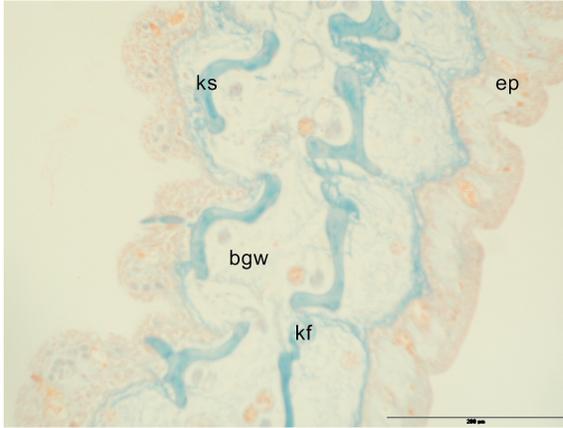


Abbildung 19

Abb. 17-19: Pektoralstachel von *C. aeneus*. Färbung: Azan

Abb. 17: Epidermis, Dermis und Tela subcutanea des ventralen Abschnitts des Pektoralstachels. Man beachte die großen, runden bis spindelförmigen Drüsenzellen mit rot-orange gefärbten Sekretgrana.

Abb. 18: Lage des Pektoralstachels (Pektoralstachel) zum Ausführungsgang (ag) der Axillardrüse.

Abb. 19: Epidermis, Dermis und Tela subcutanea der dorsalen Abschnitte des Pektoralstachels. Man beachte die Flossenstrahlen (fs).

## 8. Elektronenmikroskopische Abbildungen

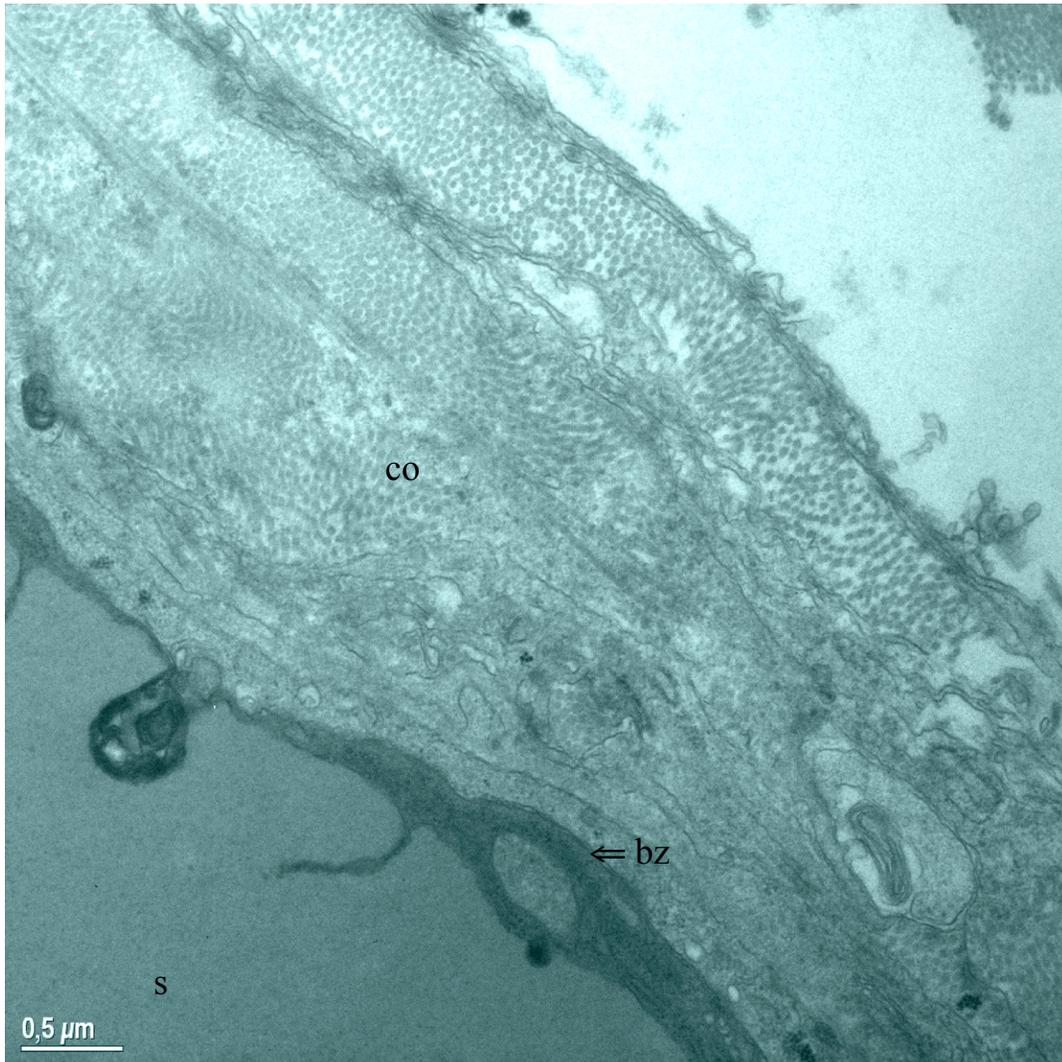


Abbildung E1

C 724

Abb. E1: Basis des Drüsenepithels mit gekreuzten Kollagenfasern (co), den elektronendichten Ausläufern einer Basalzelle (bz) und dem elektronendichten Zytoplasma einer sekretorischen (s = Sekret) Zelle.

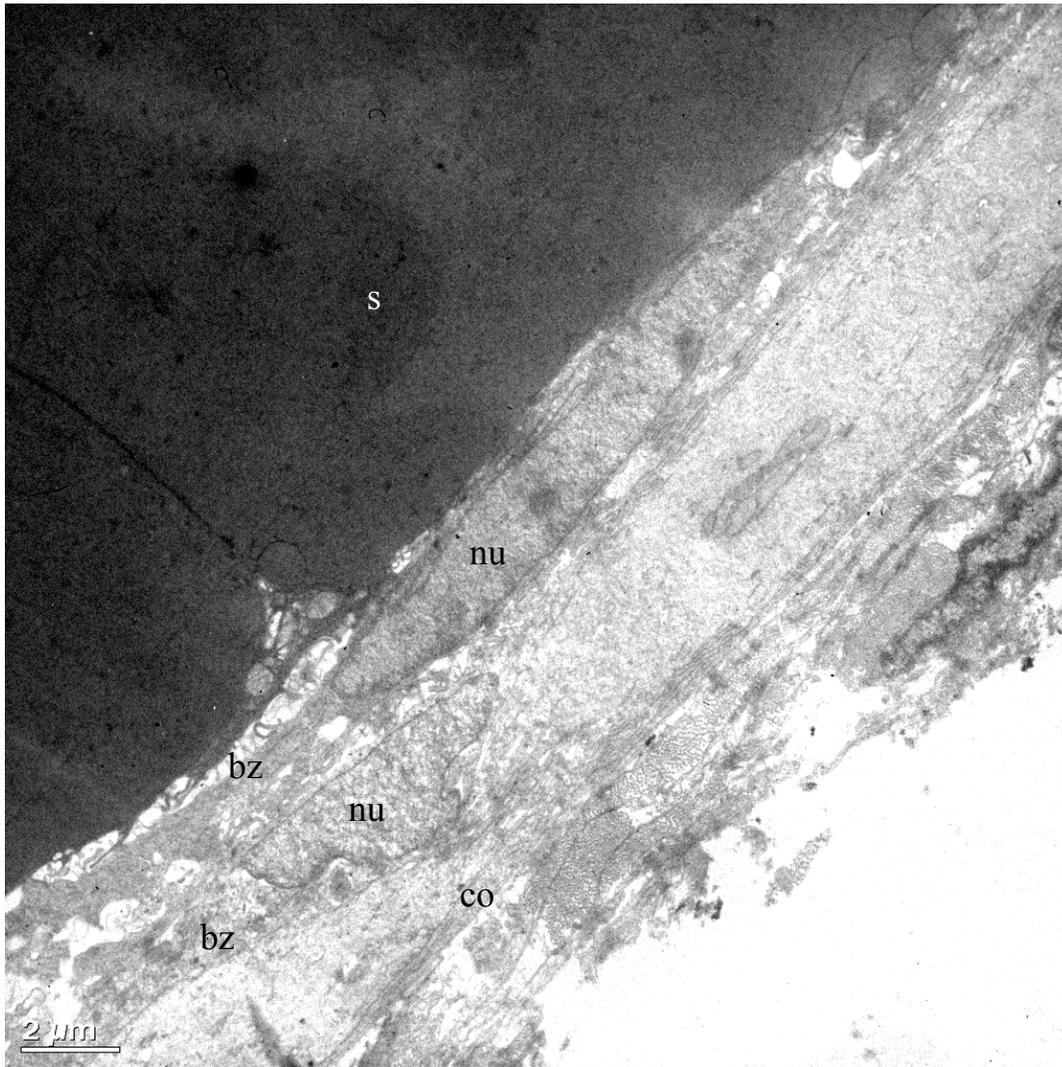


Abbildung E2

C 1427

Abb. E2: Basis des Drüsenepithels mit elektronendichter Basallamelle und sekretgefüllten (s) Drüsenzellen. co = Kollagen, nu = Kerne der Basalzellen.

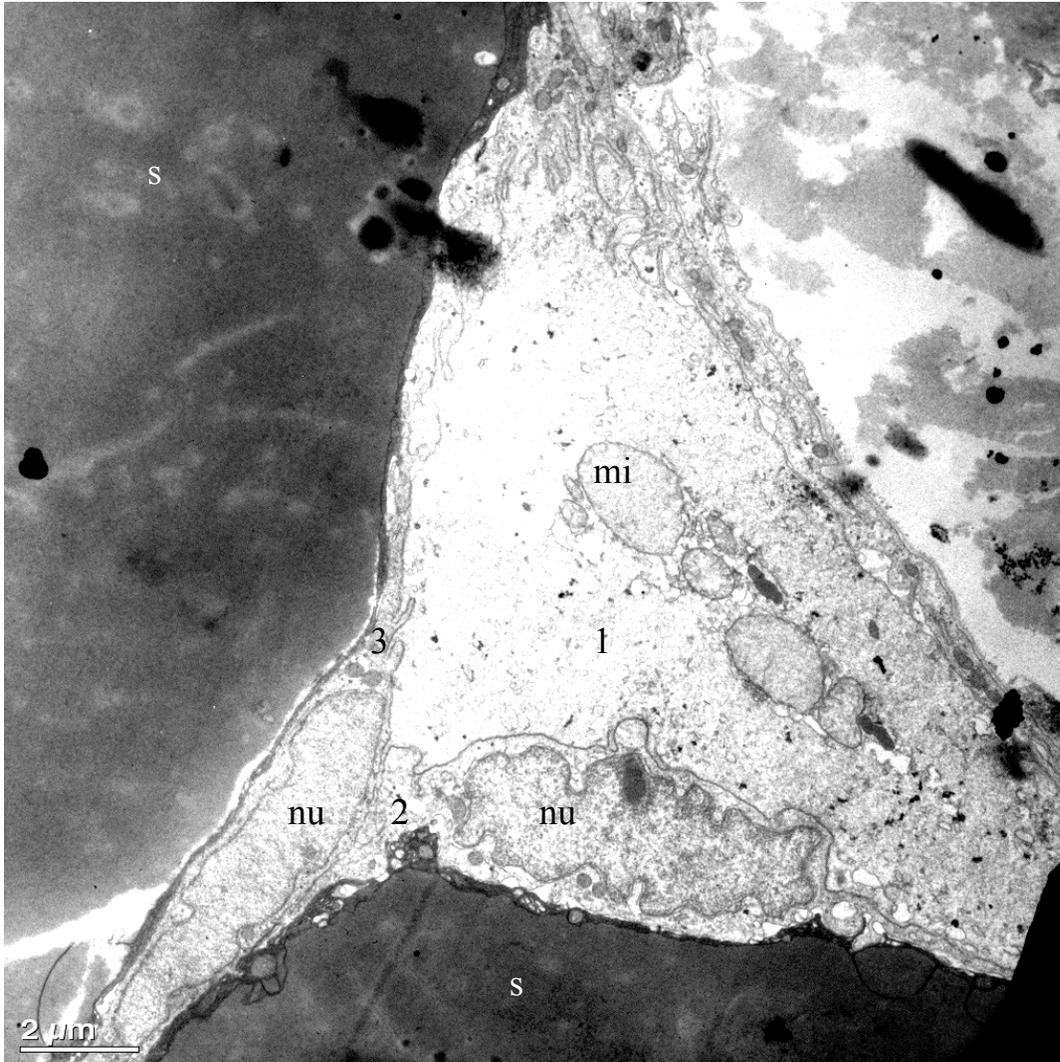


Abbildung E3

C 716

Abb. E3: Zwischen den sekretgefüllten Zellen (s), liegen drei helle Zellen (1, 2, 3) mit unregelmäßig geformten Zellkern (nu) und z. T. extrem großen Mitochondrien (mi).

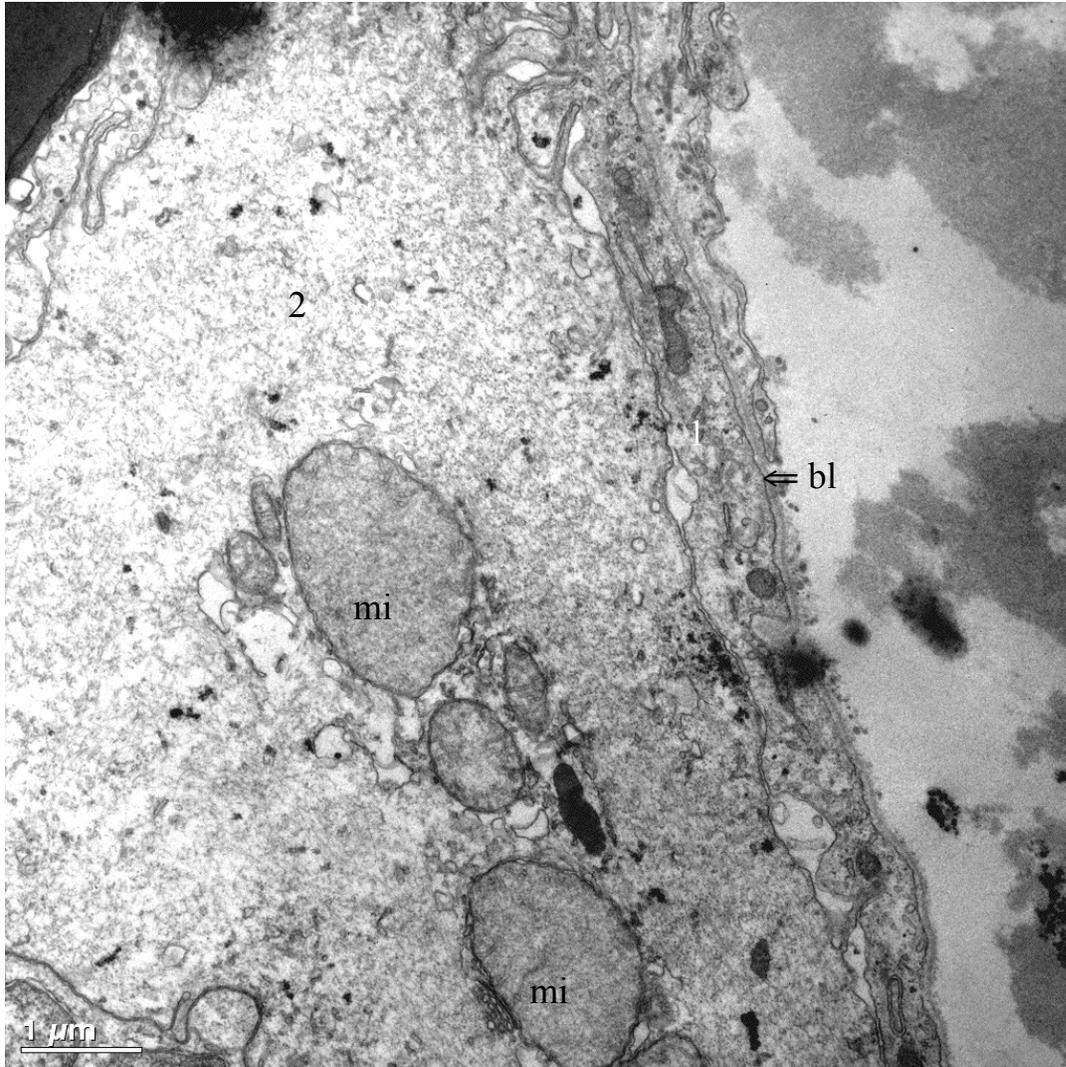


Abbildung E4

**C 717**

Abb. E4: Zwei (1, 2) helle Basalzellen. Man beachte die großen Mitochondrien (mi), bl = Basallamelle.

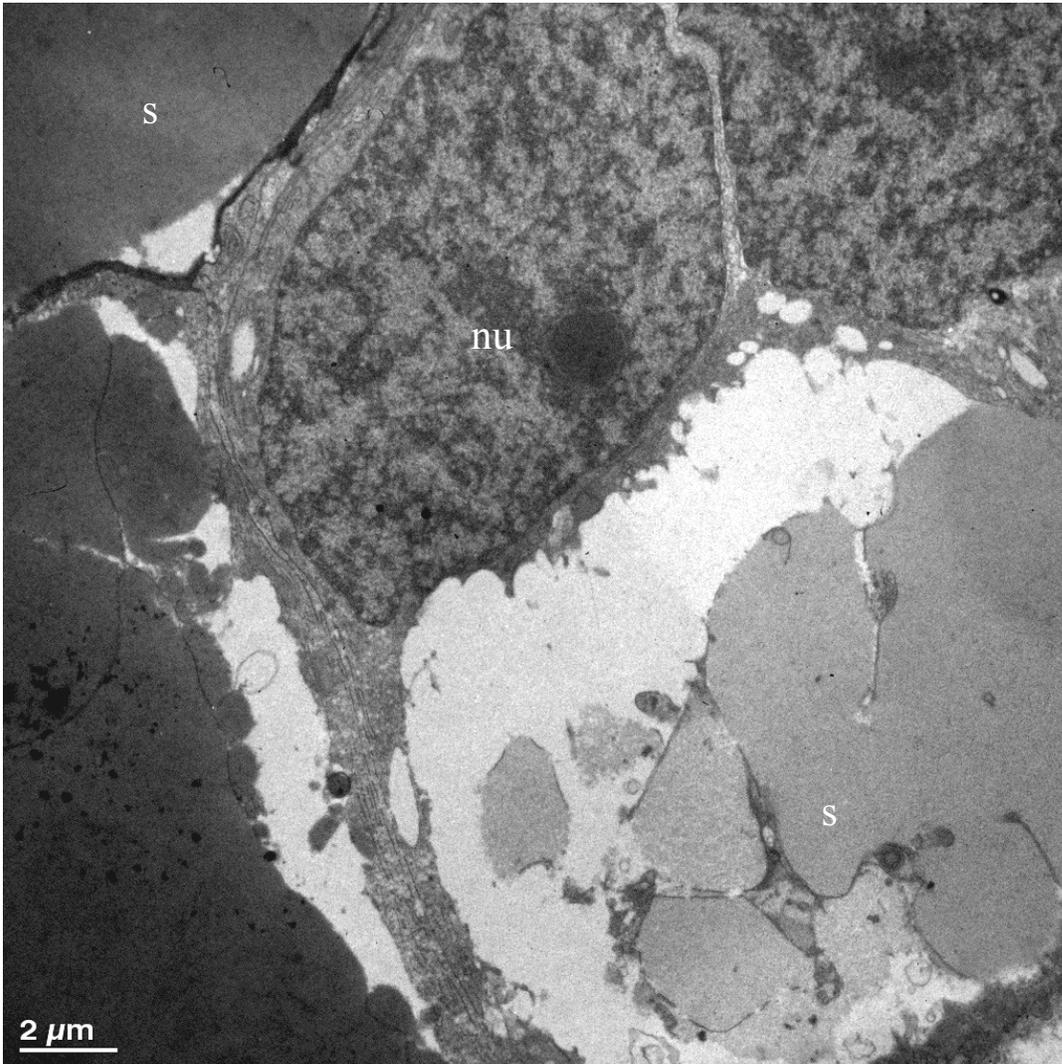


Abbildung E5

C 1415

Abb. E5: Jüngere und ältere Drüsenzellen mit heterochromatinreichem Kern (nu) und unterschiedlich elektronendichtem Sekret (s).

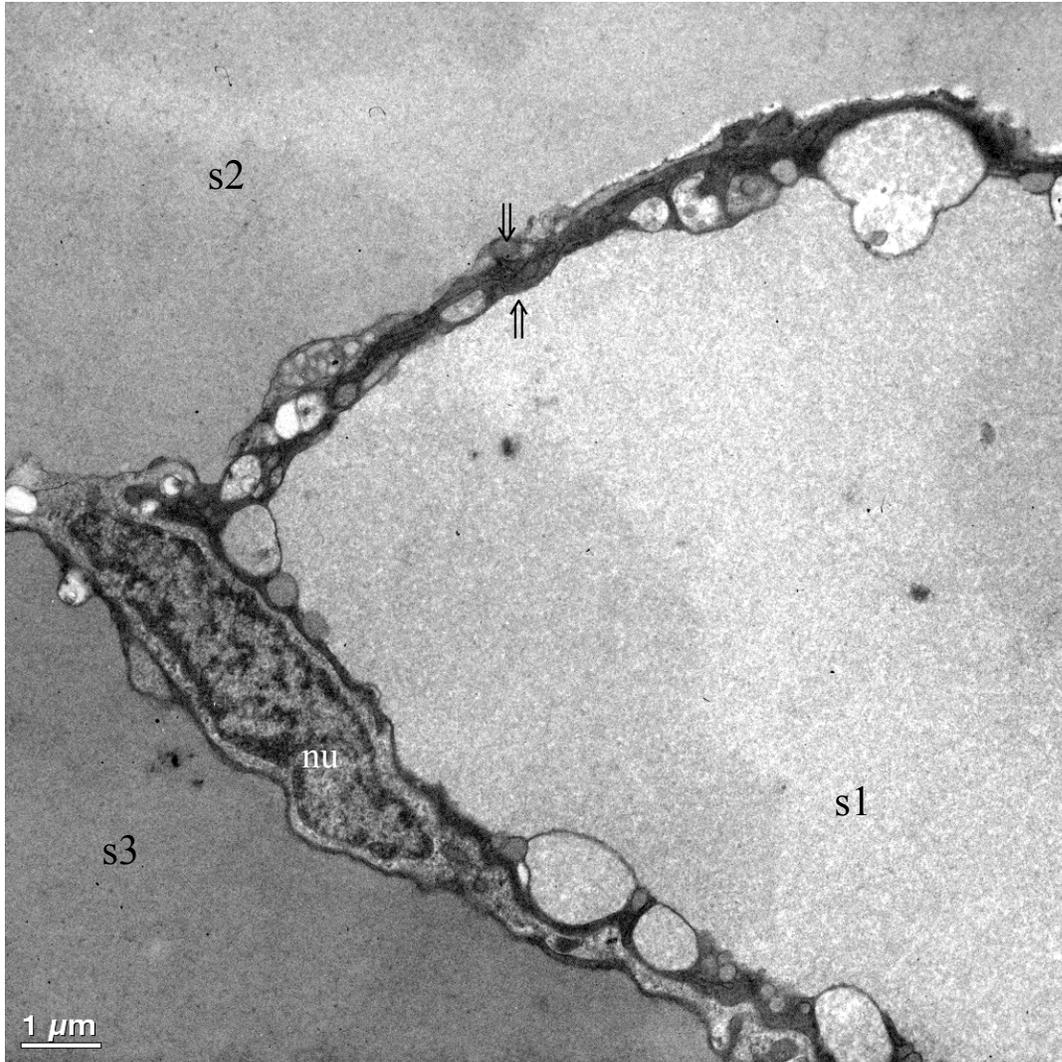


Abbildung E6

Abb. E6: Drei aneinanderstoßende sekretgefüllte Zellen (S1, S2, S3). Man beachte das homogene Sekret, das dunkle an die Peripherie gedrängte Zytoplasma (Pfeile), und eine offenbar undifferenzierte Zelle mit Zellkern (nu) zwischen den Sekretzellen.

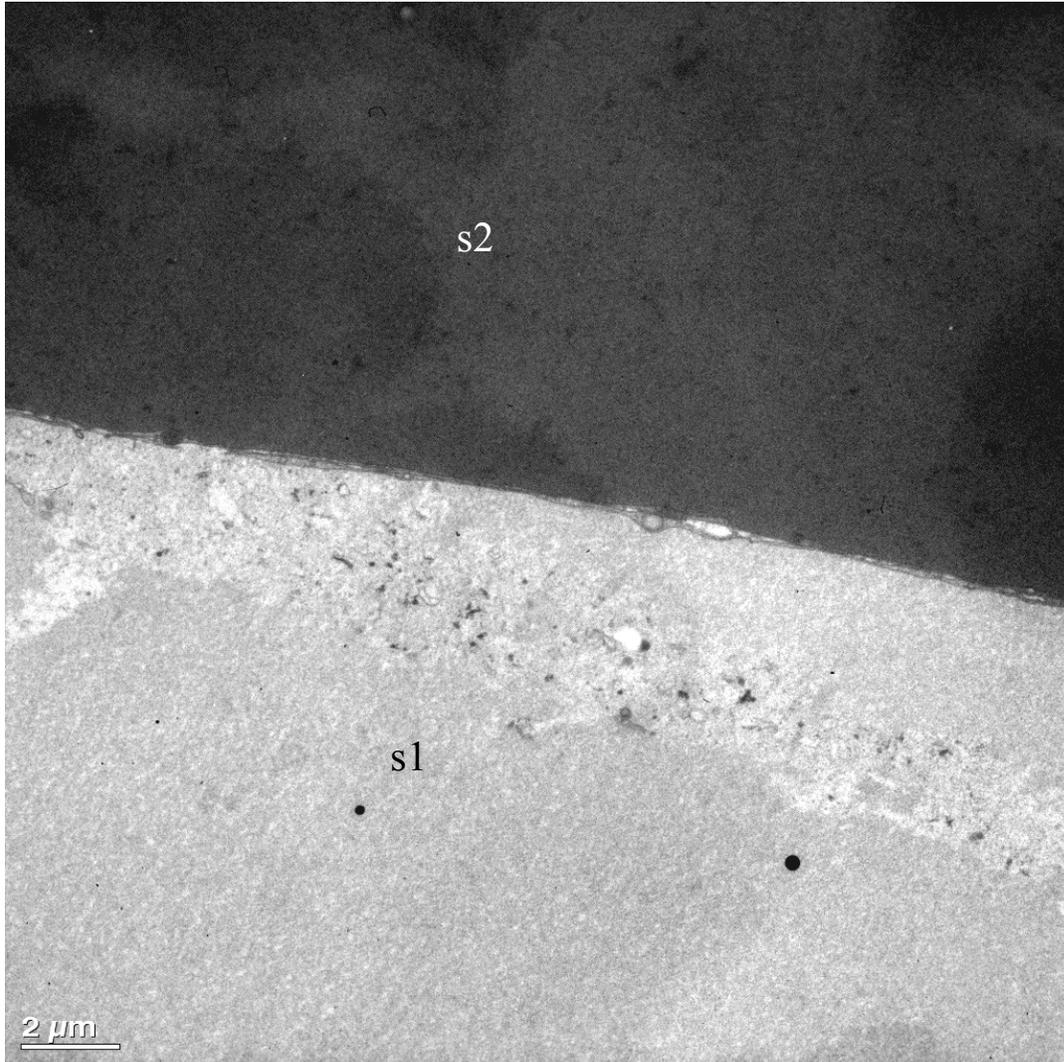


Abbildung E7

C 1418

Abb. E7: Zwei aneinanderstoßende Sekretzellen (S1, S2) und unterschiedlich elektronendichtes Sekret.

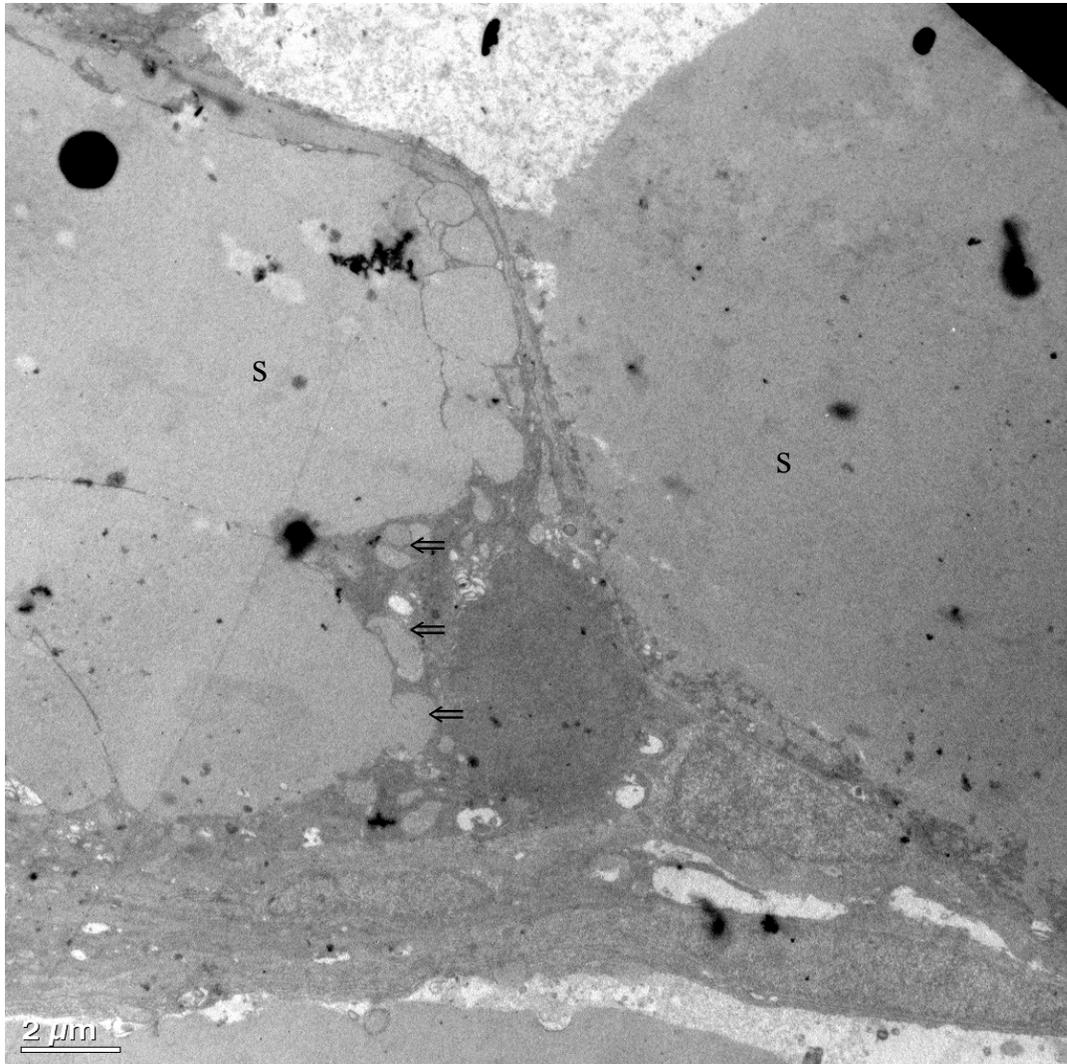


Abbildung E8

C 745

Abb. E8: Zwei aneinanderstoßende Sekretzellen. Man sieht deutlich, wie kleine, neu gebildete Sekretvesikel mit dem Sekret (s) verschmelzen (Pfeile).

## **9. Danksagung**

Herrn Prof. Dr. Passia danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Betreuung.

An Herrn Prof. Dr. Greven geht mein ganz besonderer Dank für die hervorragende Betreuung und seine Geduld.

Ebenfalls danken möchte ich Frau Baasen und Frau Servos für die ausgezeichnete Unterstützung bei der Laborarbeit und der Arbeit mit dem Elektronenmikroskop.

## 10. Lebenslauf

### **Persönliche Daten:**

Geburtsname: Flasbeck  
Geburtsdatum: 25.12.1975  
Geburtsort: Düsseldorf  
Familienstand: Ledig

### **Schulische Ausbildung:**

1982-1996  
06/1996  
Grundschule und Gymnasium in Düsseldorf  
Allgemeine Hochschulreife

### **Zivildienst:**

1997-1998  
Marienhospital Düsseldorf

### **Universitäre Ausbildung:**

1999-2006  
Medizinstudium an der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf

### **Praktisches Jahr:**

05/2006-05/2006:  
Marienhospital Düsseldorf

**Berufliche Tätigkeit:**

Seit 1.6.2006:

Assistenzarzt (Innere Medizin)  
Dominikus-Krankenhaus  
Am Heerdter Krankenhaus 2  
40549 Düsseldorf