

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

Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung
Vorstand: Prof. Dr. M.H. Erhard

und dem Lehrstuhl für Tieranatomie I
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. F. Sinowatz

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. M.H. Erhard
und Priv.-Doz. Dr. S. Reese

**Histologische Untersuchung der Haut
an den dorsalen Karpalgelenken von Mastbullen
aus unterschiedlichen Haltungssystemen**

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

von
Martin Kneer
Ehingen Donau

München 2009

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. M.H. Erhard

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Reese

Tag der Promotion: 6. Februar 2009

Gewidmet:

Meinen Kindern in Dankbarkeit

In Liebe meiner Frau

Jonathan in Gedenken

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literatur	3
2.1	Einfluss des Haltungssystems auf die Tiergesundheit	3
2.2	Die Haut im Bereich der Karpalgelenke	8
2.2.1	Allgemeiner histologischer Aufbau der Haut	8
2.2.1.1	Epidermis oder Oberhaut	8
2.2.1.2	Lederhaut, Corium	13
2.2.1.3	Basalmembran	14
2.2.1.4	Unterhaut, Subcutis, Tela subcutanea	15
2.2.2	Spezielle Histologie der Haut	15
2.2.2.1	Keratinisierung	15
2.2.2.2	Verhornung	18
2.2.2.3	Zellkontakte der lebenden Hautzellen	22
2.2.2.4	Zellkontakte abgestorbener Hautzellen	25
2.2.2.5	Epidermopoese und Keratogenese	28
2.2.2.6	Hautmodifikationen	28
2.2.2.7	Reaktion der Haut auf Druckbelastungen	29
3	Material und Methoden	33
3.1	Haltungsversuch des FLI in Cello	33
3.1.2	Aufsteh- und Liegeverhalten	34
3.1.3	Veränderungen an der Haut	35
3.2	Eigene Untersuchungen	37
3.2.1	Material	37
3.2.2	Methoden	38
3.2.2.1	Gruppenbildungen	38
3.2.2.2	2 Proben von einem Tier	39
3.2.2.3	Mikroskopische Untersuchungen	39
3.2.2.4	Histologische Übersichtsfärbungen	39
3.2.2.5	Histochemische Färbungen	40
3.2.2.6	Morphometrische Untersuchungen	42
3.2.2.7	Beurteilung der elastischen Fasern in Dermis und Subkutis	43
3.2.2.8	Untersuchungen in der Epidermis	43
3.2.3	Statistische Methoden	45
3.2.3.1	Statistische Tests im Einzelnen	47

4	Ergebnisse	49
4.1	Veränderungen im Liege- und Aufstehverhalten sowie hinsichtlich der Mastleistung	49
4.1.1	Liege- und Aufstehverhalten	49
4.1.1.1	Liegedauer und Liegeperioden	49
4.1.1.2	Aufstehen	50
4.1.1.3	Abliegen	51
4.1.1.4	Kurze Stehphasen	52
4.1.2	Mastleistung	53
4.2	Makroskopische Veränderungen der Haut	54
4.2.1	Untersuchung der Spaltenbodentiere	54
4.2.1.1	Beispiel für das Beurteilungskriterium „Haarlose Stellen“	55
4.2.1.2	Beispiel für das Beurteilungskriterium „Krusten“	56
4.2.1.3	Wunden	56
4.2.1.4	Nasse Krusten	56
4.2.1.5	Beispiel für das Beurteilungskriterium „Weiche Schwellungen“	57
4.2.1.6	Bindegewebige Schwellung	57
4.2.1.7	Rechts/Links-Vergleich an den Karpalgelenken eines Tieres	57
4.2.2	Untersuchung der Strohgruppe	58
4.3	Mikroskopische Veränderungen der Haut	59
4.3.1	Morphologie und Morphometrie	61
4.3.1.1	Die Subkutis	61
4.3.1.2	Die Dermis (Corium)	63
4.3.1.3	Die Epidermis	68
4.3.2	Mitoseraten der Epidermis	75
4.3.3	Entzündungszellen	78
4.3.4	Verhornung	80
4.3.4.1	Kernhaltige Zellen im Stratum corneum	80
4.3.4.2	Die Rhodaminfärbung des Stratum corneum	82
4.3.4.3	Vorkommen von SH- und SS-Gruppen	84
4.3.4.4	Beurteilung des Interzellularkitts durch die PAS-Reaktion	88
5	Diskussion	89
6	Zusammenfassung	106
6	Summary	109
7	Literaturverzeichnis	111
	Abbildungsverzeichnis	124
	Tabellenverzeichnis	128

Abkürzungsverzeichnis

Aqua dest.	Aqua destillata, destilliertes Wasser
AGJ	anular gab junctions
DACM	[N - (7-dimethylamino-4-methylcoumarinyl)maleimide]
DD	Dermatitis Digitalis
DDD	Dihydroxy-Dinaphtyl-Disulfid
EGFR	epidermal growth factor receptor
ERK	extracellular signal-regulated kinase
FAL	Forschungsanstalt für Landwirtschaft
FEA	finite element analysis
FEM	finite element model
FLI	Friedrich-Löffler-Institut
G1	Gummispaltenbodengruppe 1
G2	Gummispaltenbodengruppe 2
GJ	gap junctions
HE	Hämatoxin-Eosinfärbung
ICS	intercellular cementing substance
IFAP	intermediate filament associated protein
IZK	Interzellularkitt
IZR	Interzellularraum
KW-Test	Kruskal-Wallis-Test
MCG	membran coating granules
MCM	membran coating material
MR	Mittlerer Rang
MWU-Test	Mann-Whitney-U-Test
n.s.	nicht signifikant
PAS	Periodsäure-Schiff
p-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit
H0	Null-Hypothese
R/T	Rhodamin-Toluidinfärbung
SCCE	stratum corneum chymotryptic enzyme
SH-Gruppen	Sulphydrylgruppen
SS-Brücken	Disulfidbrücken
TC	Trichromfärbung
TSchG	Tierschutzgesetz

1 Einleitung

Die Aufzucht von Rindern auf Vollspaltenboden hielt in Deutschland in den 70er Jahren Einzug und ersetzte fast vollständig die bis dahin übliche Anbindehaltung des Jungviehs.

Als Vorteile des Vollspaltenbodens wurden der geringe Platzbedarf, der in der Regel kostengünstige und problemlose Einbau in Altgebäude, die hohe Arbeitswirtschaftlichkeit sowie das insbesondere für die Mastbullenhaltung relevante geringere Arbeitsrisiko gesehen.

Nachteilige Folgen der Haltung auf Betonspalten, die dem im TSchG geforderten Prinzip der Bedarfsdeckung und Schadensvermeidung entgegenstanden, waren neben negativen Auswirkungen auf artgemäße Bewegungsabläufe und Klauenschäden durch Verletzungen sowie mechanische Überlastungen insbesondere Technopathien in Form von Integumentschäden im Bereich der Tarsal- und Karpalgelenke.

Diese nachteiligen Haltungseffekte führten dazu, dass schon Anfang der 90er Jahre nur noch selten Vollspaltenbodenställe für die Nachzucht von Milchkühen gebaut, sondern andere, tiergerechtere Verfahren gewählt wurden, die jedoch entweder deutlich teurer im Bau oder arbeitsaufwändiger im Unterhalt sind.

Für die Haltung von Mastbullen blieb der Vollspaltenboden allerdings das Haltungssystem der Wahl. Aufgrund ihrer kürzeren Lebensperiode sind zwar die möglichen Schäden an Klauen und Gelenken nicht von derselben ökonomischen Bedeutung wie bei der Aufstallung von Milchkühen, jedoch von erheblicher Tierschutzrelevanz.

Den in den letzten Jahren zunehmenden Forderungen der Gesellschaft nach einer artgerechteren Haltung versucht man in der konventionellen Tierhaltung dadurch zu entsprechen, dass die Spaltenoberflächen mit Gummi ausgestattet werden. Besonders in der Boxenlaufstallhaltung von Milchkühen haben diese weichen Spaltenbeläge in den letzten Jahren größere Verbreitung erfahren, wohingegen in der Mastbullenhaltung diese Haltungsvariante noch wenig angewandt wird.

Während die Auswirkungen verschiedener Bodenarten auf die Klauen von Milchkühen intensiv untersucht und kontrovers diskutiert wurden, sind zur Frage des Einflusses unterschiedlicher Bodenbeschaffenheit auf Häufigkeit, Art und Umfang sowie die pathohistologische Bedeutung und mögliche Tierschutzrelevanz von Integumentläsionen im Bereich der dem Boden besonders exponierten Gelenkregionen nur wenige Untersuchungen publiziert.

Ziel dieser Arbeit ist es, am Beispiel unterschiedlich gehaltener Mastbullen die Auswirkung verschiedener Bodenoberflächen auf die Haut der dorsalen Karpalgelenke, die Hauptbelastungszonen beim Liegen und Aufstehen der Tiere, histologisch zu untersuchen, um anhand der Befunde Einschätzungen über mögliche haltungsbedingte Schäden und deren tierschutzrelevante Folgen treffen zu können.

2 Literatur

2.1 Einfluss des Haltungssystems auf die Tiergesundheit

In der Milchviehhaltung erfolgt die Aufstallung in den Laufbereichen zunehmend auf gummi-modifizierten Spaltenböden. Mastbullen werden dagegen üblicherweise auf Betonspaltenböden gehalten.

Die Auswirkungen verschiedener Aufstallungssysteme auf Gesundheit und Wohlbefinden von Milchkühen sind Gegenstand zahlreicher Untersuchungen, wobei der Focus der Untersuchungen auf der Auswirkung auf die Klauengesundheit liegt (Quellen siehe im Folgenden).

Da Klauenerkrankungen bei Milchkühen mit einer Verringerung der Reproduktionsrate und dem vermehrten Auftreten postpartaler Komplikationen wie Mastitiden, Zitzenverletzungen oder Milchfieber assoziiert sind, haben präventive Maßnahmen in der Milchviehhaltung einen hohen Stellenwert (Sogstad et al., 2006).

Demgegenüber liegen für Mastbullen zu dieser Thematik nur wenige Studien vor (Thio et al., 2005; Mayer et al., 2007; Platz et al., 2007).

Zwar sind Untersuchungsergebnisse aus der Milchviehhaltung auf die Bullenmast nur mit Einschränkung übertragbar, denn Langzeitauswirkungen verschiedener Aufstallungen kommen aufgrund der kürzeren Lebensspanne von Mastbullen weniger zum Tragen; dennoch soll im Folgenden auf einige wichtige Untersuchungsergebnisse an Milchkühen eingegangen werden.

Können die Tiere frei wählen, so präferieren Rinder allgemein als Weichbodengeher elastischen Gummiboden gegenüber Betonboden (Platz et al., 2007; Platz et al., 2008). Dabei wurde von den Tieren dem vollgummierten Boden ein leichter Vorzug vor dem Gummispaltenboden gegeben (Telezhenko et al., 2007).

Rushen et al. (2007) untersuchten den Einfluss der Aufstallung auf gummierten und Betonböden bei Milchkühen in Anbindehaltung auf Verhalten und Fußverletzungen der Tiere: Tiere auf gummierten Böden zögerten weniger, vom Stehen zum Liegen zu wechseln und verbrachten insgesamt mehr Zeit im Liegen als die Vergleichsgruppe auf Betonböden. Schwellungen der Karpalgelenke traten bei Kühen auf Betonböden signifikant häufiger auf als bei den Tieren, die auf Gummiböden gehalten wurden (Telezhenko und Bergstein, 2005).

Gummibeschichtete Böden erhöhen die Gang- und Trittsicherheit der Tiere, insbesondere lahrender Tiere (Flower et al., 2007). Durch die höhere Kompressibilität und den höheren Reibungskoeffizienten nimmt die Fortbewegungsgeschwindigkeit von Kühen auf Gummiböden im Vergleich zu Betonböden zu, während die Ausrutschwahrscheinlichkeit sinkt (Rushen und de Passillé, 2006).

Ein Vergleich verschiedener Betonboden-Aufstallungssysteme mit Strohaufstallung an niederländischen Milchkühen ergab für alle Beton-Aufstallungsvarianten eine höhere Prävalenz an Klauenschäden (überwiegend im subklinischen Bereich) als bei Strohhaltung. Innerhalb der Beton-Varianten – massiver Beton-Boden, Beton-Spaltenboden und Beton-Spaltenboden mit Kotentfernung – schnitt die letztgenannte Aufstallungsform am besten ab (Somers et al., 2003).

Insgesamt wird die Prävalenz von Klauenschäden bei niederländischen Milchkühen auf etwa 70 bis 80% geschätzt. Bei Haltung auf Betonböden ändert sich die Klauenform: Die Gewichtsbelastung auf der harten Oberfläche beschleunigt durch Abnutzung und Verschleiß das Klauenwachstum und den Klauenabrieb.

Aufstallung auf Betonböden wird im Allgemeinen mit negativen Auswirkungen auf die Klauengesundheit assoziiert, wobei sich diese hauptsächlich im Bereich der lateralen Hinterklauen abspielen, auf denen – wie biomechanische Experimente zeigten – die Hauptdruckbelastung liegt. Diese ist im Vergleich zum Stehen beim Gehen um ein Zweifaches höher (Van der Tol et al., 2003). Durch weicheren Untergrund wird die Druckbelastung für die Klauen und die Gliedmaßen erheblich reduziert (Somers et al., 2003); Prävalenz und Schweregrad der Klauenschäden nehmen bei Aufstallung auf gummibeschichteten Böden ab.

Eine Untersuchung von Somers et al. (2005) ergab jedoch keine strukturellen Unterschiede hinsichtlich der Klauenform bei Aufstallung auf unterschiedlichen Betonböden und auf Stroh-einstreuung, abgesehen vom Klauenwinkel. Hornwachstum und –abnutzung waren vom Bodentyp unbeeinflusst. Es fand sich kein Hinweis, dass die Aufstallung auf hartem oder weichem Boden einen signifikanten Effekt auf die Klauengesundheit hat. Die Kühe entwickelten unabhängig von der Haltungsart interdigitale Dermatitiden und Huferosionen, wobei allerdings digitale Dermatitiden bei den Tieren auf Strohhaltung am seltensten vorkamen. Innerhalb der Betonbodenhaltungsformen zeigten die Tiere auf Betonspaltenböden signifikant weniger Dermatitiden als Tiere auf massiven Beton- oder gerillten Betonböden.

Hultgren und Bergsten (2001) dagegen fanden eine signifikant geringere Prävalenz an Klauenerkrankungen im Bereich der hinteren Gliedmaßen bei Milchkühen in Anbindehaltung auf Gummispaltböden im Vergleich zu Betonböden.

Kremer et al. (2006) fanden beim Vergleich zweier Versuchsgruppen – Betonspaltenböden mit und ohne elastische Auflagen (wobei den Tieren der ersten Gruppe Hochboxen, den Tieren der zweiten Gruppe Tiefboxen als Liegeboxen zur Verfügung standen) – bei der Auswertung der Milchdaten keine signifikanten Unterschiede bei Milchmenge, Eiweißgehalt und Eiweißmenge. Fettgehalt und –menge lag bei Betonspaltenbodenhaltung ohne Gummiauflage signifikant höher, der Zellgehalt bei Betonspaltenbodenhaltung mit Gummiauflage signifikant niedriger als in der jeweiligen Referenzgruppe. Mit steigender Aktivität der Tiere korrelierte ein Trend zu abnehmender Milchleistung. Die signifikant höhere Aktivität der Tiere auf Betonspaltenböden mit Gummiauflage spricht aber für einen durch den weicheren Boden bedingten höheren Komfort der Tiere.

Van der Tol et al. (2002) konnten die Hypothese, dass sich die Hauptdruckbelastung gleichmäßig auf die Rinderklaue verteilt, widerlegen. Beim ruhigen Stehen liegt die Hauptbelastung der Vorderbeine auf den medialen, der Hinterbeine auf den lateralen Klauen – den Regionen, die klinischen Beobachtungen zufolge besonders empfänglich sind für Klauenerkrankungen. Dies könnte auf einen kausalen Zusammenhang zwischen beiden Parametern hinweisen.

Diese Beobachtungen werden unterstützt durch Untersuchungen von Vanegas et al. (2006), die an den Hintergliedmaßen ebenfalls eine höhere Wahrscheinlichkeit für die laterale als die mediale Klaue feststellten, eine Läsion zu entwickeln – unabhängig von der Aufstallung (Gummimatten – Betonböden). Die Art der Aufstallung hatte keine signifikante Auswirkung auf die Milchleistung der Kühe, ebenso fanden sich hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit Klauenschäden zu entwickeln, keine signifikanten Unterschiede. Allerdings zeigten die Tiere auf Betonböden eine größere Wahrscheinlichkeit Ballenerosionen zu entwickeln als die Vergleichsgruppe auf Gummimatten. Diese Tiere wurden häufiger lahm und wiesen ein höheres Wachstum und höhere Abriebkoeffizienten im Klauenbereich auf als die Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse wurden dahingehend interpretiert, dass ein weicherer Aufstallungsboden die Klauengesundheit fördert.

Auch Kremer et al. (2007) fanden bei Aufstallung auf Gummiböden im Vergleich zu Betonspaltenböden einen ungenügenden Hornabrieb. Bei den Tieren, die auf gummibeschichteten

Böden gehalten wurden, traten häufiger Sohlengeschwüre auf, wohingegen hämorrhagische Sohlenläsionen (außer Sohlengeschwüre in Verbindung mit Hämorrhagien) im Vergleich zur Betonbodenhaltung seltener auftraten. Die Untersuchung kommt zusammenfassend zu dem Ergebnis, dass die Haltung auf elastischem Boden (Gummimatten) nicht notwendigerweise die Klauengesundheit fördert, wenngleich die größere Aktivität der Tiere auf diesem Bodenbelag für einen verbesserten Laufkomfort spricht.

Franck und De Belie (2006) untersuchten die Beschaffenheit / Rauigkeit der Oberfläche von Betonböden und die Beurteilung der Verformung der Rinderklaue anhand eines Modells unter Belastung. Insbesondere ging es ihnen um die Druckverteilung zwischen Boden und Rinderklaue. Dabei zeigte sich, dass die Rauigkeit des Bodens zwar eine Rolle spielt bei der Höhe des Kontaktdruckes, dieser jedoch wesentlich mehr von der Rinderklaue selbst abhängt. In einer Studie ähnlicher Fragestellung (Franck et al., 2008) wurde ein FEM (finite element model) benutzt. Die Autoren wenden einschränkend ein, dass die FEA (finite element analysis)-Ergebnisse die komplexen Faktoren, die die reale Aufstallung beeinflussen, nur vereinfacht abbilden können – die Ergebnisse weisen jedoch in die gleiche Richtung wie die aus Untersuchungen unter realen Lebensumständen: Reibung hatte keinen signifikanten Effekt auf den Kontaktdruck zwischen Klauen und Boden. Die Rauigkeit des Bodens war dagegen die Hauptdeterminante beim Kontaktdruck zwischen Huf und Boden.

Auch Hinterhofer et al. (2006) benutzten ein Klauenmodell (finite element model), um die Auswirkung unterschiedlicher Druckbelastungen auf die Rinderklaue in Abhängigkeit von der Haltung (Spaltenböden oder Vollbetonböden) zu untersuchen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass unter dem Aspekt der Druckbelastung eine größere Kontaktzone zwischen Huf und Unterboden, wie es bei Vollbetonböden der Fall ist, den Spaltenböden vorzuziehen sind. Wenn die Aufstallung auf Spaltenböden unvermeidbar ist, sollten die Spalten senkrecht zur Laufrichtung ausgerichtet sein.

Telezhenko et al. (2008) kommen bei ihrer (in vivo-) Untersuchung zu ähnlichen Resultaten und sehen in der Aufstallung auf Vollbetonböden durch die größere Kontaktfläche und den verminderten mittleren Kontaktdruck, der auf den Klauen lastet, durchaus auch positive Aspekte.

Während Benz (2002) feststellt, dass durch vermehrtes Laufen der Tiere auf weichem Untergrund die Mikrozirkulation in der Dermis verbessert wird, kann dieses Ergebnis von Kremer et al. (2007) nicht bestätigt werden. In deren Studie konnte, vergleichbar den Ergebnissen von

Vokey et al. (2001), eine Verbesserung des Klauenstatus auf Gummiböden gegenüber Betonböden nicht belegt werden. Es trat im Gegenteil sogar eine Verschlechterung gegenüber der Situation auf Betonböden auf. Insbesondere konnte eine Erweichung des Klauenhorns der Tiere auf Gummispaltenboden festgestellt werden mit einer gleichzeitigen Zunahme der Inzidenz von Dermatitis Digitalis (DD) und Ballenhornfäule in der Gummibodengruppe.

Auch Samel (2005) fand beim Vergleich gummibeschichteter zu betonierten Laufflächen keinen signifikanten Einfluss, weder auf Prävalenz noch auf Schweregrad von Klauenerkrankungen bei Milchkühen.

Nur wenige Untersuchungen befassen sich speziell mit der Aufstallung von Mastbullen. Schulze Westerath et al. (2004) fanden bei Untersuchungen zum Liegeverhalten von Mastbullen auf verschiedenen Untergründen in Betonspaltenbuchten häufiger atypische Abliege- und Aufstehvorgänge als bei anderen Haltungsformen.

Thio et al. (2005) sowie Mayer et al. (2007) berichten, dass Veränderungen am Integument von Mastbullen durch Gummiauflagen (insbesondere auch im Bereich der Karpalgelenke) reduziert werden, andererseits aber der mangelnde Klauenabrieb als problematisch zu beurteilen ist.

Zerbe et al. (2008) kommen beim Vergleich von Betonspaltenbuchten und gummimodifizierten Spaltenböden in der Mastbullenhaltung ebenfalls zu dem Ergebnis, dass gummibeschichtete Böden einen positiven Einfluss (u.a.) auf den Gesundheitszustand der Karpalgelenke haben und weisen auf die negativen Auswirkungen dieses Bodenbelags auf die Klauengesundheit durch unzureichenden Klauenabrieb hin.

Platz et al. (2007) fanden in ihrer Untersuchung signifikant höhere Werte für Technopathien an Haut und Gelenken von Mastbullen auf Betonspaltenböden als bei Tieren in Zweiflächen- oder Mattenbuchten; die Prävalenz von Dermatitis war jedoch bei allen Tieren hoch, tendenziell vor allem bei Bullen in den Buchten mit Gummimatten.

Als Ursache werden in diesem Zusammenhang schlechtere Selbstreinigungseigenschaften und damit erhöhte Feuchtigkeit des Gummibodens diskutiert. So berichten Lowe et al. (2001) von einem höheren Verschmutzungsgrad der Bullen auf perforiertem Gummiboden gegenüber Bullen, die auf anderen Bodenoberflächen gehalten wurden.

Mit Blick auf haltungsbedingte Läsionen sind Untersuchungen von Müller et al. (2005) von hoher Relevanz, die von Todesfällen, verursacht durch die von diesen Läsionen ausgehenden Bakteriämien mit generalisierter Abszessbildung, berichten. Hier wird deutlich, dass auch den

bisher nur mit marginalem Interesse betrachteten Hautläsionen in den beim Aufstehen und Abliegen exponierten Gelenkbereichen eine wesentliche Bedeutung für Gesundheit und Wohlbefinden der betroffenen Tiere zukommt.

2.2 Die Haut im Bereich der Karpalgelenke

Gegenstand der näheren Untersuchung in dieser Arbeit ist die Haut (Cutis), die den Karpus an seiner dorsalen Seite bedeckt.

Die Haut hat als das größte Organ des Körpers (Moll, 2005) vielfältige Funktionen. Sie dient als Regulationsorgan für den Blutdruck und Temperaturhaushalt, nimmt am Stoffaustausch teil und übermittelt sensorische Informationen über Temperatur, Druck, Spannung und Schmerz.

Die Hauptaufgabe der Haut besteht im Schutz des Körpers vor und in der Reaktion auf (schädliche) äußere Einflüsse: mechanische, chemische Einwirkungen, Schutz vor Austrocknung (eine Schädigung der menschlichen Haut auf dem Niveau des Stratum corneum wie bei einer generalisierten Psoriasis kann zu einem täglichen Wasserverlust von bis zu 6 l führen; vgl. Marks, 2004), Strahlenwirkung, immunologische Überwachung (Hengge, 2006), Schutz vor dem Eindringen von Parasiten, Bakterien und Viren. Sie dient aber auch als „Ionenpool“ zur Bilanzierung des Serum-Elektrolytspiegels (Habermehl, 1996).

2.2.1 Allgemeiner histologischer Aufbau der Haut

Die Haut (Integumentum commune) ist aus 3 Schichten aufgebaut:

- 1) die Oberhaut (Epidermis);
- 2) die Lederhaut (Corium), beide zusammen bilden die eigentliche Haut oder Cutis;
- 3) die Unterhaut (Subcutis, Tela subcutanea), welche als verschiebliche Unterlage dient.

2.2.1.1 Epidermis oder Oberhaut

Die Epidermis ist ektodermaler Herkunft (Wolff, 2005). Sie besteht aus einem mehrschichtigen, an der Oberfläche verhornenden Plattenepithel, dessen Dicke in Abhängigkeit von Lokalisation, Alter und Geschlecht variiert (Moll, 2005). Der vorherrschende Zelltyp sind Keratinozyten (etwa 85%; Fritsch, 2004; Bragulla et al., 2004); Melanozyten, Langerhans-Zellen,

Merkel-Zellen und Lymphozyten kommen ebenfalls, jedoch in wesentlich geringerer Anzahl vor. Auch Nervenfasern sind vorhanden.

Die Epidermis ist gefäßlos, sie wird ausschließlich per Diffusion aus dem Papillarkörper der darunter liegenden gefäßreichen Lederhaut (Dermis) ernährt (Künzel, 1990; Liebich et al., 2004; Moll, 2005).

Epidermis und Lederhaut sind dreidimensional miteinander verbunden. Die Epidermiszellen werden an der Basis durch Zellteilung gebildet und an der Oberfläche des Stratum corneum als abgestorbene Hornschuppen abgestoßen. Sie ist somit ein klassisches Proliferationsgewebe, das einer ständigen Erneuerung unterliegt (Moll, 2005).

Histologisch sind innerhalb der Epidermis mehrere Schichten zu unterscheiden:

- 1) Stratum basale
- 2) Stratum spinosum
- 3) Stratum granulosum
- 4) Stratum corneum

Stratum basale und Stratum spinosum bilden zusammen das Stratum germinativum.

Auf ihrem Weg an die Oberfläche durchlaufen die Epidermiszellen mehrstufige, streng regulierte Differenzierungsprozesse der Keratinisierung und Verhornung: Basalzelle → Stachelzelle → Körnerzelle → Hornzelle (Fritsch, 2004; Bragulla et al., 2004), wobei ein vollständiger Generationswechsel je nach Tierart 20 bis 30 Tage dauert (Bragulla et al., 2004). Diese Vorgänge werden „terminale epidermale Differenzierung“ genannt (Moll, 2005). Horngewebe entsteht durch Keratinisierung und Verhornung von Zellen, die durch Zellteilung in der Basalschicht der Epidermis entstanden sind (Tomlinson et al., 2004).

2.2.1.1.1 Stratum basale

Das einschichtige Stratum basale, die unterste Schicht des Stratum germinativum, besteht aus kubischen Zellen – Basalzellen –, die durch Hemidesmosomen mit der Basalmembran verbunden sind. Hier erfolgen unter normal-physiologischen Bedingungen die Mitosen (Künzel, 1990; Kirk et al., 1993). Nach Moll (2005) finden an Palmae und Plantae sowie unter pathologischen Bedingungen Zellteilungen jedoch auch suprabasal statt.

Es gibt Hinweise dafür, dass die basalen Zellen heterogen sind: Ein Teil der Zellen erfüllt Proliferations- und Reparationsaufgaben, während ein anderer Teil vorrangig der Verankerung der Epidermis dient (Kirk et al., 1993).

Das Zytoplasma der Zellen des Stratum basale enthält dünne Filamente niedriger Dichte. Diese Filamente werden zu Fibrillen gebündelt. Die Filamente werden auch als Tonofilamente, die Fibrillen als Tonofibrillen bezeichnet (Parry und Steinert, 1995).

2.2.1.1.2 Stratum spinosum

Über dem Stratum basale befindet sich das vielschichtige Stratum spinosum. Die Schichtdicke des Stratum spinosum ist je nach Körperregion sehr unterschiedlich, in der Rinderklaue kann es bis zu 120 Zellschichten umfassen (Tomlinson et al., 2004). Die Zellen des Stratum spinosum sind untereinander durch Desmosomen – „stachelartige Interzellularbrücken“ – verbunden, weshalb sie auch Stachelzellen genannt werden. Im Stratum spinosum ändern die Keratinozyten Form und Gestalt: Sie werden größer, polygonal und flachen in den höheren Schichten zunehmend ab (Moll, 2005). Es kommt zu einer horizontalen Umorientierung der Zellachse (Mülling, 2000).

Im unteren Stratum spinosum findet eine Zunahme des Zytoplasmavolumens und der Zahl der Zellorganellen statt. Proteine, wie die filamentären und amorphen Zytokeratine, Filaggrine, Loricrin, Involucrin und Cornifin (Marks, 2004), aber auch Lipide, die für die keratinisierende Epidermis nötig sind, werden hier synthetisiert (Moll, 2005). Intrazelluläre Bündel von Zytokeratinfilamenten (Tonofilamenten) ziehen in die Zellfortsätze und inserieren in den Desmosomen. Funktionell nehmen sie so die Zugbelastung von der Nachbarzelle auf bzw. geben sie an diese weiter. Die permanente Zug- und Druckbelastung des Epithels bestimmt die Verlaufsrichtung und die Anzahl der Fibrillenbündel (Liebich et al., 2004).

In der untersten Schicht des Stratum spinosum erfolgt die massive Keratinsynthese. In den darüber liegenden Zellschichten findet die Zelldifferenzierung statt, gekennzeichnet durch die Bildung von Keratinproteinen, die sich nach und nach in den Zellen ansammeln (Tomlinson et al., 2004).

2.2.1.1.3 Stratum granulosum

Im ein- bis mehrschichtigen, zwischen Stratum spinosum und Stratum corneum gelegenen Stratum granulosum bilden sich durch weiter fortschreitende Differenzierung der Keratinozyten basophile Keratohyalingranula, weshalb die Zellen dieser Hautschicht auch Körnerzellen genannt werden (Habermehl, 1996). Diese sind lichtmikroskopisch erkennbare amorphe Partikel und bestehen im Wesentlichen aus Proteinen, ein wichtiges ist das histidinreiche Filaggrin,

welches die Keratine bündelt (Moll, 2005). Filaggrin ist ein charakteristischer Marker in verhornenden Plattenepithelien für die fortgeschrittene Differenzierung (McKinley-Grant et al., 1989; Dale et al., 1993). Das Stratum granulosum ist bei behaarter Haut (im Gegensatz zur Ballenepidermis) sehr dünn, häufig diskontinuierlich und besteht aus 1-2 Zellschichten (Lieblich et al., 2004). In dieser Schicht zeichnet sich eine beginnende Degeneration der Zellorganellen ab. Der Zellkern zerfällt in Fragmente, die Membransysteme dehydrieren und verdichten sich unter der Zellmembran. Die Keratinozyten flachen sich gegen die Hornschicht immer mehr ab (Habermehl, 1996).

2.2.1.1.4 Stratum corneum

Das Stratum corneum bildet die äußerste Zellschicht der Epidermis. Marks (2004) betont die enorme Wichtigkeit dieser Struktur: „It is the definitive boundary or frontier structure that sharply separates the body’s vulnerable organs and tissues from the variable and sometimes hazardous world outside“. Der programmierte Zelltod findet auf der Ebene der Verhornung statt, erkennbar an der plötzlichen abrupten Änderung der Zellen hinsichtlich Farbe und Gestalt. Das Stratum corneum wird somit aus toten Hornschichten verbunden durch PAS-positive Interzellulärsubstanz gebildet (Tomlinson et al., 2004). In den Stratum-corneum-Zellen ist der Zellkern verschwunden, ebenso fast alle Zellorganellen und Zytoplasmainhalte; sie sind ganz flach und fest gepackt (Moll, 2005). In den Zellen ist das Zytoplasma dicht gefüllt mit amorpher Matrix und Tonofilamenten. In der untersten Lage dieser Schicht (ausgeprägt an *Palmae* und *Plantae*) erscheinen diese Zellen optisch dichter (Moll, 2005). Durch Verflüssigung der Keratohyalinkörnchen zu Eleidin bildet sich eine leuchtende und transparent erscheinende Schicht, die Stratum lucidum genannt wird (Habermehl, 1996). Bragulla et al. (2004) bezeichnet es als einen Lichtbrechungsartefakt junger Hornzellen und weist darauf hin, dass es regelmäßig am Ballen und Nasenspiegel von Hund und Katze vorkommt.

Das Endstadium der epidermalen Differenzierung und der Aggregation der Keratin-Filamente ist erreicht, wenn sich die intermolekularen Verbindungen ausgebildet haben und der Keratinozyt stirbt (Tomlinson et al., 2004).

2.2.1.1.5 Epidermale Zellpopulationen

Keratinocyten

Keratinocyten sind epidermale Parenchymzellen. Das Keratin (wesentlicher Bestandteil des Stratum corneum) ist in Form von Tonofilamenten bzw. Keratinfilamenten bereits in den Basalzellen vorhanden und während der epidermalen Differenzierung biochemischen Veränderungen unterworfen.

Die Tonofilamente sind an den Desmosomen, den intrazellulären Haftplatten, verankert; diese setzen sich aus einem intra- und einem extrazellulären Anteil zusammen.

In den Basalzellen sind die üblichen Zellorganellen des Zytoplasmas (Mitochondrien, Golgi-Apparat, endoplasmatisches Retikulum, Ribosomen, Pinozytosevesikel und Lipidtropfen vorhanden (Moll, 2005). Oberhalb des Stratum basale wird die Zellteilung beendet; die Keratinocyten unterliegen der terminalen epidermalen Differenzierung.

Melanozyten

Melanozyten, aus der Neuralleiste in die Epidermis eingewandert (Wolff, 2005), in der Basalmembran, in der äußeren Wurzelscheide und im Bulbus des Haarfollikels lokalisiert, sind gekennzeichnet durch Melanosomen – charakteristische pigmentierte strukturlose Organellen, oder deren pigmentlose Vorstufen, die Prämelanosomen (Moll, 2005). Melanozyten synthetisieren und speichern Melanin und geben dieses an die Keratocyten ab (Moll, 2005).

Langerhans-Zellen

Langerhans-Zellen sind suprabasal lokalisierte dendritische Zellen myeloischer Genese, die unreif vom Knochenmark in die Haut einwandern, wo sie sich zu Langerhans-Zellen differenzieren. Ihre Funktion ist die Aktivierung von T-Helferzellen (Moll, 2005).

Merkel-Zellen

Merkel-Zellen wurden erstmals 1875 von F.S. Merkel beschrieben. Sie stellen Mechanorezeptoren in der Haut von Säugetieren dar. Sie kommen in Haut und Mucosa ektodermalen Ursprungs vor. Bei allen Vertebraten (abgesehen von den Vögeln) sind sie, einzeln oder in Gruppen, in der Basalmembran der Epidermis lokalisiert.

Sie bestehen aus großen, blassen Zellen und bilden synapsenähnliche Kontakte zu den erweiterten Enden myelinhaltiger Nervenfasern. Sie besitzen kurze Dendriten und sind mit benachbarten Keratinocyten durch Desmosomen verbunden. Typisch für die Merkel-Zellen sind neu-

rosekretorische Granula (Liebich et al., 2004; Moll, 2005). Die Herkunft der Merkel-Zellen ist in der Forschung lange Zeit kontrovers diskutiert worden. Neue Untersuchungen sprechen jedoch dafür, dass sie nicht epidermalen Ursprungs, sondern aus der Neuralleiste in die Epidermis eingewandert sind (Halata et al., 2003). Merkel-Zellen und terminale Nervenendigungen bilden Mechanorezeptoren. Mechanische Stimuli lösen den Einstrom von Ca-Ionen in die Merkel-Zellen aus, und über die Freisetzung von intrazellulären Ca-Vorräten wird die Exozytose von Neurotransmittern oder Neuromodulatoren bewirkt.

Jüngste Ergebnisse legen nahe, dass der Stoffaustausch zwischen Merkel-Zellen und terminalen Nervenendigungen für die Reaktion bzw. die Antwort dieser Rezeptoren bei länger anhaltender mechanischer Stimulierung der Haut entscheidend ist (Halata et al., 2003).

2.2.1.2 Lederhaut, Corium

Das Corium (auch: Dermis) ist mesodermalen Ursprungs (Wolff, 2005) und bildet, von der Basalmembran abgegrenzt, die bindegewebige Unterlage der Epidermis. Aus dieser Hautschicht wurde beim Gerben das Leder gewonnen, was ihrem Namen bis heute zu entnehmen ist. Das Corium bildet die ernährende Gewebeschicht für die Epidermis: es liefert die für die Produktion epidermaler Zellen notwendigen Nährstoffe und Hormone an das Stratum basale; hier werden auch die Differenzierungsprozesse innerhalb der Epidermis gesteuert (Tomlinson et al., 2004).

Das Corium setzt sich auch aus zwei Schichten zusammen: dem Stratum reticulare (Hauptschicht) und dem Stratum papillare.

Das Stratum reticulare schließt direkt an die Subcutis an. Es besteht vorwiegend aus Kollagen und Fibroblasten. Es enthält Nerven-, Blut- und Lymphgefäße sowie die sogenannten Adnexstrukturen (z.B. Haarfollikel, Talgdrüsen, apokrine und ekkrine Drüsen; Hengge, 2006). Die Kollagenfasern sind wesentlich für die mechanische Stabilität und Dehnbarkeit der Dermis verantwortlich. Sie werden routinemäßig mit Eosin gefärbt (Moll, 2005). Diese Kollagenfibrillen durchflechten sich, zu stärkeren Strängen zusammengelegt, nach allen Richtungen zu einem Netzwerk, das vornehmlich parallel zur Hautoberfläche ausgerichtet ist (Habermehl, 1996; Moll, 2005). Retikulinfasern umgeben die Hautanhangsgebilde sowie die Basalmembran.

Netze aus elastischen Fasern sind im gesamten Corium verbreitet. Sie sind für die Festigkeit und Elastizität des Corium verantwortlich (Moll, 2005) und besitzen entsprechend ihrer funk-

tionalen Beanspruchung zusammen mit den Kollagenfasern je nach Körperregion eine bestimmte Hauptrichtung.

Das Stratum papillare besteht aus locker gefügtem Bindegewebe. Es ist zell- und gefäßreich und mit der Epidermis über fingerförmige papillenartige Erhebungen verzahnt. Die Ausbildung des bindegewebigen Papillarkörpers dient durch Oberflächenvergrößerung und somit Erhöhung der Diffusionskapazität der Ernährung der gefäßlosen Epidermis (Habermehl, 1996; Bragulla et al., 2001; Bragulla und Hirschberg, 2003). Darüber hinaus wird so der dermal-epidermale Kontaktbereich erweitert, der auf die Epidermis einwirkende Kräfte weiterleitet (Bragulla et al., 2001). Nach Künzel (1990) sind die Kollagenfasern des Stratum reticulare vorwiegend vom Typ I, im Stratum papillare hingegen mehr vom feineren Typ III, während die kollagenen Fasern der Basalmembran zum Typ IV gehören.

2.2.1.3 Basalmembran

Die Basalmembran oder dermoepidermale Junktionszone (Moll, 2005) bildet die physikalisch-chemische Grenzschicht zwischen Epidermis und Corium.

Zu ihren Aufgaben zählen:

1. die Verankerung der Epidermis in der Lederhaut,
2. die Aufrechterhaltung von Funktion und Proliferation der Epidermis,
3. die Bewahrung der Gewebearchitektur,
4. die Wundheilung,
5. Barrierefunktion (Kirk et al., 1993).

Während sie in HE-Präparaten oft schlecht erkennbar ist, lässt sie sich gut mit PAS nachweisen. Die Basalmembran besteht aus zwei Hauptschichten: der Lamina basalis und der Lamina fibroreticularis.

Die Lamina basalis setzt sich aus der Lamina lucida und der Lamina densa zusammen. Die Lamina densa bildet über Verankerungsfibrillen und Mikrofibrillenbündel die Verbindung zur Dermis. Die Lamina lucida, mittels Verankerungsfilamenten mit der Plasmamembran der Basalzellen verbunden, auf der Hemidesmosomen haften, bildet die Verbindung zur Epidermis (Moll, 2005). An ihrem Aufbau beteiligen sich neben Kollagen Typ IV die für die Zellhaftung wichtigen Struktur-Glykoproteine Laminin und Fibronectin.

Die darunter liegende Lamina fibroreticularis wird von Fibroblasten gebildet und besteht aus Kollagenfasern vom Typ III (Retikulinfasern) und Grundsubstanz.

2.2.1.4 Unterhaut, Subcutis, Tela subcutanea

Die Subcutis befestigt die Haut auf ihrer Unterlage (Faszien oder Muskeln) und ermöglicht ihre Verschieblichkeit. Sie besteht aus unregelmäßigen Zügen kollagenen Bindegewebes und ist mit zahlreichen elastischen Fasern versehen (Habermehl, 1996). Sie ist reichlich vaskularisiert, besonders Venenpolster und Nervennetze kommen vor (Liebich et al., 2004). Zwischen den Septen aus kollagenem Bindegewebe liegen die aus Fettzellen bestehenden Fettläppchen (Steigleder, 1992). Dieses Fettgewebe dient als Energiespeicher, Kälteschutz und Schutz bei mechanischer Beanspruchung. Marquart-Elbaz et al. (2001) weisen auf die terminologische Unschärfe des Begriffes „Subcutis“ bzw. „subcutan“ hin, da diese Gewebeschicht sowohl histologisch-anatomisch als auch funktionell Bestandteil der Cutis ist.

2.2.2 Spezielle Histologie der Haut

2.2.2.1 Keratinisierung

Die Qualität der Keratinisierung ist abhängig von verschiedenen bioaktiven Molekülen und Hormonen. Für eine regelrechte Keratinisierung spielen Hormone, Vitamine, Mineralien und Spurenelemente daher eine wichtige Rolle (Tomlinson et al., 2004). Unzureichende Nahrungszufuhr führt zu einem minderwertigen Endprodukt der Keratinisierung, was u.a. Klauenschäden und in der Folge Lahmheit auslösen kann (Fraser und MacRae, 1980; Mülling et al., 1999). Umgekehrt kann eine erhöhte Nahrungszufuhr von Spurenelementen dazu beitragen, die Qualität der keratinisierten Gewebe zu verbessern (Ballantine et al., 2002).

Die Keratinisierung der Epidermis ist kein bloßer Degenerationsprozess, bei dem Keratin aus absterbenden Epithelzellen entsteht. Histologische, biochemische und molekularbiologische Untersuchungen haben vielmehr ergeben, dass es sich bei der Keratinisierung um einen hoch differenzierten Entwicklungsprozess handelt (Steinert et al., 1984; Dale et al., 1993; Franke und Kartenbeck, 1993; Parry und Steinert, 1995; Tomlinson et al., 2004). In diesem Prozess werden lebende, hoch-funktionale Epidermalzellen zu abgestorbenen, verhornten, strukturell stabilen Zellen ohne metabolische Aktivität mit ganz bestimmten chemischen und physikalischen Eigenschaften und Fähigkeiten transformiert (Mülling, 2000; Tomlinson et al., 2004). Keratinisierung bedeutet somit den kontinuierlichen und fortschreitenden Ersatz fast aller Zellinhalte durch Keratinproteine, deren mikromolekulare Anordnung zu Tonofilamenten und die anschließende Inkorporation in das Zytoskelett der Zelle durch „intermediate filament-

binding proteins“ (Budras et al., 1989; Grosenbaugh und Hood, 1992; Kempson und Logue, 1993).

Der Keratinisierungsprozess kann zusammengefasst werden in:

- a) Synthese, Aggregation und Stabilisation von Keratin-Protein und
- b) Synthese und Exozytose von Interzellularkitt, intercellular cementing substance, ICS (Tomlinson et al., 2004).

Die Keratinisierung wird im Stratum basale durch mitotische Teilung der Basalzellen vorbereitet. Alle distalen Schichten der Epidermis entstammen diesen Zellen durch einen Prozess der Proliferation und Differenzierung (Calhoun und Stinson, 1981). Die so entstandenen Tochterzellen durchlaufen zunächst eine Synthesephase im Stratum spinosum: Die Zellen wachsen an und füllen sich mit spezifischen Zellinhalten wie Keratinfilamenten, Membrane coating granules (MCGs) und Keratohyalin granula. Während der anschließenden Verhornung werden die Zellorganellen abgebaut, bis die Zelle ein „filamentös-amorpher Komplex“ wird (Mülling, 1993).

Keratin

Keratin (früher: Cytokeratin) ist eine aus Keratin-Filamenten oder amorphem Protein-Material (intermediate filament associated protein, IFAP) bestehende Substanz (Tomlinson et al., 2004). Es macht den größten Anteil der protektiven Matrix der Haut, des Haares, Horns, Schnabels und der Federn von Säugetieren und Geflügel aus (Fraser und MacRae, 1980). Bei Keratin handelt es sich nicht um eine einzelne Substanz, vielmehr setzt es sich aus einer komplexen Mischung von Proteinen zusammen. Die zahlreichen verschiedenen Strukturproteine werden jedoch einheitlich als Keratin-Proteine bezeichnet (Tomlinson et al., 2004).

Keratin wird intrazellulär gebildet; die für die Keratinsynthese verantwortlichen Zellen werden demzufolge Keratinozyten genannt (Dale et al., 1993).

In der untersten Schicht des Stratum spinosum findet die intensive Keratin-Synthese statt. Die Anwesenheit folgender Substanzen in keratinisierenden Zellen dient als positiver Indikator für eine intensive Zellaktivität: Ribonuklein- und Desoxyribonukleinsäure, Ascorbinsäure, freie Aldehydgruppen, alkalische Phosphatase, Lipide, Glykogen und Glutathion (Fraser und MacRae, 1980; Hendry et al., 1997). Während der Keratinsynthese nehmen die Fibrillen im Zytoplasma dramatisch zu; die Zellen werden dichter (Fraser et al., 1972).

In der Haut und den Hautendorganen bzw. -anhangsgebilden von Säugetieren finden sich ausnahmslos Alpha-Keratine. Bei Reptilien und Vögeln sind dagegen Beta-Keratine, die in den oberen Schichten des Stratum spinosum und im Stratum corneum synthetisiert werden,

für die harte Verhornung der Schuppen, Klauen, Schnäbel, Federn usw. verantwortlich (Alibardi et al., 2007).

Der erste Versuch einer Klassifizierung der Keratine geht auf Moll et al. (1982) zurück. Die basisch bis neutralen Keratine K1-K8 wurden als Typ II Keratine bezeichnet, die sauren K9-K19 Keratine als Typ I Keratine. Die Entdeckung neuer Keratine machte es bei dem Typ II notwendig, den Ziffern unterscheidende Buchstaben hinzuzufügen, da die Skala nach oben abgeschlossen war. Die „harten“ Alpha-Keratine wurden unter der Bezeichnung Ha (sauer, Typ I) oder Hb (basisch bis neutral, Typ II), gefolgt von einer Ziffer, in das Mollsche System eingefügt (wobei H für „hair“ stand; Rogers et al., 2000).

Ein 2004 gegründetes Keratin Nomenclature Committee erarbeitete ein neues einheitliches Nomenklatorsystem der 54 menschlichen Keratine und ihrer Gene.

Aus historischen Gründen und wegen der Vielzahl an Publikationen, die die Mollsche Klassifikation benutzen, wurde dessen klassische Einteilung der menschlichen Keratine der neuen einheitlichen Nomenklatur zugrunde gelegt. Die Typ I und II Keratine wurden in vier Kategorien unterteilt: 1) menschliche Epithelkeratine, 2) menschliche Haarkeratine, 3) nichtmenschliche Epithel- oder Haarkeratine anderer Säugetiere, 4) menschliche Keratin Pseudogene (Schweizer et al., 2006).

Keratohyalingranula

Während die Zellen zur Oberfläche geschoben werden, erscheinen basophile Körper im Zytoplasma, keratohyaline granules genannt (Fraser et al., 1972). Gegen Ende der Differenzierung sammeln sich dichte Keratohyalingranula zunehmend in den Zellen an, weshalb diese Zellschicht als Stratum granulosum bezeichnet wird. Elektronenmikroskopisch sind die Keratohyalingranula elektronendichte, unregelmäßig geformte Granula. Während der Verhornung verschwinden diese Keratohyalingranula. Sie verschmelzen mit den Keratinfilamenten zu einer homogenen Masse mittlerer Elektronendichte, die das Innere der Hornzellen ausfüllt (Tomlinson et al., 2004).

Interzellularkitt

Der Interzellularkitt, intercellular cementing substance, ICS verbindet die abgestorbenen Zellen bei der Verhornung. Synthese und Exozytose von ICS sind grundlegende Kennzeichen der Keratinisierung (Tomlinson et al., 2004).

Die Synthese des Interzellularkitts findet im unteren Drittel des Stratum spinosum statt; die Exozytose beginnt zwischen dem mittleren und oberen Drittel, und als Ergebnis wird im obe-

ren Drittel im histologischen Präparat das PAS-positive Interzellulärmaterial sichtbar (Budras et al., 1989; Leach, 1993; Mülling und Budras, 1998; Tomlinson et al., 2004). Die Sekretion dieser lipidreichen Matrix, die die reifen Keratinozyten miteinander verklebt, ist der Abschluss der Keratinisierung / Verhornung (Grosenbaugh und Hood, 1992; Mülling, 1998; Mülling et al., 1999).

Disulfidbrücken

Keratinfilamente sind schwefelreich; daher werden für die Keratinsynthese schwefelhaltige Aminosäuren wie Cystein, Histidin und Methionin benötigt (Mülling et al., 1999). Der histochemische Nachweis von Disulfidbrücken gelingt über den Nachweis vorhandener SH-Gruppen im Gewebe mittels DDD-Färbung.

Vorhandene Keratinfilamente werden durch Oxidation der SH-Gruppen zu Disulfidbrücken (SS-Gruppen) zu Tonofilamenten gebündelt (Bragulla, 1996; Mülling et al., 1999). Erste verhornte Zellen der Epidermis lassen sich histochemisch als SH/SS-positive Granula nachweisen.

Innerhalb des Stratum corneum nimmt der Anteil der SS-Gruppen weiter zu: Der Reifungsprozess ist oberhalb des Transitivbereiches noch nicht beendet – trotz fehlender Keratinfilamentsynthese (Mülling, 1993 zur Verhornung der Rinderklaue; Platt, 2004 zur Verhornung des Putenballens). Offensichtlich ist die Reifung erst bei Erreichen des äußersten Drittels des Stratum corneum vollendet, hier lassen sich histochemisch SH-Gruppen nicht mehr nachweisen.

2.2.2.2 Verhornung

Die Verhornung erfolgt nach Abschluss der Keratinisierung. Zytokeratinfilamente werden untereinander und mit den Filaggrinen über Disulfidbrücken chemisch stabil vernetzt. Es werden Proteine (Involucrin, Keratolinin etc.) synthetisiert, die sich an der zytoplasmaseitigen Oberfläche der Zellmembran anlagern und die Hornzellhülle (cornified envelope) bilden.

Gleichzeitig kommt es zur Nekrobiose der Keratinozyten. Die Zellorganellen degenerieren und der Zellkern zerfällt in Fragmente. Der Keratin-Matrix-Komplex verdichtet sich. Dieser Prozess schreitet innerhalb des Stratum corneum weiter voran. Daher lassen sich die Hornzellen der unteren und oberen Schichten in ihren histochemischen und mechanischen Eigenschaften unterscheiden. Besonders in der unbehaarten Haut reagieren die jungen Hornzellen

in der unteren Schicht azidophil und werden als Stratum lucidum bezeichnet (Liebich et al., 2004).

Während die Desmosomen im Stratum corneum zunehmend ihre Fähigkeit zum Zusammenhalt des Zellverbandes verlieren, übernimmt der Interzellularkitt der MCGs diese Aufgabe. Dieser enthält lipidhaltige Substanzen (z.B. Ceramide), wodurch die Epidermis ihre wasserundurchlässige Eigenschaft bekommt (Bragulla et al., 2004).

Nach Synthese- und Transformationsphase schließt sich in den verhornten Zellen eine Reifungsphase von der jungen zur alten („reifen“) Hornzelle an (Mülling, 1993).

Verhornungstypen

Man unterscheidet 2 Verhornungstypen, eine weiche und eine harte Verhornung. Während letztere typisch für die Zehenendorgane (Krallen, Klauen, Hufe) ist, kommt die weiche Verhornung charakteristisch in der Epidermis der Haut vor und läuft im Gegensatz zur harten unter Ausbildung eines Stratum granulosum ab (Bragulla und Hirschberg, 2003; Bragulla et al., 2004). Nach Bertram und Gosline (1987) ist die elastische Eigenschaft dieses Horns auf die große Menge an – von den Keratohyalin granula gelieferten – speziellen amorphen Keratinproteinen zurückzuführen.

Während an der Oberfläche des Stratum corneum der Haut eine enzymatische Lockerung des Interzellularkitts zum regelgerechten Abschilfern der Hornzellen führt, entfällt dieser Vorgang bei der harten Epidermis des Kron- und Sohlenhorns des Hufes. Hier besteht der Interzellularkitt im Wesentlichen aus Glykoproteinen, die dem Hornzellverband eine extreme Festigkeit verleihen. Diese werden nicht enzymatisch abgebaut, sodass das Horn seine Festigkeit behält und mechanisch abgetragen werden muss (Liebich et al., 2004).

Die Hornbildung wird über Vitamin A gesteuert. Ein Mangel dieses Vitamins zeigt sich durch übermäßige Hornbildung (Hyperkeratose).

Marginales Band

Verhornende Epidermiszellen beginnen im Stratum spinosum mit der Synthese von Granula, die keine Membranhülle besitzen. Sie haben eine gleichmäßige elektronendichte Struktur und werden von Nakano und Mitarbeitern (1987) und Stenn (1988) zur Unterscheidung von Keratohyalin granula als „dense homogeneous deposits“ bezeichnet.

Zum Abschluss der Differenzierung der Epidermiszellen am Übergang zur Verhornung wird auf das innere Blatt der Zellmembran ein elektronendichtes Marginales Band abgelagert (Od-

land und Reed, 1967; Hashimoto, 1969; Hashimoto, 1971b; Matoltsy, 1975; Budras et al., 1989; Seidel, 1992).

Die Dicke wird mit 10nm (Budras et al., 1989) bis 20nm (Elias und Friend, 1975) beziffert, Mülling (1993) spricht von einem besonders ausgeprägten Marginalen Band in den Zellen des weichen Horns.

In den Hornzellen geht das Marginale Band nahtlos in die innere Lage der Zellmembran über. Mit Ausreifung der Hornzellen wird es durch die wachsende Elektronendichte des Zelleibes maskiert (Farbmann, 1966; Hashimoto, 1971b). Lichtmikroskopisch ist das Marginale Band nur gemeinsam mit der Zellmembran als Bestandteil der Zellgrenze darstellbar. Es besteht aus cysteinreichen Proteinen, die in ein homogenes Material eingebettet sind (Matoltsy, 1975). Nakano et al. (1987) weisen dementsprechend einen hohen Gehalt an Disulfidbrücken nach. Farbmann (1966) erklärt die Entstehung des Marginalen Bandes während der Keratinisierung durch die enzymatische Vernetzung von Vorläuferproteinen. Keratinfilamente strahlen in das Marginale Band ein, wobei erstere als Endoskelett, letzteres als Ektokelett fungiert und sich so ein kontinuierliches Stützskelett der Hornzelle bildet. Somit ist dem Marginalen Band nach Elias und Friend (1975) und Matoltsy (1975) sowohl eine Schutzfunktion, denn es ist sehr widerstandsfähig gegen Proteasen, als auch eine Stützfunktion zuzusprechen.

Die histochemische Darstellung der Verhornung

Die von Liisberg 1968 zum ersten Mal dokumentierte Methode der Rhodamin B-Färbung zum spezifischen Nachweis von Keratinen wurde auch von Mülling (1993) und Karmann (2001) eingesetzt, um Keratine in verhornten Epidermiszellen nachzuweisen. Laut Mülling (1993) lassen sich hierdurch nicht nur verhornte von unverhornten Epidermiszellen unterscheiden. In seinen Untersuchungen zeigte sich, dass die Färbung mit Rhodamin B nur die Keratine in den vollständig verhornten Zellen zuverlässig erfasst. Somit können mit Hilfe der Rhodamin B-Färbung auch Synthesestörungen der Keratinproteine auf einfache Weise nachgewiesen werden. Während Mülling (1993) in seinen Untersuchungen an der Rinderklaue eine zunehmende Rhodamin B-Färbung von den Übergangszellen über die jungen bis hin zu den alten Hornzellen beschreibt, stellte Karmann (2001) in ihrer Arbeit über die peri- und postnatale Entwicklung der Epidermis des Katzenballens bei ihren Versuchen eine deutliche Anfärbung der Übergangszellen und der unteren Lagen des Stratum corneum fest, während sich die oberen Lagen desselben und das Stratum disjunctum chromophob verhielten. Sie führt dieses Phänomen auf die enge Vernetzung der Keratinfilamentbündel und der IFAPs zurück, weshalb keine Bindungsmöglichkeiten für das Rhodamin B mehr geboten werden.

Korte (1987) untersuchte die Entwicklung der Klaue des Schafes unter besonderer Berücksichtigung der Hornbildung. Saum-, Sohlen- und Ballensegment der Schafsklaue verhornen unter Ausbildung eines Stratum granulosum, hier handelt es sich somit um eine weiche Verhornung, während Kron- und Wandsegment der Schafsklaue eine weiche Verhornung zeigen. Zur histologischen Darstellung wurde bei dieser Untersuchung die Rhodaminfärbung nicht verwendet.

Bragulla (1996) setzte bei seiner Untersuchung zur fetalen Entwicklung des Pferdehufes ebenfalls die Rhodaminfärbung zur histochemischen Keratindarstellung ein. Vor Ausformung des segmentspezifischen Papillarkörpers zeigte das Stratum corneum der fetalen Hufepidermis keine Affinität zum Farbstoff Rhodamin. Erst im Laufe der fetalen Entwicklung und zum Teil auch erst postnatal stellt sich die Verhornung vom weichen zum harten Verhornungstyp um. In den Untersuchungen von Karmann (2001) stellten sich bei fetalen Katzen nur die weiter außen liegenden jungen Hornzellen mit dieser Färbemethode durch eine intrazelluläre, fleckige, helle Rosafärbung dar; alle anderen Zellen verhielten sich gegenüber Rhodamin chromophob.

Pang et al. (1993) wiesen mittels DACM-Färbung nach, dass im Bereich des Ösophagus K4 und K13 Keratine den Hauptanteil der Keratine ausmachen, die im fortgeschrittenen Stadium der Differenzierung durch Ausbildung von Disulfidbrücken K4/K13-Dimere und K13/K13-Monomere bilden.

Der Grad der Ausbildung an Disulfidbrücken zwischen verschiedenen Keratinen hängt stark von der Art und physikalischen Stabilität der oberflächlichen epithelialen Zellschicht ab. Somit enthalten einfache epitheliale Keratine keine oder wenig Cystein-Reste und sind im Allgemeinen nicht über Brücken verbunden.

Ösophagus-Keratine sind überwiegend durch Disulfidbrücken verbunden, indem sie Dimere bilden, was damit in Zusammenhang stehen könnte, dass hier eine relativ flexible Hornschicht ausgebildet wird. Epidermales Keratin bildet Polymere, was zur Ausbildung einer stabilen Struktur des Stratum corneum führt. Haar-Keratin enthält zahlreiche Cysteine und bildet über eine Vielzahl von Disulfidbrücken extrem starre und dauerhafte Haar-Fasern aus.

Insgesamt weisen die Untersuchungen von Pang et al. (1993) darauf hin, dass die intermolekulare Brückenbildung der Keratine ein gewebespezifisches Geschehen der terminalen Differenzierung ist, das zu unterschiedlicher physikalischer Stabilität der oberflächlichen Hornzellen führt.

Die DDD-Reaktion nach Barnett und Seligmann (1952) zum Nachweis von SH- bzw. SS-Gruppen wurde erstmals von Korte (1987), später von Mülling (1993), Karmann (2001) und

weiteren Autoren zur semiquantitativen Bestimmung des Keratingehaltes von Gewebeproben eingesetzt.

2.2.2.3 Zellkontakte der lebenden Hautzellen

Interzellularkontakte sind spezialisierte Kontaktbereiche zwischen benachbarten Zellen. Zellkontakte zwischen lebenden Epidermiszellen entstehen durch lokale Modifizierung der Zellmembranen. Sie sind für den Zusammenhalt des Zellverbandes zuständig (Kelly und Shienvold, 1976), haben darüber hinaus aber auch kommunikative Funktionen (Cohen et al., 1983). Interzelluläre Kommunikation ist für die Aufrechterhaltung der Gewebemöostase von entscheidender Bedeutung. Vielzellige Organismen können so Veränderungen der Umgebungsbedingungen wahrnehmen und entsprechend darauf reagieren (Meşe et al., 2007). Zellkontakte sind somit Grundlage für die Entwicklung eines vielzelligen Organismus (Stachelin, 1974). In der Epidermis kommen verschiedene Arten von Zellkontakten vor: Desmosomen (Maculae adherentes), gap junctions (Nexus) und tight junctions (Zonula occludentes) sowie adherens junctions (Zonula adherentes). Hemidesmosomen stellen eine Sonderform der Desmosomen dar, vom Aufbau her entsprechen sie einem halben Desmosom. Ihre Funktion ist die Verankerung der Basalzellen auf der Basalmembran (Wheater et al., 1987). Die Existenz dieser Zellkontakte in der Epidermis wurde in der Forschung lange kontrovers diskutiert. Inzwischen ist das Vorhandensein und die Barrierefunktion von tight junctions sowie Desmosomen auch im Stratum granulosum nicht länger umstritten (Schlüter et al., 2004).

Desmosomen

Desmosomen (Maculae adherentes) sind hochspezialisierte Zellkontakte, die intrazelluläre Keratinfilamente mit den interzellulären Haftstellen verbinden. Indem sie die auf die einzelne Zelle einwirkenden Kräfte von Zelle zu Zelle weiterleiten und auf das Gewebe als Ganzes übertragen, ermöglichen sie die Entstehung eines suprazellulären Stütz-Gerüsts, welches dem Gewebe mechanische Stabilität und Festigkeit verleiht. Diese Art von Verbindungen sind in Geweben, die vermehrter mechanischer Stressbelastung ausgesetzt sind, wie z.B. das Myocard und die Epidermis (Green et al., 2007), von entscheidender Bedeutung für die Gewebintegrität. Ihr besonderer Beitrag zur Aufrechterhaltung der Zell- und Gewebearchitektur wird bei Patienten mit Haut- oder Herzerkrankungen deutlich, denen eine Dysfunktion der Desmosomen (genetischer, autoimmunologischer oder bakteriotoxischer Genese) zu Grunde liegt (Cheng und Koch, 2004; Getsios et al., 2004).

Neuere Untersuchungen haben jedoch Hinweise dafür geliefert, dass Desmosomen weit mehr sind als bloße mechanische „Schweißnähte“, die Keratinfilamente an die Zellmembran anhaften. Sie scheinen vielmehr eine zentrale Rolle im Prozess der Differenzierung und Morphogenese mehrschichtiger Proliferationsgewebe zu spielen (Green et al., 2007).

Ein Desmosom besteht jeweils aus 2 Halbdesmosomen, knopf- oder diskusförmige Haftplatten (Kühnel, 2008), die sich spiegelbildlich zugewandt in den beiden benachbarten Zellen der zytoplasmatischen Oberfläche der Plasmamembran parallel anliegen (Stahlelin, 1974). In ihnen sind die Keratinfilamente des Zytoskeletts verankert (Brody, 1960; Overton, 1974; Matoltsy, 1975). Der Interzellularspalt zwischen den Haftplatten besitzt eine Weite von 22-35 nm, die Haftplatten selbst einen Durchmesser von 200-500 nm (Stahlelin, 1974).

Die Anzahl und Beschaffenheit der desmosomalen Verbindungen pro Zelle ändert sich in den Epidermisschichten (Petry et al., 1961). Im Laufe der epidermalen Differenzierung werden kleinere, geringer organisierte Desmosomen des Stratum basale durch größere, elektronenreichere Desmosomen suprabasal ersetzt (Green et al., 2007). Diese modifizierten Desmosomen der suprabasalen Hornschichten enthalten ein bestimmtes Glykoprotein. Am Übergang zum Stratum corneum kommt es dann zu degenerativen Veränderungen (Stahlelin, 1974). Im Endstadium der epidermalen Differenzierung löst sich der desmosomale Membrankomplex auf und dient als Substrat für den Aufbau des Interzellularkitts (Green et al., 2007). Nach Allen und Potten (1975) kommt es zum enzymatischen Abbau der Desmosomen durch Mitwirkung der MCGs. Laut Budras und Bragulla (1991) sind in der Epidermis des Pferdehufes die hydrolytischen Enzyme des Interzellularkitts an diesem Prozess beteiligt. Nach Mülling (1993) übernimmt dieser daraufhin die Adhäsionsfunktion der Desmosomen.

Hemidesmosomen gleichen in ihrem Aufbau einer Desmosomenhälfte ohne entsprechendes Gegenstück. Sie stellen die Verbindung der Basalzellen zur Basalmembran dar (Overton, 1974; Stahlelin, 1974).

Gap junctions

Gap junctions (GJ, auch als Nexus bezeichnet) spielen bei der interzellulären Kommunikation und der Aufrechterhaltung der Gewebekomöostase eine wichtige Rolle. Sie erlauben den Austausch von Ionen und niedermolekularen Proteinen zwischen so verbundenen Nachbarzellen. Im Bereich der Gap junctions ist der Interzellularraum auf 2-4 nm eingeeengt (Overton, 1974). Der interzelluläre Abschnitt von Gap junctions kann jedoch von Lanthansalzen durchdrungen werden (Mülling, 1993). Die modifizierte Zellmembran der benachbarten Zellen enthält in den Gap junctions globuläre Transmembranproteine (Connexone), die zusammen mit den

entsprechenden Proteinen der Nachbarzelle einen 2-3 nm weiten Tunnel bilden, der den Austausch niedermolekularer Stoffe ermöglicht (Overton, 1974; Staehelin, 1974; Guthrie und Gilula, 1989; Meşe et al., 2007). Gap junctions sind für viele physiologische Vorgänge entscheidend, vor allem hinsichtlich der Zellsynchronisation, Zelldifferenzierung und für das Zellwachstum. Auch für metabolische Koordinationsprozesse nicht-vaskularisierter Organsysteme einschließlich der Epidermis und der Linse spielen sie eine wichtige Rolle (White und Paul, 1999; Vinken et al., 2006). Insbesondere in der Epidermis kommt den Gap junctions eine zentrale Bedeutung beim Wachstum und der Differenzierung der Keratinozyten zu (Meşe et al., 2007). Die Zahl der Gap junctions reduziert sich ab dem mittleren Stratum spinosum; im Stratum corneum fehlen sie völlig (Elias et al., 1977; Elias, 1981). Laut Hashimoto (1971a) und Mülling (1993) werden sie nach der Exozytose des MCM abgebaut.

Anular gap junctions (AGJ) stellen eine Sonderform der GJ dar und sind häufig im Bereich der Spinosazellfortsätze anzutreffen (Leach und Oliphant, 1984). Sie entstehen durch Endozytose von GJ (Hayward und Kent, 1983) und stellen somit Einstülpungen von einer Zelle in die andere dar. AGJ sind nach Mülling (1993) bis in die oberen Lagen des Stratum spinosum ausgebildet.

Adherens junctions und Tight junctions

Adherens und Tight junctions sind Interzellularverbindungen, die wesentlich sind für die Epitheladhäsion und die Barriere-Funktion in vielen Geweben und Organsystemen (Niessen, 2007).

In Proliferationsgeweben wie z.B. der Epidermis wurde ihnen im Vergleich zu den Desmosomen und der Barriere-Funktion des Stratum corneum wenig Bedeutung zugemessen. Diese Sichtweise hat sich in den letzten Jahren geändert, denn verschiedene Studien haben die Wichtigkeit dieser Strukturen für die regelrechte Hautphysiologie und ihre Barriere-Funktion unterstrichen.

Im Bereich der Tight junctions ist der Interzellularspalt beinahe vollständig obliteriert: Zona occludens. Adherens junctions befinden sich unmittelbar unterhalb der Tight junctions und sind charakterisiert durch zwei gegenüberliegende Membranen mit einem Interzellularspalt von etwa 20 nm, die über 0,2 -0,5 µm parallel verlaufen. Tight junctions stellen eine semi-permeable Verbindung dar (Niessen, 2007). Sie sind entscheidend für die Initiierung und Aufrechterhaltung des interzellulären Zusammenhaltes (Irie et al., 2004; Gumbiner, 2005).

2.2.2.4 Zellkontakte abgestorbener Hautzellen

Membran coating granules (MCGs) und Membran coating material (MCM)

Membrane coating granules, Synonyme: epidermal lamellar bodies, Odland bodies (nach ihrem Erstbeschreiber), Cementosomen, Keratinosomen, MCGs (da sie von einer trilamellaren Membran umgeben sind), sind submikroskopisch kleine Zellorganellen (Matoltsy und Parakkal, 1967), die in den keratinisierenden Zellen des Stratum spinosum mehrschichtiger Plattenepithelien vorkommen (Odland und Reed, 1967; Bragulla et al., 1991).

Nach Hayward (1979) nimmt die Zahl an MCGs in Epithelien mit der Zellproliferationsrate zu. Die 0,2 – 0,5 µm großen Membrane coating granules werden im Golgi-Apparat synthetisiert und in der Zellperipherie in der Nähe des endoplasmatischen Retikulums gelagert (Matoltsy und Parrakal, 1967; Mülling, 1993). Diese sekretorischen Vesikel enthalten neben geordneten, lamellaren Lipiddoppelschichten alle für die Ausbildung einer intakten Hornschicht notwendigen Komponenten. Dazu gehören neben Lipiden (z.B. Ceramide, Fettsäuren, Sterol und deren Derivate) auch eine Vielzahl von Hydrolasen (z.B. Lipasen und Proteasen). In den obersten Lagen der Stachelzellen liegen die MCGs in der Nähe der Verhornungsgrenze unter der apikalen Zellmembran zwischen den Keratinfilamentbündeln, die die Haftplatten der Desmosomen tangieren (Matoltsy und Parakkal, 1967). In diesen Zellen fusioniert die Hüllmembran einzelner MCGs mit der Zellmembran der Stachelzellen (Hayward und Hackemann, 1973) und entlässt auf dem Weg der Exozytose ihren Inhalt in den Interzellularraum (Matoltsy und Parakkal, 1967). Der in den Interzellularraum ausgeschleuste Inhalt der MCGs bedeckt die Außenfläche der Zellmembran, weshalb obenstehende Autoren ihn als Membran coating material (MCM) bezeichnen.

Die Funktion des MCM

Das Membran coating material oder der Interzellularkitt, der in den Interzellularraum exozytiert wird und diesen vollständig ausfüllt (Anthauer et al., 2005), ergänzt oder ersetzt im Stratum corneum die Desmosomen, die die Epidermiszellen miteinander verbinden und erhöht dadurch den Zusammenhalt der Hornzellen (Budras et al., 1989; Anthauer, 1996). Hashimoto (1971a) bezeichnet die MCGs deshalb als Cementosomen. Ihr Inhalt, das MCM, verkittet nach Exozytose als interzelluläre Kittsubstanz die Hornzellen miteinander wie der Mörtel die Ziegelsteine (Brysk und Rajarman, 1992; Mülling et al., 1994); Budras und Bragulla (1991), sowie Mülling (1993) führten den Begriff des Interzellularkitts für den Inhalt der MCGs ein. Das MCM baut im IZR des Epithels eine semipermeable Barriere gegen eindringende Keime

und aggressive Chemikalien auf (Matoltsy und Parakkal, 1967, Landmann, 1980). Die im MCM enthaltenen Hydrolasen, hauptsächlich saure Phosphatase, initiieren den Umbau des MCM nach Exozytose, es kommt zum Verlust der Membranstrukturen (Freinkel und Traczyk, 1983; Grayson et al., 1985). Die Membranstapel verbinden sich zu breiten Lamellenblättern (Lavker, 1976; Landmann, 1980); die Lipidzusammensetzung verändert sich im Stratum corneum von polar zu apolar (Elias et al., 1979). Außerdem bewirken sie die Auflösung der Desmosomen im IZR und schließlich die Desquamation und Selbstzerstörung der Hornzellen (Hayward, 1979; Budras und Bragulla, 1991; Mülling, 1993).

Marks (2004) geht davon aus, dass Desmosomen weitgehend intakt als „Corneodesmosomen“ auch im Stratum corneum persistieren. Für die Desquamation macht er ein von Lungström und Egelrud (1988; 1990) beschriebenes hydrolytisches Enzym SCCE (stratum corneum chymotryptic enzyme) verantwortlich, dessen inaktives Pro-Enzym in den MCGs des Stratum granulosum synthetisiert wird (Watkinson et al., 2000).

Nach Marks (2004) überwiegen im Stratum corneum - anders als in den übrigen Schichten der Epidermis - apolare Lipide. Diese enthalten Ceramide (Ceramid 1-9), die im Stratum granulosum in den MCGs synthetisiert werden. Die MCGs geben ihren Inhalt in den untersten Schichten des Stratum corneum in den Interzellularraum ab, wo sie zusammenhängende Lamellen bilden, die hauptsächlich für die Ausbildung der Wasser-Barriere des Stratum corneum verantwortlich sind.

Struktur und Bestandteile der MCGs

Typisch ist eine laminäre Binnenstruktur (Hashimoto, 1971a; Elias und Friend, 1975; Elias, 1981) umgeben von einer dreischichtigen Hüllmembran. Andere Autoren sprechen von Membranscheiben (Hashimoto, 1971c; Hayward, 1979; Landmann, 1980).

Nachgewiesen werden in den MCGs hauptsächlich polare Glyko- und Phospholipide (Hayward, 1979; Elias, 1981). Diese Substanzen sind in der Lage, Lipid-Bilayer zu bilden, aus denen die Lamellenstapel in den MCGs bestehen (Hayward, 1978; Landmann, 1980; Elias, 1981; Landmann, 1986). Neben den Lamellenstapeln lässt sich eine weitere Substanz nachweisen, Landmann (1980) beschreibt sie als amorph, Hayward und Hackemann (1973) als feinflockig, Mülling (1993) als körnig; sie besteht aus Glykoproteinen. Aufgrund ihrer Osmiophilie lässt sie sich von den ebenfalls PAS-positiven Glykolipiden abgrenzen.

Hashimoto et al. (1992), Matoltsy (1975) und Overton (1974) beschreiben den Interzellularkitt als feinkörniges Material, das vorwiegend aus Glykoproteinen besteht und deshalb PAS positiv reagiert.

Pellmann und Mitarbeiter (1993) stellten segmentspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des Interzellularkitts an der Hufepidermis des Pferdes fest.

Dieser reagierte im Kronsegment, bei hartem Verhornungstyp (Korte, 1987; Bollinger, 1991), deutlich PAS-positiv und zeigt dort nur eine schwache Affinität zum Fettfarbstoff Sudan-schwarz, wohingegen der Interzellularkitt im Ballensegment, bei weicher Verhornung (Bollinger, 1991), eine hohe Affinität zu Fettfarbstoffen aufweist und durch die PAS-Reaktion nur schwach angefärbt wird.

Giroud und Leblond (1951) zufolge treten bei der weichen Verhornung auch Fette in den Zellen des Stratum spinosum und Stratum corneum auf, die mit Sudanfarbstoffen nachgewiesen werden können.

Nach Frohnes (1999) fungieren intrazelluläre Lipidtröpfchen als elastizitätsgebende Faktoren. Karmann (2001) stellte im Stratum corneum des Ballens eine mit dem Alter der Tiere zunehmende deutliche Anfärbung des IZK mit Sudanschwarz B fest, während die PAS-Reaktion bei adulten Tieren negativ ausfiel.

Die PAS-Reaktion und die Sudanschwarzfärbung stellen nach Budras und Bragulla (1991; Hayward und Hackeman, 1973; Hayward, 1979; Landmann, 1980; Mülling, 1993) geeignete histochemische Methoden dar, um grundlegende Informationen über die Zusammensetzung des MCM zu erhalten. Nach Mülling (1993) besteht die Bedeutung des Glykoproteinanteils primär im Zusammenhalt der Hornzellen, die des der Lipidanteils in der Barrierefunktion.

Des Weiteren kommt dem Interzellularkitt eine enzymatische Funktion zu (Mülling, 1993). Als Leitenzym wird nach Grayson et al. (1985) und Hayward (1979) die saure Phosphatase angesehen. Ein Teil dieser Enzyme wird schon intrazellulär freigesetzt (Hayward, 1979; Grayson et al., 1985; Mülling, 1993). Diese Enzyme sind nach vorgenannten Autoren intrazellulär für den Abbau der Zellorganellen verantwortlich.

Nach Mülling (1993) setzt dieser Abbau kurz nach Exozytose des MCM ein, in Bereichen mit hoher Hornbildungsrate jedoch später als in solchen mit niedriger. Er erklärt hiermit das Phänomen, dass in Hornzellen mit hoher Keratinisierungsleistung noch Organellenreste und Kernreste erhalten sind.

Die in den IZR ausgeschleusten Enzyme werden in der Haut und im Zehenendorgan für den Abbau der Desmosomen verantwortlich gemacht (Allen und Potten, 1975; Hayward, 1979; Budras und Bragulla, 1991; Seidel, 1992). Hiergegen geht Elias (1981) davon aus, dass die Desmosomen im Stratum corneum der Haut persistieren, jedoch eine andere Struktur aufweisen. Mülling (1993) nimmt an, dass der Interzellularkitt die Aufgabe als Haftstruktur von den

Desmosomen im Stratum corneum zwar übernimmt, jedoch unter Beteiligung der desmosomalen Bestandteile.

Das MCM ist für die strukturelle Integrität und die biochemischen Eigenschaften des Huf-Horns von entscheidender Bedeutung. Die physiologische Struktur und Zusammensetzung des MCM liefert Erklärungen für zahlreiche klinisch bekannte Prädispositionsstellen von Huf-erkrankungen (Anthauer et al., 2005).

2.2.2.5 Epidermopoese und Keratogenese

Proliferation, Differenzierung und Keratinisation verlaufen nach einem genau festgelegten Muster. Die Steuerung dieses Vorgangs wird von einer Vielzahl von Faktoren kontrolliert. Ziel ist ein Gleichgewicht zwischen mitotischer Teilung der Basalzellen und dem Abschilfern von Hornzellen (Matoltsy und Parakkal, 1967). Zu den intrinsischen Faktoren zählt das Corium, welches für die Versorgung der Epidermis zuständig ist. Der epidermale Wachstumsfaktor, das epidermale Chalon, Epibolin, Calmodulin, Interferone, saure Hydrolasen, Zylo-AMP, Arachidonsäuremetaboliten, Adrenalin und Kortisol sowie eine Vielzahl weiterer Hormone und Enzyme steuern die Produktion des Enzyms Ornithindecaboxylase, welches für die Synthese der biogenen Amine Putreszin, Spermidin und Spermin benötigt wird, die wiederum die Proliferation der Epidermis fördern (Kirk et al., 1993).

Auch zahlreiche Ernährungsfaktoren spielen eine wichtige Rolle für die geordnete Entwicklung der Epidermis, neben Proteinen und Fettsäuren sind dies Zink, Kupfer, Vitamin A und B-Vitamine (Kirk et al., 1993).

2.2.2.6 Hautmodifikationen

Um besonderen Aufgaben gerecht zu werden, haben sich an verschiedenen Stellen des Körpers aus dem Integumentum commune diverse Spezialgebilde entwickelt (Bragulla et al. 2004), wie z.B. die unbehaarten Ballen (Tori). Dort ist die Unterhaut zu einem mächtigen Polster entwickelt, um die bei der Fußung auftretenden Kräfte abzufangen. Ihre Fettzellen sind inkompressibel und kammerartig von elastischen Bindegewebssepten umgeben, vergleichbar den Gelkissen in Laufschuhen (Bragulla et al., 2004).

Besonders viele „Sonderbildungen“ haben sich aus der Epidermis entwickelt. Künzel (1990) unterscheidet in diesem Zusammenhang zwischen spezialisierter und nicht spezialisierter Epidermis. Als nicht spezialisierte Epidermis bezeichnet er das Epithel der Haut, während er un-

ter spezialisierter Epidermis Sondereinrichtungen wie Haare, Drüsen und Hornorgane versteht.

Um besonders hohen mechanischen Belastungen standzuhalten, haben sich während der Phylognese aufgrund von Adaptationsprozessen an den Enden der Gliedmaßen unterschiedliche Formen der Zehenendorgane (*Organum digitale*) – Krallen, Klaue, Huf und Nagel – aus der Epidermis entwickelt (Hamrick, 2001; Süsskind-Schwendi, 2005).

Aus demselben Grund sind die einzelnen Hautschichten an den verschiedenen Körperregionen, entsprechend ihrer mechanischen Belastung, unterschiedlich stark entwickelt (Habermehl, 1996).

Während die bisher beschriebenen unterschiedlichen Ausprägungen der Haut genetisch festgelegt sind und unabhängig von äußeren Einflüssen entstehen, besitzt die Haut aber auch die Fähigkeit, sich an unterschiedliche Belastungen anzupassen (Habermehl, 1996).

2.2.2.7 Reaktion der Haut auf Druckbelastungen

Dicke und Verhornungsgrad der Epidermis ist von der jeweiligen mechanischen Belastung abhängig. In der Regel besitzen behaarte Hautpartien eine dünnere Epidermis mit geringgradigerer Verhornung als unbehaarte Hautstellen (Habermehl, 1996).

Laut Bragulla et al. (2004) bewirkt Nährstoffmangel oder ein erhöhter Nährstoffbedarf der Epidermis eine verstärkte Ausformung des Papillarkörpers.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Hirschberg et al. (2001) und Hirschberg und Plendl (2005) haben Auswirkungen des Körpergewichtes (oder Alters) der Kuh und der Gewichtsbelastung auf die Ausformung der Vaskularisation des Papillarkörpers der Rinderklaue nachgewiesen. Da die hornproduzierenden Epidermiszellen von der Versorgung durch das darunter liegende pododermale Gefäßsystem abhängig sind, spielt dieses für die Klauengesundheit eine entscheidende Rolle. Ausrichtung, Form, Länge und Dichte der Papillen und ihre Angioarchitektur hängen von den auf sie wirkenden mechanischen Kräften ab. In den Klauenarealen, die hauptsächlich mechanischer Belastung ausgesetzt sind, verliefen die Papillen gewunden und waren ineinander verschlungen. In diesen Bereichen fand sich auch in den tieferen Hautschichten ein dichtes Gefäßkonvolut (Hirschberg et al., 2001).

Bei starker Druckbelastung der Haut, z.B. Liegen auf harten Böden, kommt es insbesondere über Knochen- und Gelenkvorsprüngen zu einer Epidermisverdickung (Kirk et al., 1993).

Dieser sogenannte Kallus (Liegeschwiele) ist eine Schutzreaktion der Haut auf eine druckbedingte Ischämie und Entzündung und stellt eine extreme Epidermisproliferation dar. Histologisch zeigt sich eine Epidermishyperplasie und -hyperkeratose. Unter Hyperkeratose ist eine Verdickung des Stratum corneum zu verstehen. Von orthokeratotischer Hyperplasie spricht man, wenn eine Verdickung des kernlosen Stratum corneum vorliegt. Weisen die Korneozyten jedoch noch Zellkerne auf, so wird dies als parakeratotische Hyperplasie bezeichnet (Moll, 2005; Wolff, 2005).

Das Vorkommen kernhaltiger Zellen im Stratum corneum wird jedoch nicht einstimmig als pathologisch eingeschätzt. Korte (1987) hält das Auftreten von Kernresten in der inneren Zone des Kronhornes beim Schaf und beim Pferd für wahrscheinlich physiologisch und vermutet einen sehr raschen Verhornungsprozess als Ursache.

Die Epidermishyperplasie bedeutet eine Verdickung der unverhornten Epidermiszellschichten aufgrund einer erhöhten Zahl an epidermalen Zellen und ist oft mit der Bildung von Reteleisten verbunden. Letzteres sind Epidermiszapfen, die in das darunter liegende Corium vorspringen.

Untersuchungen von Swensson et al. (1998) an normaler Haut menschlicher Hand- und Fußsohlen ergab ein im Vergleich zu anderen Hautpartien komplexeres Keratin-Muster. Dieses wurde von den Autoren auf die größeren Belastungen, denen diese Hautareale ausgesetzt sind, zurückgeführt. Zusätzlich zu Keratin K9 wurden spezifische Verteilungsmuster der Keratine K6, K16 und K17 gefunden, die für regionale Adaptationen an eine höhere Turn-over-Rate dieser Hautbezirke sprechen.

Die Anhäufung von K17 Zellen in den tieferen Hautschichten der Epidermis unterstützt die Annahme, dass die Basalzellen funktional heterogen sind und dass es sich bei den K17 positiven Regionen möglicherweise um Stammzellen der Proliferierung handelt.

Der Nachweis von K6 und K16 Keratinozyten auch in basalen, aber überwiegend suprabasal lokalisierten Keratinozyten ist mit der Annahme einer erhöhten Proliferationsaktivität in diesem Bereich vereinbar, kann aber auch Ausdruck anderer physikalischer Eigenschaften dieser Zellen sein (Swensson et al., 1998).

Auch Coulombe et al. (2004) wiesen auf die besondere Bedeutung der Keratine K6, K16 und K17 und deren Aktivierung bei der Wundheilung sowie bei bestimmten Hauterkrankungen hin.

Cruickshank (2006) dokumentierte mikroanatomische Hautveränderungen nach artifiziellen Traumata, die aber für Hautreaktionen auf chronische Belastungen wenig aussagekräftig sind. Görmar et al. (1990) führten in-vitro Untersuchungen an Keratinozyten-Kulturen durch, die sie mechanischer Stimulation durch Druckbelastung aussetzten. Infolge dieser Behandlung wuchsen die zuvor einschichtigen Keratinozytenkulturen zu mehrschichtigen Zelllagen an, die Verhornungsrate nahm zu, die Zellen erschienen im Vergleich zu den unbehandelten Kulturen abgeflachter. Während in den unbehandelten Zellkulturen nur wenige Desmosomen nachweisbar waren, fielen in den mechanisch stimulierten Kulturen zahlreiche Desmosomen und regelrecht angeordnete Tonofilamente auf. Nach 4 Tagen zeigte sich ein verändertes Keratinmuster: Die Gesamtmenge des Keratins hatte zwar zugenommen, die Proliferationsrate der Zellen nahm jedoch ab. Das Muster der Keratinozyten war nicht länger filiform, sondern granulär und fleckförmig als Hinweis auf Entwicklung der Zellen in Richtung terminaler Differenzierung.

Die Ergebnisse zeigen, dass wiederkehrende Druckbelastung die Proliferation epidermaler Zellen fördert. Das Ausmaß der Schichtdicke, die Anzahl der Zellkontakte sowie der Hornschichten können als Marker der Differenzierung betrachtet werden.

Die Epidermis reagiert somit auf mechanische Stress-Exposition mit einer erhöhten Zellproliferationsrate (Görmar et al., 1990). Mechanisch beanspruchte Körperregionen entwickeln zunächst eine dickere Haut durch Zunahme der Zellschichten des Stratum spinosum und granulosum. Bei anhaltender mechanischer Stressbelastung tritt eine vermehrte Hornbildung auf, es entwickelt sich eine Hyperkeratose.

Obwohl der Forschung einiges über die Leitungsbahnen der mechanischen Signalverarbeitung und –übermittlung (an der Integrine, epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptoren und mitogenaktivierte Proteinkinase beteiligt sind) bekannt ist, ist es doch noch unklar, wie genau mechanische Kräfte wahrgenommen und in molekulare Signale transformiert werden, die die Zellproliferation induzieren (Reichelt, 2007).

Vermutlich sind es mehrere Signalkaskaden, die die Proliferation der Keratinozyten aktivieren wie z.B. die extrazelluläre Matrix, Wachstumsfaktorrezeptoren in der Zellmembran, Proteinkinase, mechano-sensible Ionenkanäle und das Zytoskelett. Der komplette Weg der Konversion eines mechanischen Stimulus in ein biologisches Signal ist jedoch noch nicht bekannt. Es ist denkbar, dass mechanische Signale über das Zytoskelett direkt auf den Zellkern einwirken (Reichelt, 2007). Reichelt verwendet für diesen Vorgang den Begriff „Mechanotransduktion“

und meint damit einen Mechanismus, bei dem physikalische Kräfte in eine biomolekulare Antwort überführt werden.

Obwohl epidermale Keratinozyten ständig mechanischen Kräften ausgesetzt sind, ist über die Auswirkungen, die mechanische Stimuli auf die Haut, insbesondere auf die Epidermis, ausüben, erstaunlich wenig bekannt. Operationswunden in der Haut führten bei gesunden Hunden (wie auch beim Menschen, Yano et al., 2004) zu einer starken Erhöhung der epidermalen Mitoserate (Kirk et al., 1993). Um den Reaktionsablauf der epidermalen Hyperproliferation bei mechanischer Belastung zu untersuchen, führten Yano et al. (2004) *in vitro* Dehnungsversuche an Keratinozyten auf flexiblen Silikonplatten durch. Sie dehnten die Zellen um 20% für 24h. Die Ergebnisse zeigten, dass mechanische Dehnung Proliferationssignale an menschliche Keratinozyten übermittelt, via Calcium-Einstrom, Phosphorylierung des EGFR (epidermal growth factor receptor) und ERK (extracellular signal-regulated kinase) 1/2. Keratin K6 ist ein Marker für aktivierte Keratinozyten und wird bei Psoriasis oder Karzinomen gefunden, kommt in gesunder menschlicher interfollikulärer Epidermis jedoch normalerweise kaum vor. Mechanische Dehnung der Keratinozyten über 24h führte jedoch zu einer Zunahme von K6, wohingegen überraschenderweise K10 – ein Marker für differenzierte Keratinozyten – stark rückläufig war. Mechanische Kräfte sind somit in der Lage, das Keratin-Muster der Keratinozyten und somit die Konstituenten der Intermediärfilamente zu ändern (Yano et al., 2004).

Ebenfalls durch Druckbelastung können in der Subkutis, wo die Haut über Knochen und Gelenkvorsprünge hinwegzieht, als Sonderbildung so genannte Hygrome (auch Hautschleimbeutel oder Bursae synovialis subcutaneae) entstehen. Diese zottenbesetzten vielbuchtigen Hohlräume entwickeln sich erst postnatal und nehmen mit dem Alter zu. Sie werden als pathologische Gebilde aufgefasst. Ihre Entstehung muss auf mechanische Einwirkung (Druck) zurückgeführt werden (Habermehl, 1996). Kirk et al. (1993) sieht ihre Entstehung als Folge wiederholter traumatisch bedingter Nekrosen und Entzündungen. Durch Sekundärinfektion können sie sich zu Abszessen weiterentwickeln. Die innere Lage besteht aus einer abgeplatteten Schicht von Fibroblasten (Kirk et al., 1993).

3 Material und Methoden

3.1 Haltungsveruch des FLI in Celle

Der vorliegenden Arbeit ging eine Untersuchung des FLI (Friedrich-Löffler-Institut, Institut für Tierschutz und Tierhaltung in Celle, zum Versuchszeitpunkt FAL, Forschungsanstalt für Landwirtschaft) zur Haltung von Mastbullen auf verschiedenen Bodenbelägen voraus. Die Tiere wurden in 4 Durchgängen auf Vollspaltenboden wahlweise mit Beton- oder Gummioberfläche gehalten; gleichzeitig wurde das zur Verfügung stehende Flächenangebot variiert. Während die Tiere auf Betonspalten in Buchten mit 2,5 und 3,0 m²/Tier standen, waren die Tiere auf Gummispalten alternativ auch in größeren Buchten untergebracht. Im 4. Durchgang wurden außerdem noch 6 Tiere auf Stroheinstreu aufgestellt (Reservetiere).

Verteilung der Versuchstiere							
Boden- beschaffenheit	m ² /Tier						
	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	>6
Betonspalten	13 Tiere	19 Tiere					
Gummispalten	20 Tiere	20 Tiere	20 Tiere	20 Tiere	20 Tiere	20 Tiere	
Stroheinstreu							6 Tiere

Tab. 1: Anzahl der Tiere, die den Versuchsdurchlauf beendet haben, für die jeweiligen Buchtentypen

Hautproben der Tiere in den grau unterlegten Feldern kamen zur histologischen Auswertung.

Die Versuchstiere wurden als Kälber, vor Versuchsbeginn, während der ersten 4 Lebensmonate auf Tiefstreu und die folgenden 2 Monate auf Gummispaltenboden mit 1,8 m²/Tier gehalten. Im Alter von ca. 6 Monaten erfolgte die Umstellung in die Versuchsgruppen mit jeweils 7 Tieren/Bucht. Die Fütterung bestand aus Grassilage, Maissilage und Kraftfutter. Bei Mastende waren die Tiere 17-18 Monate alt und hatten eine Körpermasse von ca. 650 kg.

3.1.1 Untersuchungsparameter

Über die gesamte Versuchsphase hinweg wurden die Tiere mehrfach untersucht. Die letzte Untersuchung erfolgte unmittelbar vor der Schlachtung.

Folgende Parameter wurden bewertet:

- Aufsteh- und Liegeverhalten
- Verschmutzung der Tiere
- Mastleistung
- Klauengesundheit
- Stressphysiologie
- Veränderungen an der Haut

3.1.2 Aufsteh- und Liegeverhalten

Hier wurde während der Gewichtsabschnitte 450 und 600 kg eine jeweils 3 x 24 h-Video-beobachtung durchgeführt. Folgende erfasste Verhaltensparameter kamen in der vorliegenden Arbeit zu Auswertung:

a. Liegedauer, Liegeperioden

Eine insgesamt kurze Liegedauer ist als negatives Kriterium zu bewerten, das auf eine unbequeme Liegefläche hindeutet. Wenige und lange Liegeperioden hingegen sind ebenfalls als negativ zu bewerten, da sie ein Hinweis dafür sind, dass den Tieren das Aufstehen Schmerzen bereitet und sie deshalb diesen Vorgang hinauszögern.

b. Kurze Stehphasen

Kurze Stehphasen werden als positives Kriterium gewertet. Die Tiere nutzen sie, um eine neue und bequemere Liegeposition einzunehmen, den Panseninhalt umzulagern und den Ructus zu erleichtern. Die Tiere zeigen dieses Verhalten jedoch nur, wenn ihnen das Aufstehen keine Schmerzen bereitet.

c. Qualitative Bewertung Aufstehen und Abliegen

Sowohl beim arttypischen Aufstehen als auch beim arttypischen Abliegen stützt das Rind die Hauptlast seines Körpers auf die Karpalgelenke, auf jene Stelle, von der die Hautproben für

diese Arbeit genommen wurden. Bereitet dieser Vorgang dem Tier Unbehagen oder gar Schmerzen, so wechselt es zu einem nicht-arttypischen Aufstehen, bei der die Belastung des Karpalgelenks vermieden wird. Man spricht dann von einem nicht-arttypischen „pferdeartigen“ Aufstehen. Auch das Abliegen kann in analoger Form durchgeführt werden.

Ein weiteres Kriterium für den artgemäßen Aufstehvorgang ist ein flüssiger Bewegungsablauf, bei dem das Tier die Schwungmasse seines Körpers einsetzt, um den Kraftaufwand zu reduzieren und Muskulatur und Gelenke zu schonen (Zerbe et al., 2008).

In vorliegender Arbeit wurden die von der FLI erhobenen Werte zu den Punkten a bis c für den Gewichtsabschnitt 600 kg, welcher zeitnah zum Schlachten liegt, ausgewertet, da sie in direktem Zusammenhang mit der Belastung der Haut an den Karpalgelenken zu sehen sind. Diese Untersuchung wurde nur an den Spaltenboden-Gruppen durchgeführt.

3.1.3 Veränderungen an der Haut

Ab Einstallen wurden die Tiere durch das FLI alle 8 Wochen auf Veränderungen oder Schäden am Integument untersucht. Die untersuchten Regionen/Zonen waren:

- dorsales Karpalgelenk
- Tarsalgelenk lateral
- Tarsalhöcker
- Schwanzspitze

Die Untersuchung wurde nach folgendem Schlüssel durchgeführt:

<u>Schlüssel</u>	<u>Bezeichnung</u>
21	Haarlos < 2 cm Durchmesser
22	Haarlos 2-5 cm Durchmesser
23	Haarlos > 5 cm Durchmesser
31	Kruste* < 2 cm Durchmesser
32	Kruste 2-5 cm Durchmesser
33	Kruste > 5 cm Durchmesser
41	offene Wunde < 2 cm Durchmesser
42	offene Wunde 2-5 cm Durchmesser
43	offene Wunde > 5 cm Durchmesser
50	leichte "weiche" Schwellung
51	deutlich sichtbare "weiche" Schwellung
52	"dickes Bein" Weich = "Knieschwamm"
60	leichte "harte - bindegewebige" Schwellung
61	deutlich sichtbare "harte bis bindegewebige" Schwellung
62	"dickes Bein" "harte - bindegewebige" Schwellung
81	nasse Kruste < 2 cm Durchmesser
82	nasse Kruste 2-5 cm Durchmesser
83	nasse Kruste > 5 cm Durchmesser
99	dreckverkrustetes Karpalgelenk, nicht auswertbar

Tab. 2: Bewertungsschlüssel der FLI Zelle für die Untersuchung der Karpalgelenke

** Unter Krusten werden haarlose Hautflächen verstanden, die durch Verhärtungen abgedeckt sind. Dies können Zubildungen (z.B. Granulationen) sein, aber auch eine aus Sekret und Schmutz zusammengesetzte feste "Patina".*

Von diesen Untersuchungen des FLI wurden die Ergebnisse des letzten Untersuchungsgangs, der unmittelbar vor der Schlachtung lag, für die Haut dorsal am Karpalgelenk im Rahmen der vorliegenden Arbeit ausgewertet und mit den histologischen Ergebnissen verglichen.

Eine Ausnahme bildet die Strohgruppe. Beim letzten Untersuchungsgang waren die Karpalgelenke dieser Tiere so stark verschmutzt, dass eine makroskopische Beurteilung des Integu-

ments in diesem Bereich nicht möglich war. Deshalb wurden für diese Tiergruppe die Untersuchungsergebnisse der vorletzten Untersuchung (etwa einen Monat vor Schlachtung) gesondert betrachtet.

3.2 Eigene Untersuchungen

Um den Einfluss der verschiedenen Bodenbeläge und der daraus resultierenden unterschiedlichen Belastungen auf die Haut zu prüfen und gleichzeitig die Korrelation zwischen den makroskopischen Veränderungen und dem mikroskopischen Befund zu untersuchen, wurden in der vorliegenden Arbeit Hautproben der Versuchstiere einer histologischen Untersuchung unterzogen.

3.2.1 Material

Von allen geschlachteten Tieren wurde dorsal an den Karpalgelenken, an jener Stelle, die der Hauptbelastung beim Liegen und Aufstehen ausgesetzt ist, eine Hautprobe genommen. Es wurde darauf geachtet, dass Hautveränderungen, welche bei der Lebenduntersuchung festgestellt wurden, in den Proben enthalten waren.

Die Fläche der Proben betrug ca. 2 x 2 cm, in der Tiefe erfolgte die Trennung vom Tierkörper wie beim normalen Enthäuten in der Subkutis.



Abb. 1: Entnahmestelle der Hautproben am dorsalen Karpalgelenk

Für die histologische Auswertung wurden die Hautproben des dorsalen Karpus in 4 Gruppen eingeteilt. Um als Vergleich eine Hautstelle zu untersuchen, die keiner Druckbelastung beim Liegen und Aufstehen ausgesetzt ist, wurden zusätzlich von den auf Stroh gehaltenen Tieren an den Karpalgelenken lateral Hautproben genommen.

Bezeichnung der Gruppe	Abkürzung	Entnahmestelle der Hautprobe	Bodenbeschaffenheit	m ² /Tier	Anzahl ausgewerteter Tiere
Beton-Gruppe	Beton	dorsaler Karpus	Beton	2,5 – 3	32
Gruppe G1	G1	dorsaler Karpus	Gummi	2,5 – 3	39
Gruppe G2	G2	dorsaler Karpus	Gummi	4,5 – 5	39
Stroh-Gruppe	Stroh	dorsaler Karpus	Stroh	> 6	6
Laterale Kontrolle	Lateral	lateraler Karpus	Stroh	> 6	6

Tab. 3: Einteilung der Hautproben in 4 verschiedene Auswertungsgruppen entsprechend ihrer Haltingsbedingungen (Bodenbeschaffenheit und Fläche/Tier) und eine Kontrollgruppe, bestehend aus den lateral entnommenen Hautproben

Die Proben wurden nach der Trennung vom Tierkörper in 10%igem Formalin bis zur Weiterverarbeitung konserviert.

3.2.2 Methoden

3.2.2.1 Gruppenbildungen

Durch oben beschriebene Gruppeneinteilung wurden folgende Vergleiche möglich:

1. Vergleich Betonspalten ↔ Gummispalten bei gleichem Flächenangebot (2,5-3 m²);
2. Vergleich unterschiedliches Flächenangebot
(Gummispalten 2,5-3 m² ↔ Gummispalten 4,5-5 m²);
3. Vergleich mit Stroheinstreu (Stroh ↔ Beton-/Gummispalten);
4. Vergleich Haut ohne Druckbelastung und Abrieb, lateral am Karpalgelenk, mit den Hautproben der belasteten Stellen.

3.2.2.2 2 Proben von einem Tier

Statistische Tests basieren auf der Grundannahme, dass alle Elementarereignisse voneinander unabhängig entstanden sind. Insofern stellen 2 Hautproben von einem Tier (Karpalgelenk rechts/links) bei der Auswertung ein Problem dar, da sie sich nicht unabhängig voneinander entwickelt haben. Um den Umfang des Datenmaterials nicht zu schmälern, wurde jeweils das arithmetische Mittel von den Ergebnissen der Hautproben eines Tieres errechnet und so in der statistischen Auswertung verwendet.

Bei Ergebnissen binominaler Natur, die das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein eines Merkmals kennzeichnen, wie z.B. Entzündungszellen (ja = 1/nein = 0), führt dies dazu, dass einem Tier, welches das entsprechende Merkmal nur an einem Gelenk aufweist, ein Wert von 0,5 zugeordnet wird.

3.2.2.3 Mikroskopische Untersuchungen

Die formalinfixierten Hautproben wurden in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert und anschließend in Paraffin eingebettet. Von jeder Probe wurden mit einem Rotationsmikrotom (HM 360, Fa. MICROM GmbH, Walldorf) histologische Schnitte von 5 µm Dicke angefertigt.

Vor den Färbungen wurden die Schnitte mittels Xylol entparaffiniert und über eine absteigende Alkoholreihe in Aqua dest. verbracht.

Nach durchgeführter Färbung wurden sie über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert, in Xylol geklärt und mit Eukitt® eingedeckelt.

3.2.2.4 Histologische Übersichtsfärbungen

Hämatoxylin/Eosinfärbung, HE-Färbung (Romeis, 1989)

Durch Hämalalaun nach Mayer (Romeis, 1989) werden basophile Strukturen blau gefärbt, dies sind insbesondere Zellkerne mit der darin enthaltenen DNA, ribosomale Nucleinsäuren des Zytoplasmas, das raue endoplasmatische Retikulum und die keratinfilamentassoziierten Proteine der Keratohyalin granula des Stratum granulosum. Die mit Eosin durchgeführte Gegenfärbung kennzeichnet acidophile Strukturen des Zytoplasmas.

Trichromfärbung nach MASSON/GOLDNER (Romeis, 1989)

Diese Färbung ermöglicht die Differenzierung von Epithel und Bindegewebe. Während Lichtgrün vor allem das kollagene Bindegewebe darstellt, färbt Eisenhämatoxilin die Zellkerne braunschwarz. Durch Azophloxin und Phosphormolybdän werden die Strukturen des Stratum corneum von blaurot über rot bis gelborange gefärbt.

Resorcin/fuchsin/Kernechtrot nach WEIGERT (Romeis, 1989)

Diese Methode dient der Darstellung der elastischen Fasern, welche tiefbraun angefärbt werden. Die Kerne färben sich dunkelrot, das Weichteilgewebe hellrot.

3.2.2.5 Histochemische Färbungen

Periodsäure-Schiff (PAS)-Reaktion nach MCMANUS (Romeis, 1989)

Diese histochemische Färbung dient dem semiquantitativen Nachweis von Glykoproteinen und -lipiden, die vor allem im Interzellularkitt auftreten, daneben auch von Glykogen im Zytoplasma von Epidermiszellen. PAS-positive Substanzen stellen sich rosarot dar, schwach positive hellrosa. PAS-negative Substanzen bleiben farblos. Die Zellkerne werden mit Hämatoxilin gegengefärbt.

Rhodamin B-Färbung nach LIISBERG (1968)

Sie ist äußerst aussagekräftig für die Verhornung, indem sie Keratine spezifisch darstellt. Die Kerne werden durch die Gegenfärbung mit Toluidin blau bis blauschwarz gefärbt.

Feulgenfärbung nach KULZER (Romeis, 1989)

Hier werden durch die Inkubation in N-HCL (60° C, 15 min) die Purinbasen der DNA abgespalten. Durch das Schiffsche Reagenz wird Fuchsin auf die frei gewordenen Aldehydgruppen übertragen. Die DNA färbt sich purpurfarben an. Die Reaktion dient der Darstellung der Zellkernstruktur und der mitotischen Teilungsfiguren.

Semiquantitativer Nachweis von Sulfhydrylgruppen und Disulfidbrücken (DDD-Reaktion) nach BARNETT und SELIGMANN (1952, 1954), modifiziert nach Korte (1987)

Die Dihydroxy-Dinaphtyl-Disulfid-Reaktion (DDD-Reaktion) ermöglicht das Sichtbarmachen der SH-Gruppen von Gewebsproteinen.

Bei dieser Reaktion wird DDD an seiner Disulfidbrücke gespalten und bildet mit der SH-Gruppe des Gewebsproteins eine Disulfidbrücke, es entsteht ein Protein-Naphtyldisulfid-Komplex. Dieser wird zur Visualisierung mit Fast-Blue-B angefärbt. Bei niedrigen Konzentrationen kommt es zur einseitigen Kuppelung an Fast-Blue-B, was eine rote Färbung ergibt, während bei höheren SH-Konzentrationen zunehmend bilaterale Bindungen an Fast-Blue-B vorkommen, woraus eine Blaufärbung entsteht.

Der SS-Brückennachweis erfolgte ebenfalls mit der DDD-Reaktion, nach vorheriger Blockierung der SH-Gruppen und anschließender Reduktion der SS- zu SH-Gruppen.

Um simultan separat die SS-Gruppen nachzuweisen, wurden 2 Schnitte eines jeden Präparates benötigt. Auf dem einen Schnitt wurden zum SS-Gruppenachweis die beiden letztgenannten Schritte wie folgt durchgeführt:

Blockade der SH- und Reduktion der SS-Gruppen

- Übliches Entparaffinieren, aber ohne Aqua dest.
- Überziehen des Schnittes mit Celloidin (0,5 g Celloidin in 100 ml abs. Äthanol-Äther) durch Eintauchen für 3-5 min und anschließendes Lufttrocknen für 1-2 min.
- 2minütiges Eintauchen in 70%igen Alkohol und anschließend für 2 min in Aqua dest.
- 24stündige Inkubation in Monojodessigsäure (1 g/50 ml Aqua dest. mit 0,1N NaOH auf pH 8 eingestellt, bei 37° C) → Blockade der SH-Gruppen.
- Spülung in 1% Essigsäure.
- Waschen in fließendem Wasser für 10 min.
- 1stündige Inkubation in 0,3 mol Thioglykolsäure (mit 0,1N NaOH auf pH 8 eingestellt) → Reduktion der SS-Gruppen.
- Spülen in 1%iger Essigsäure.
- 5minütiges Waschen in fließendem Wasser.

Gleichzeitiger Nachweis der SH- und der reduzierten SS-Gruppen

- Entparaffinieren der noch unbehandelten Schnitte.
- Gleichzeitige Inkubation der Schnitte mit den blockierten SH- und reduzierten SS-Gruppen zusammen mit den identischen, aber noch unbehandelten Schnitten in 1%iger DDD-Lösung (in 0,1 mol alkoholischem Trispuffer gelöst, 56° C, 60 min).
- Spülen in Aqua dest.
- 2 x 5minütiges Waschen in 1%iger Essigsäure.

- Je 2minütiges Waschen in 70%igem und in 90%igem Alkohol.
- 2 x 5minütiges Waschen in absolutem Äther.
- Spülen in absolutem Alkohol und anschließend in Aqua dest.
- 2minütiges Anfärben der SH- und der reduzierten SS-Gruppen in 0,1%igem Fast-Blue-B-Salz (in 0,1 mol Phosphatpuffer pH 7,4 nach Sörensen gelöst).
- Spülen in Leitungswasser.
- Entwässern in Alkoholreihe, klären in Xylol und Eindeckeln in Eukitt.

Die Beurteilung der Farbabstufung von farblos über rosa bis blauviolett ermöglicht eine semi-quantitative Aussage über die Konzentration von SH- und Disulfid-Gruppen. Die Auswertung der Färbung erfolgte nach folgendem Schema:

Färbeverhalten der Keratinozyten	Intensität der DDD-Reaktion	Gehalt an SH-bzw SS-Gruppen
farblos	0 = keine Reaktion	keine enthalten
rosa	1 = schwach positiv	geringste Konzentration
rosarot	2 = schwach-mittelgradig positiv	geringe Konzentration
dunkelrot	3 = mittelgradig positiv	geringe-mittlere Konzentration
rotviolett	4 = mittelgradig-stark positiv	mittlere Konzentration
violett	5 = stark positiv	mittlere bis hohe Konzentration
blauviolett	6 = stark bis sehr stark positiv	hohe Konzentration
blau	7 = sehr stark positiv	höchste Konzentration

Tab. 4: Bezeichnung der Färbung und der daraus abgeleiteten Reaktionsintensität bzw. der daraus gefolgerten Konzentration an SS-/SH-Gruppen (in Anlehnung an Bragulla, 1996; Mülling, 1993 und Korte, 1987)

3.2.2.6 Morphometrische Untersuchungen

Diese wurden an den HE-gefärbten Präparaten durchgeführt. Hierzu wurden die Präparate mit einer digitalen Kamera mit Makroobjektiv fotografiert, die Abbildung eines Lineals als Maßstab erfolgte mit derselben Einstellung. Bei der anschließenden Vermessung der Objekte konnten dann entsprechende Pixel in mm umgerechnet werden. Für die Vermessung wurde das Programm GIMP 2.2.17 verwendet.

Gemessen wurden:

1. die Dicke der Subkutis
2. die Lederhautstärke
3. die Höhe der Papillarkörper bzw. der Durchmesser des Stratum spinosum
4. die Zahl der Papillen/mm Hautoberfläche
5. die Dicke des Stratum corneum

Da für den Versuch nur konservierte Präparate zur Verfügung standen, konnten keine Aussagen darüber getroffen werden, wie groß die fixationsbedingten Schrumpfungen der Präparate waren. Alle Hautproben wurden jedoch nach demselben Verfahren fixiert und anschließend weiterverarbeitet, sodass von einer Vergleichbarkeit der Proben ausgegangen werden kann.

3.2.2.7 Beurteilung der elastischen Fasern in Dermis und Subkutis

Diese Untersuchung wurde an der Resorchin/Fuchsin-Färbung vorgenommen. Nach einem semiquantitativen Maßstab wurde die Dichte der elastischen Fasern in 4 Ebenen bewertet: 1. im Bereich des Stratum papillare, 2. im oberen Stratum reticulare, 3. im unteren Stratum reticulare, im Bereich der Blutgefäße und 4. am Übergang zur Subkutis.

Messzahl	Dichte der elastischen Fasern
5	höchste Dichte
4	hohe Dichte
3	mittlere Dichte
2	geringe Dichte
1	vereinzelte Fasern

Tab. 5: Bewertung der Dichte der elastischen Fasern mit Messzahlen 1-5

3.2.2.8 Untersuchungen in der Epidermis

Mitoserate

Hier wurden die Mitosen in der Basalmembran (und ihrer unmittelbaren Umgebung) gezählt und ins Verhältnis zur Hautoberfläche gesetzt, um festzustellen, inwieweit der Bodenbelag des Stalles die Teilungsrate der Epidermiszellen beeinflusst.

Zur Verfügung standen für dieses Verfahren in erster Linie die Feulgenfärbung, aber auch alle anderen Färbungen, welche die Nucleinsäuren der Zellkerne anfärben, wie die HE-, Rhodamin/Toluidin- oder Trichrom-Färbung.

Berücksichtigt wurden alle Mitosestadien von der Prophase bis zur Zytokinese.

Ausprägung des Stratum granulosum

Es wurden die Granulosazelllagen gezählt. Diese Auswertung wurde in der 200-fachen Vergrößerung an den HE-gefärbten Präparaten durchgeführt.

Entzündungszellen

Die Präparate wurden sowohl in der HE- als auch in der Rhodamin/Toluidinfärbung auf das Vorkommen von Entzündungszellen geprüft. Bewertet wurde auch, in welcher Tiefe die Entzündung lokalisiert war.

Verhornung

Zusätzlich zu den rein quantitativen Aussagen der oben beschriebenen Untersuchungen wurde überprüft, inwieweit die histochemischen Färbungen in der Epidermis zu aussagekräftigen Ergebnissen über die Qualität der Verhornung führen.

Rhodaminfärbung

Rhodamin färbt die jungen Zellen des Stratum corneum. Es wird die Zahl der von Rhodamin gefärbten Hornzellen gezählt und ihr prozentualer Anteil am Stratum corneum bewertet.

PAS-Reaktion

Die Intensität der Färbung im Interzellularrspalt durch diese Reaktion soll die Frage klären, ob die Ausprägung des Interzellularkitts im Stratum corneum durch die Haltung beeinflusst wird.

Nachweis der SH- und SS-Gruppen

Dieser Nachweis liefert Informationen über die Intensität der Zytokeratinsynthese in der lebenden Epidermis und die Dichte der für die Verhornung wichtigen Disulfidbrücken-Bindung in und zwischen den Keratinfilamenten im Stratum corneum.

Diese Färbung stellt ein sehr aufwändiges Verfahren dar, deshalb wurde nur eine kleine Auswahl an Präparaten jeder Gruppe verwendet. Da die Präparate bei dem Verfahren einer hohen thermischen und chemischen Belastung ausgesetzt waren, gelangten schließlich jeweils 5-8 Präparate einer Gruppe zur Auswertung.

Kernhaltige Zellen im Stratum corneum

Nach einer semiquantitativen Einteilung wurde das Vorkommen und die Konzentration von kernhaltigen Zellen im Stratum corneum beurteilt.

Messzahl	Konzentration von kernhaltigen Zellen im Stratum corneum
0	keine Zellkerne
1	vereinzelt Zellkerne
2	wenige Zellkerne
3	mittlere Anzahl Zellkerne
4	häufig Zellkerne
5	sehr viele Zellkerne

Tab. 6: Einteilung der Konzentration von kernhaltigen Zellen im Stratum corneum mit Messzahlen 0-5

3.2.3 Statistische Methoden

Statistik-Programm

Die statistischen Darstellungen und Auswertungen in dieser Untersuchung wurden vorgenommen mit dem Statistik-Programm SPSS 16 (TM).

Grundlegendes: parametrische versus verteilungsfreie Statistik

Die parametrische Statistik setzt für die zu untersuchenden Merkmale metrisches Skalenniveau (Intervallskala: definierte gleichgroße Abstände) und bei den meisten Anwendungen darüber hinaus die Normalverteilung der Werte in der Grundgesamtheit voraus.

Die nonparametrische Statistik ist hingegen für die Analyse von nominal-, ordinal- wie auch metrisch skalierten Variablen geeignet und macht keinerlei Vorannahmen bezüglich der Merkmalsverteilung.

Die Methoden der nonparametrischen Statistik sind zudem einfach und transparent. Die Ergebnisse der Tests sind stets objektiv und zuverlässig.

Anwendung der verteilungsfreien Statistik in dieser Arbeit

Vor diesem Hintergrund wird in der vorliegenden Arbeit für die statistische Darstellung bzw. für die Tests durchweg von nonparametrischen verteilungsfreien Methoden Gebrauch gemacht, unter der Berücksichtigung, dass viele der in die Untersuchung einbezogenen Merkmale metrisches Skalenniveau (alle physikalischen Merkmale) aufweisen.

Dieses Vorgehen hat folgende Vorteile:

Der in praxi kaum zweifelsfrei zu erbringende Nachweis der Normalverteilung eines Merkmals in der Grundgesamtheit entfällt komplett.

Ebenso entfällt die anhand von zweifelhaften Kriterien zu erbringende Entscheidung über das Vorliegen von Varianzhomo- bzw. -heterogenität bei zu vergleichenden Stichproben. Zudem wird es möglich, mit einigen wenigen statistischen Tests alle Hypothesen der Untersuchung zu überprüfen.

Der einzige vermeintliche Nachteil – eine geringfügig schwächere Teststärke (= das Potential eines Tests, einen in der Grundgesamtheit tatsächlich vorhandenen Effekt anhand der Stichprobendaten nachweisen zu können) gegenüber den parametrischen Tests – ist durchaus auch als Vorteil interpretierbar: Die Wahrscheinlichkeit, ein falsch signifikantes Ergebnis (einen sogenannten alpha-Fehler) angezeigt zu bekommen, ist letztlich geringer. Dies ist umso mehr von Vorteil, als bei multiplen Testungen ohnedies das Risiko, falsch signifikante Ergebnisse zu bekommen, erhöht ist.

Repräsentation einer Wertemenge

Die Repräsentation einer Wertemenge erfolgt durch Angabe ihrer zentralen Tendenz (Lagemaß für Ordinalskalen ist der Median) und der wesentlichen Verteilungseigenschaften (Quartile, Ausreißer und Extremwerte). Im Einzelnen:

- der Median (50% der Fälle liegen über/unter dem Median)
- das 25- und 75% - Perzentil (25 bzw. 75% liegen darunter)
- das Minimum und Maximum einer Verteilung

Boxplot

Der Boxplot gibt Lage und Verteilung einer Wertemenge wieder: Die Box wird begrenzt durch das 25- und das 75% Perzentil und enthält den Median. Die Fälle des obersten bzw. untersten Quartils werden über oder unter der Box dargestellt, entweder als Whisker (Tasthaare der Katze) oder – wenn einzelne Fälle relativ zur Boxenspannweite mehr als das 1,5-fache außerhalb liegen – als Ausreißer (Kreise) oder Extremwerte (Sternchen).

p-Wert und Signifikanz

Jeder statistische Test besteht aus der Darstellung eines Effekts und der Angabe der Signifikanz (p-Wert, Irrtumswahrscheinlichkeit) für diesen Effekt. Der p-Wert (probabilitas) drückt aus, mit welcher Wahrscheinlichkeit der gefundene Effekt unter der Voraussetzung der

0-Hypothese (kein Effekt in der Grundgesamtheit) – also allein bedingt durch die Zufälligkeiten der Stichprobenziehung – zustande gekommen sein könnte.

Unterschreitet der p-Wert einen bestimmten zuvor festgelegten und für sinnvoll erachteten Wert, so beurteilt man das Ergebnis als signifikant. Bei einem signifikanten Ergebnis wird die 0-Hypothese verworfen, die Arbeitshypothese wird hingegen akzeptiert.

Gerichtete und ungerichtete Hypothesen

Folgt aus einer Theorie nicht nur die Vorhersage eines (ungerichteten) Unterschieds, sondern auch eine Vorhersage über die Richtung des Unterschieds, so spricht man von einer gerichteten (einseitigen) Hypothese. In diesem Fall ist ein gerichteter Hypothesentest durchzuführen und die einseitige Signifikanz zu beachten. Bleibt jedoch offen, in welcher Richtung sich ein Unterschied entwickelt (z.B. Verbesserung oder Verschlechterung), so besteht eine ungerichtete Hypothese und die zweiseitige Signifikanz ist von Bedeutung.

Alpha-Fehler Kumulierung bei multipler Testung

Ein alpha-Fehler ist die falsche Akzeptanz einer Arbeitshypothese – wenn in der Grundgesamtheit die H_0 gilt. Ein alpha-Fehler kann sich pro durchgeführtem Test definitionsgemäß mit der Irrtumswahrscheinlichkeit p ereignen. Multiple Tests bringen demgemäß eine erhöhte Chance, daß ein solcher Fehler auftritt, da das "Experiment" oft wiederholt wird. Man spricht von einer sog. alpha-Fehler-Kumulierung.

Zu begegnen ist diesem Effekt, indem die Signifikanzschwelle herabgesetzt wird. In dieser Arbeit wird die Signifikanzschwelle wegen vorhandener multipler Testungen auf $p \leq 0,01$ festgelegt.

3.2.3.1 Statistische Tests im Einzelnen

Pearsons Chi-Quadrat-Test und Fishers exakter Test bei Kontingenztafeln (Kreuztabellen)

Beide Tests überprüfen Zusammenhänge zwischen 2 nominalskalierten Merkmalen (bzw. Unterschiede bezüglich der Verteilungsproportionen; bzw. stochastische Unabhängigkeit) auf Signifikanz.

Fishers exakter Test ist genauer als das asymptotische Chi-Quadrat-Test von Pearson und insbesondere da anzuwenden, wo bei Kreuztabellen Zellbesetzungen von < 5 auftreten.

Die Tests sind symmetrisch. Was abhängige und was unabhängige Variable ist, ist entsprechend der Untersuchungsanordnung frei interpretierbar.

Mann-Whitney-U- (MWU) und Kruskal-Wallis-Test (KW)

Der MWU-Test (2 Stichproben) und der KW-Test (mehr als 2 Stichproben) testen Unterschiede der zentralen Tendenz (Lage) bei unabhängigen Stichproben auf Signifikanz.

Die unabhängige Variable (Einflussfaktor) ist nominalskaliert und definiert die unabhängigen Stichproben. Die abhängigen Variablen entsprechen den zu untersuchenden Merkmalen. Diese können ordinal oder metrisch skaliert sein.

Der MWU- und der KW-Test sind Rangsummentests. Ihr Funktionsprinzip ist der direkte ordinale Vergleich zweier Wertemengen durch Einordnen in eine gemeinsame Rangreihe.

Als ein aussagekräftiges deskriptives relationales Vergleichsmaß wird bei beiden Tests der sog. Mittlere Rang gebildet. Der Test auf Signifikanz erfolgt jeweils anhand von speziellen Prüfstatistiken.

Ergänzend zum ebenfalls informativen Gruppenmedian ist der Mittlere Rang genauer und aussagekräftiger hinsichtlich der relativen Lage der Wertemengen zueinander. Anders als der Median ist der MR aber nur im direkten Gruppenvergleich definiert (Bühl, 2006; Bortz, 2008).

4 Ergebnisse

4.1 Veränderungen im Liege- und Aufstehverhalten sowie hinsichtlich der Mastleistung

4.1.1 Liege- und Aufstehverhalten

Diese Untersuchung wurde nur bei den drei Spaltenbodengruppen durchgeführt. Alle Ergebnisse beziehen sich auf einen Beobachtungszeitraum von 24 h.

4.1.1.1 Liegedauer und Liegeperioden

Die Bullen lagen im Mittel knapp 14 h pro Tag. Signifikante Unterschiede ließen sich hier zwischen den Haltungsgruppen nicht beobachten (vgl. Abb. 2). Die Tiere auf Gummispaltenboden teilten diese Liegezeit in mehr und kürzere Liegeperioden auf. Dieser Unterschied war zwischen der Beton-Gruppe und den beiden Gummispaltenbodengruppen signifikant ($p < 0,001$). Zwischen G1 und G2 bestanden keine signifikanten Unterschiede (vgl. Abb. 3).

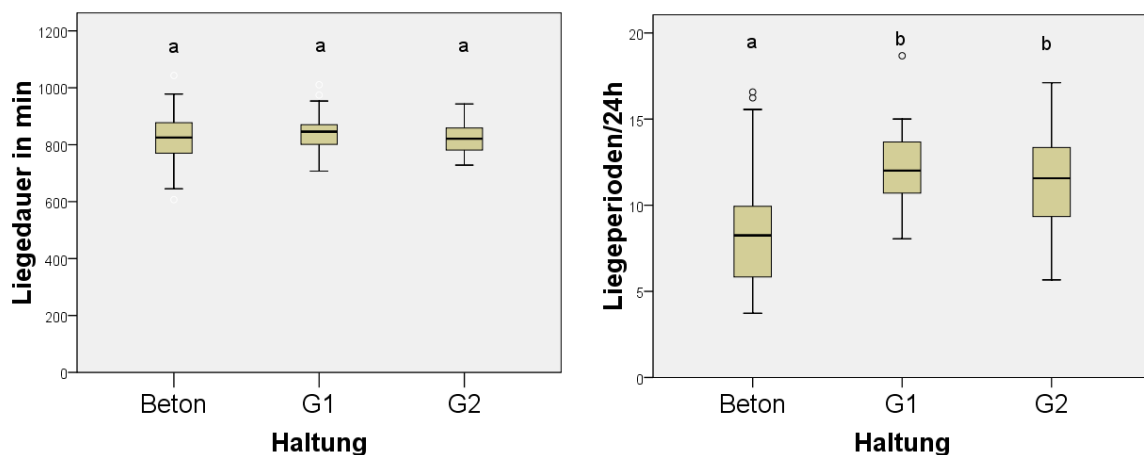


Abb. 2 (links): Liegedauer in min/24 h in Abhängigkeit von der Haltung

Abb. 3 (rechts): Anzahl der Liegeperioden/24 h in Abhängigkeit von der Haltung

(a, b: $p < 0,001$; MWU Test)

4.1.1.2 Aufstehen

Die Tiere der Beton-Gruppe zeigten signifikant weniger arttypische Aufstehvorgänge als die Tiere von G1 und G2 ($p < 0,001$). Zwischen den Tieren von G1 und G2 bestanden dagegen keine gesicherten Unterschiede. Bei den nicht arttypischen Aufstehvorgängen bestanden zwischen allen Gruppen signifikante Unterschiede ($p < 0,01$, vgl. Abb. 4 und Abb. 5).

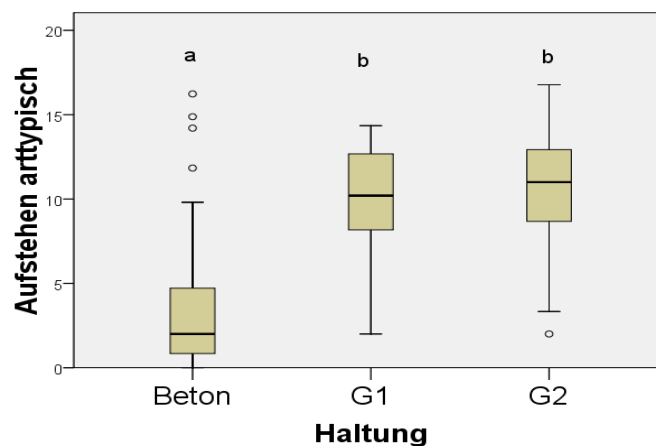


Abb. 4: Anzahl der Aufstehvorgänge mit arttypischem Bewegungsmuster/24 h in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b*: $p < 0,001$; MWU Test)

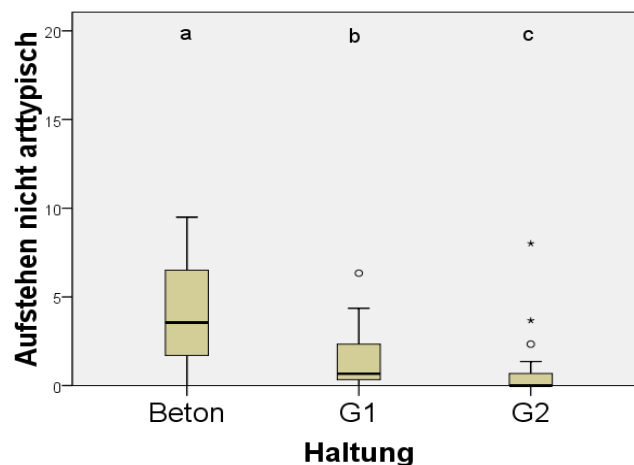


Abb. 5: Anzahl der Aufstehvorgänge mit nicht-arttypischem Bewegungsmuster/24 h in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b, c*: $p < 0,01$; MWU Test)

4.1.1.3 Abliegen

Bei der Betongruppe kamen hochsignifikant mehr falsche und weniger korrekte Bewegungsabläufe vor als bei G1 und G2, zwischen G1 und G2 waren keine signifikanten Unterschiede bemerkbar (vgl. Abb. 6 und Abb. 7).

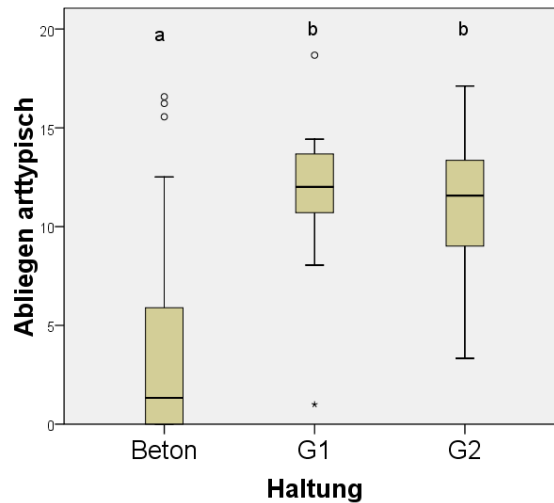


Abb. 6: Anzahl der Abliegevorgänge mit arttypischem Bewegungsmuster/24 h in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b: p < 0,001; MWU Test*)

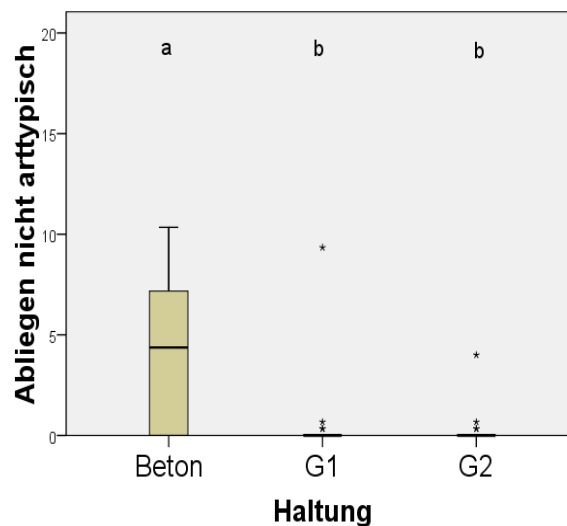


Abb. 7: Anzahl der Abliegevorgänge mit artfremdem Bewegungsmuster/24 h in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b: p < 0,001; MWU Test*)

4.1.1.4 Kurze Stehphasen

Bei der Beton-Gruppe kamen kurze Stehphasen unter 3 bzw. 5 min signifikant seltener als bei G1 und G2 vor ($p < 0,001$), während zwischen G1 und G2 keine gesicherten Unterschiede zu verzeichnen waren (vgl. Abb. 8 und Abb. 9).

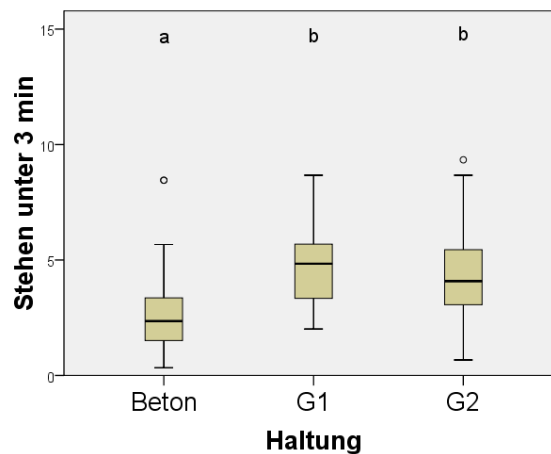


Abb. 8: Anzahl der kurzen Stehphasen < 3 min/24 h in Abhängigkeit von der Haltung ($a, b: p < 0,001$; MWU Test)

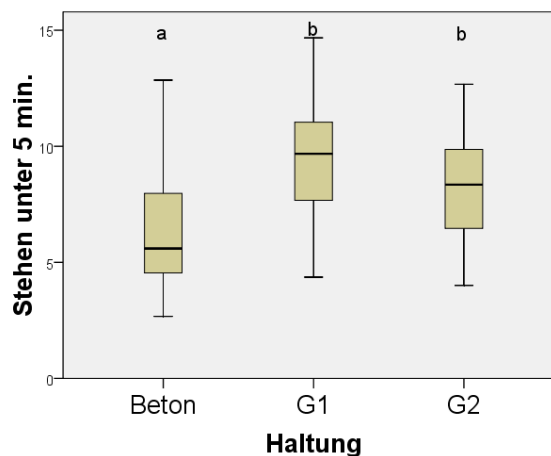


Abb. 9: Anzahl der kurzen Stehphasen < 5 min/24 h in Abhängigkeit von der Haltung ($a, b: p < 0,001$; MWU Test)

4.1.2 Mastleistung

Die täglichen Gewichtszunahmen der Tiere zeigten von der Beton-Gruppe mit der geringsten täglichen Zunahme über G1 und G2 zur Strohhgruppe hin eine steigende Tendenz. Ein signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) konnte jedoch nur zwischen der Beton-Gruppe und G2 festgestellt werden (vgl. Tab. 7 und Abb. 10).

Tägliche Zunahmen in g	Haltung			
	Beton	G1	G2	Stroh
Probenzahl (n)	31	35	39	6
Median	1201	1252	1302	1352
Mittelwert	1196	1247	1312	1325
Maximum	1570	1538	1641	1499
Minimum	958	826	1075	1134

Tab. 7: Durchschnittliche tägliche Zunahmen (g) in Abhängigkeit von der Haltung

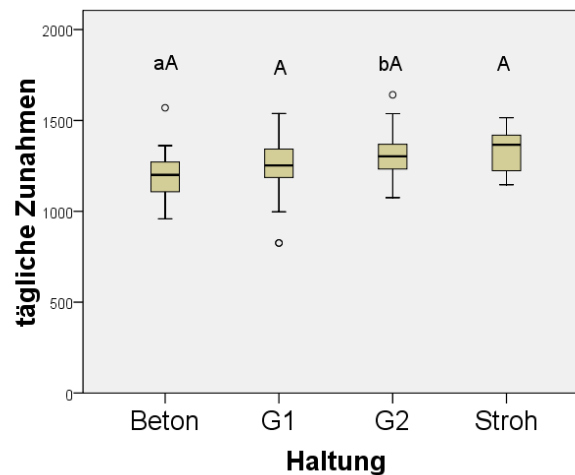


Abb. 10: Durchschnittliche tägliche Zunahmen (g) in Abhängigkeit von der Haltung ($a, b: p < 0,001$; MWU Test)

4.2 Makroskopische Veränderungen der Haut

Die dargestellten Ergebnisse der Untersuchung der makroskopisch sichtbaren Hautveränderungen der Karpalgelenke beziehen sich auf den letzten Untersuchungsgang unmittelbar vor der Schlachtung. Befunde zu den Parametern haarlose Stellen, Krusten, Wunden, nasse Krusten, weiche Schwellungen und bindegewebige Schwellungen der Haut am dorsalen Karpus sind in Tab. 8 zusammengefasst dargestellt. Lateral an den Gelenken wurde keine Untersuchung durchgeführt. Da die Haut der Strohtiere beim letzten Untersuchungsgang nicht beurteilbar war, wird gesondert auf sie eingegangen.

4.2.1 Untersuchung der Spaltenbodentiere

Signifikante Unterschiede ergaben sich für das Vorkommen von Krusten sowie bindegewebigen Schwellungen zwischen der Betongruppe einerseits und den beiden Gummispaltenbodengruppen andererseits (vgl. Tab. 8).

Befunde	Haltung			p-Wert
	a Beton	b G1	b G2	
Probenzahl (n)	100% (32)	100% (39)	100% (39)	
haarlos	41% (13)	27% (10,5)	26% (10)	n.s.
Kruste	91% (29)	50% (19,5)	33% (13)	< 0,001
Wunde	2% (0,5)	0	0	n.s.
nasse Kruste	0	1% (0,5)	0	n.s.
weiche Schwellung	5% (1,5)	4% (1,5)	3% (1)	n.s.
bindegewebige Schwellung	59% (19)	24% (9,5)	32% (12,5)	< 0,01

Tab. 8: Anzahl der makroskopisch erhobenen Veränderungen der Haut am dorsalen Karpalgelenk und ihre prozentuale Häufigkeit in Abhängigkeit von der Haltung (*Chi-Quadrat-Test*); eine Probe entspricht dem arithmetischen Mittel der Gelenksproben eines Tieres.

4.2.1.1 Beispiel für das Beurteilungskriterium „Haarlose Stellen“

Haarlose Stellen waren insgesamt ein sehr häufig auftretendes Phänomen bei allen drei Spaltenbodenvarianten.

Wie in Tab. 8 dargestellt, wiesen mit 41% die Gelenke der Betonspaltenbodentiere mit Abstand am häufigsten haarlose Stellen auf, in der Gruppe G1 war dieser Befund dagegen nur bei 27% und in der Gruppe G2 bei 26% der untersuchten Gelenke festzustellen.



Abb. 11: dorsales Karpalgelenk, haarlose Stellen, offene Wunde



Abb. 12: dorsales Karpalgelenk, haarlose Stelle, Krusten

4.2.1.2 Beispiel für das Beurteilungskriterium „Krusten“

Krusten waren mit 91% an fast allen untersuchten Gelenken der Betonspaltentiere zu finden. Bei Tieren, die auf Gummispaltenboden gehalten wurden, trat dieser Befund signifikant seltener auf. Hier wiesen 50% der Gelenke der G1-Tiere gegenüber 33% der Gelenke der G2-Tiere Krusten auf.



Abb. 13: dorsales Karpalgelenk, Krusten



Abb. 14: dorsales Karpalgelenk, haarlos, kleine Kruste

4.2.1.3 Wunden

Dieser Befund war äußerst selten und trat nur an einem Gelenk der Beton-Gruppe auf. Weder in der G1-, noch in der G2-Gruppe waren Wunden im Untersuchungsbereich makroskopisch nachweisbar (vgl. Tab. 8).

4.2.1.4 Nasse Krusten

Auch nasse Krusten traten extrem selten auf: Nur an einem Gelenk der G1-Gruppe waren nasse Krusten nachweisbar; die Tiere der Beton- und der G2-Gruppe zeigten keine nasse Krusten (vgl. Tab. 8).

4.2.1.5 Beispiel für das Beurteilungskriterium „Weiche Schwellungen“

Weiche Schwellungen traten gleichfalls relativ selten auf, und zwar bei 5% der untersuchten Gelenke der Beton-Gruppe, 4% der untersuchten Gelenke der G1- und 3% der untersuchten Gelenke der G2-Gruppe. Zwischen keiner der Haltungsgruppen bestanden signifikante Unterschiede (vgl. Tab. 8).



Abb. 15: dorsales Karpalgelenk, haarlos, weiche Schwellung



Abb. 16: dorsales Karpalgelenk, haarlos, weiche Schwellung

4.2.1.6 Bindegewebige Schwellung

Bindegewebige Schwellungen konnten bei der Beton-Gruppe an mit 59% mehr als der Hälfte der untersuchten Gelenke festgestellt werden. Deutlich seltener traten bindegewebige Schwellungen bei den Gummivarianten auf, und zwar bei 24% der Gelenke der G1- und 32% der Gelenke der G2-Tiere. Die Unterschiede zwischen der Betongruppe und den Gummispaltenbodengruppen sind signifikant, nicht jedoch zwischen den beiden Gummivarianten (vgl. Tab. 8).

4.2.1.7 Rechts/Links-Vergleich an den Karpalgelenken eines Tieres

Hinsichtlich des mit einem Scorewert beurteilten Schweregrads der makroskopischen Befunde zwischen rechtem und linkem Karpalgelenk (0 = ohne Befund, 1 = haarlose Stelle,

2 = Krustenbildung, 3 = Krustenbildung in Kombination mit haarloser Stelle) bestand für jedes Tier eine positive Korrelation mit den im Folgenden aufgeführten Korrelationskoeffizienten und Signifikanzen (Spearman Rank Correlation):

Beton ($r = 0,625$, $p < 0,001$), G1 ($r = 0,488$, $p < 0,01$) sowie G2 ($r = 0,358$, $p = 0,056$).

Im Durchschnitt aller untersuchten Karpalgelenke lag der Schadensindex der auf Beton gehaltenen Tiergruppe mit $2,290 \pm 0,078$ signifikant ($p < 0,001$, t-Test) über den beiden Gummivarianten G1 ($1,254 \pm 0,152$) und G2 ($1,086 \pm 0,167$).

4.2.2 Untersuchung der Strohgruppe

Wie eingangs erwähnt, war das Integument der dorsalen Karpalgelenke der Strohtiere beim letzten Untersuchungsgang unmittelbar vor der Schlachtung makroskopisch nicht beurteilbar. Grund war deren starke Verschmutzung mit Mist und Gülle (vgl. Abb. 17). Im Vergleich dazu fällt auf, dass beim vorletzten Untersuchungsgang, etwa einen Monat vor der Schlachtung, bei keinem der Gelenke Krusten, Wunden oder Schwellungen feststellbar waren. Lediglich ein Gelenk zeigte eine haarlose Stelle.



Abb. 17: dorsales Karpalgelenk, schmutzverkrustet bei Einstreuhaltung

4.3 Mikroskopische Veränderungen der Haut

Eine Reaktion der Haut auf Druckbelastung über einen längeren Zeitraum besteht in der Verstärkung der Schichtdicken wie die folgenden Abbildungen veranschaulichen. Abb. 18 zeigt den Schnitt normaler Haut aus einer lateralen Hautprobe in Lupenvergrößerung. Abb. 19 ist ein Beispiel für die Adaptationsreaktion der Haut auf Gummispaltenhaltung, während Abb. 20, ein Präparat aus der Beton-Gruppe, ein Extrembeispiel dafür darstellt, wie stark die Größenzunahme der einzelnen Hautschichten als Adaptationsreaktion auf chronische Druckexposition ausfallen kann.

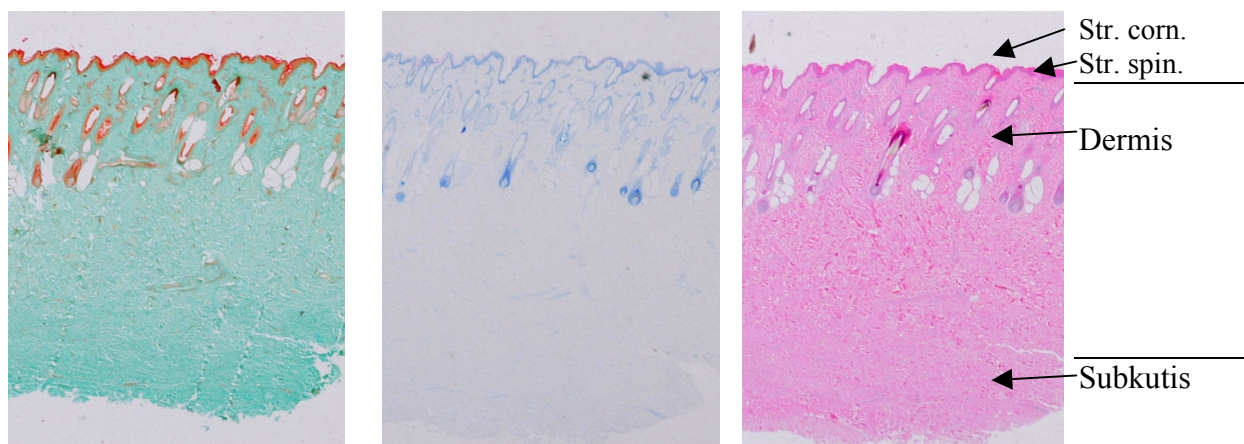


Abb. 18: laterale Hautprobe, Epidermis und Subkutis ohne Anpassung an erhöhte Druckbelastung, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung

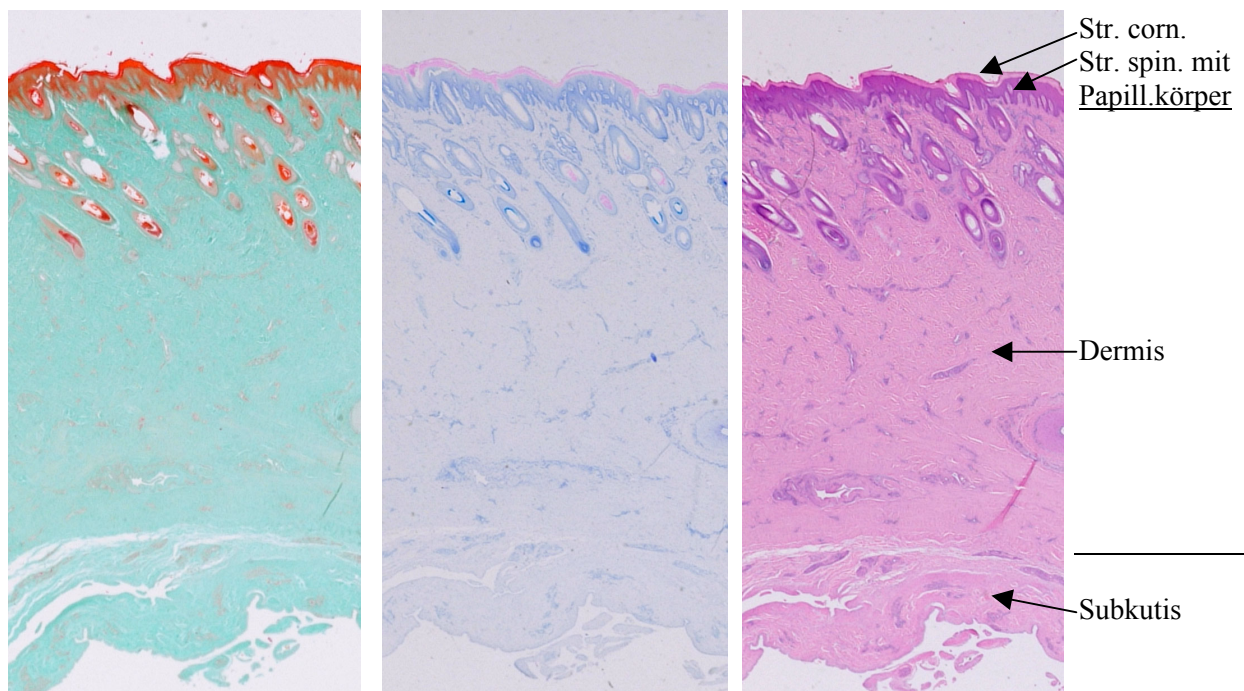


Abb. 19: G1, Epidermis und Subkutis mit geringen Anpassungserscheinungen an die Druckbelastung, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung

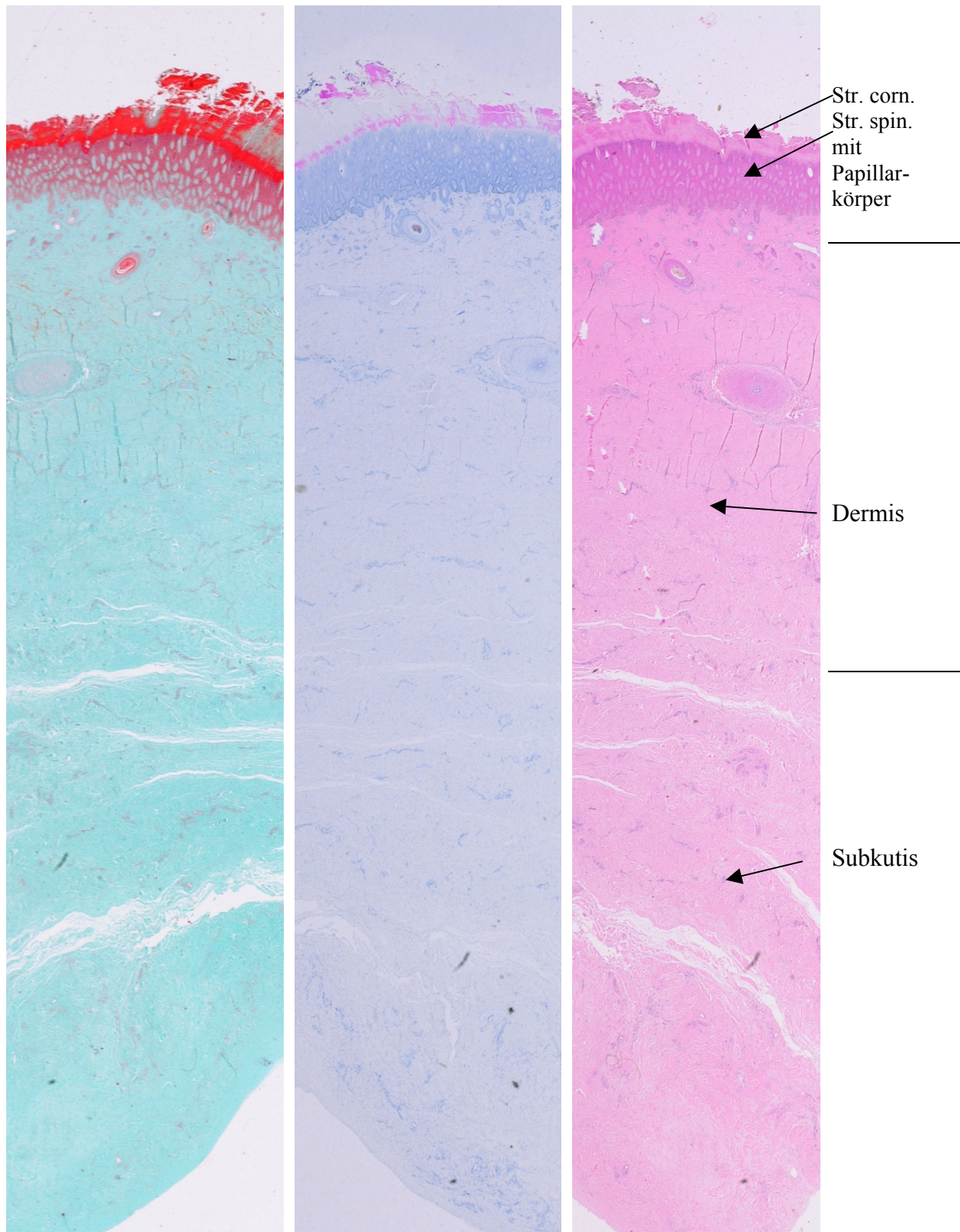


Abb. 20: Beton-Gruppe, verdickte Epidermis und Subkutis, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung (Extremvariante, nicht repräsentativ für die Betongruppe)

4.3.1 Morphologie und Morphometrie

4.3.1.1 Die Subkutis

Die Subkutis weist eine sehr unterschiedliche Mächtigkeit auf. Die Schichtdickenmessungen ergeben eine extreme Varianz innerhalb der einzelnen Gruppen und keine signifikanten Unterschiede zwischen den Spaltenbodenvarianten. Die mittleren Dicken betragen 5,4 mm für die Beton-Gruppe, 5,7 mm für die G1- und 7,4 mm für die G2-Gruppe.

Signifikante Unterschiede liegen zwischen den Gummibodenvarianten und der Strohgruppe vor, welche im Mittel eine Subkutisdicke von nur 1,2 mm aufweist, während sich die laterale Kontrollprobe, deren Subkutis im Mittel 0,7 mm misst, von allen Spaltenbodengruppen signifikant unterscheidet ($p < 0,01$; vgl. Abb. 22 und Tab. 9).

Auffallend sind die Extremvarianten in allen Spaltenbodengruppen, bei denen die Subkutis eine Mächtigkeit von bis zu 23 mm erreicht (vgl. Abb. 21, Bild 2). Hier kommt es zu einer Verdichtung der kollagenen Faserstrukturen. Häufig sind in den Präparaten mit verdickter Subkutis subkutane Schleimbeutel anzutreffen, wie Abb. 21, Bild 3 und 4 zeigen.

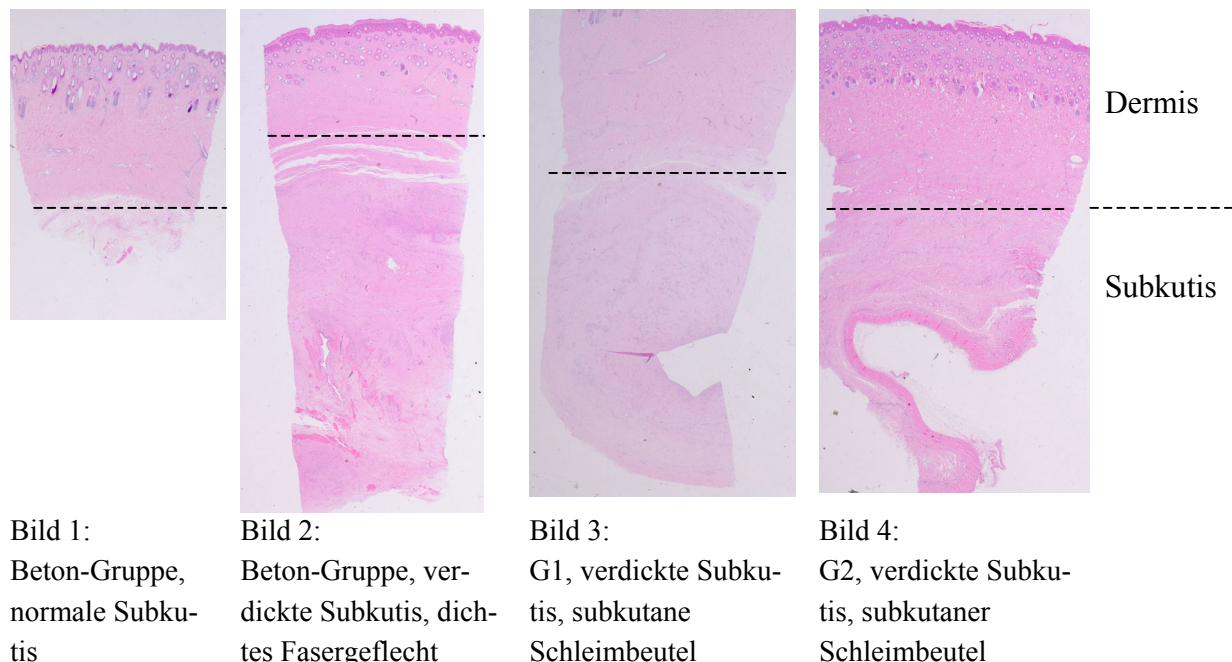


Abb. 21: Bild 1-4 zeigen neben einem Präparat mit normaler Subkutis verschiedene Extremvarianten für eine modifizierte Subkutis; Lupenvergrößerung

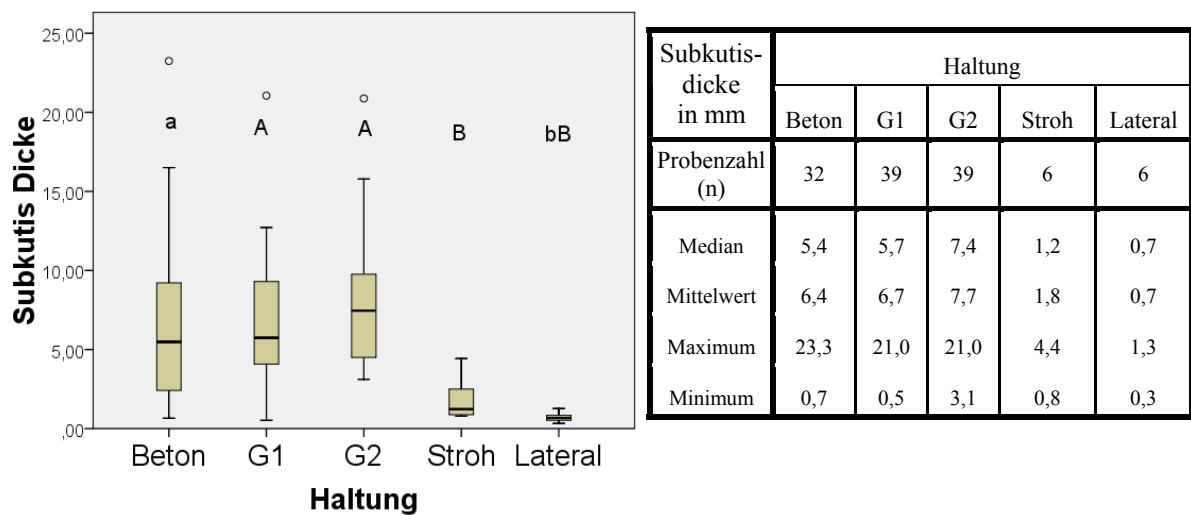


Abb. 22 (links): Dicke der Subkutis in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b, A, B: p < 0,01; MWU Test*)

Tab. 9 (rechts): Dicke der Subkutis in Abhängigkeit von der Haltung

Elastische Fasern

Bewertet wurden die elastischen Fasern nach der in Material und Methoden beschriebenen Einstufung. Ihre Ausprägung liegt in dieser Hautschicht überwiegend bei den Messzahlen 1-2 und erreicht nur in wenigen Fällen, bei den Spaltenbodengruppen, die Ausprägung „mittlere Dichte“. Letztere zeigen alle eine deutliche Tendenz zu höheren Werten. Jedoch nur zwischen G2 und der lateralen Kontrolle kann ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. ($p < 0,01$; vgl. Tab. 10).

Elastische Fasern Subkutis	Haltung					a,b: p-Wert
	Beton	G1	a G2	Stroh	b Lateral	
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6	
Median	1,5	1,5	1,5	1,5	1	< 0,01
Mittelwert	1,57	1,6	1,6	1,3	1,1	
Maximum	2,5	3	2	1,5	1,5	
Minimum	1	1	1	1	1	

Tab. 10: Dichte der elastischen Fasern in der Subkutis (Messzahl 1-5) in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b: p < 0,01; MWU Test*)

4.3.1.2 Die Dermis (Corium)

In der Dermis dominieren die von Lichtgrün und Eosin angefärbten Strukturen des Kollagens. Deutlich zu sehen sind die unterschiedlichen Verlaufsrichtungen der unteren und der oberen Lagen des Stratum reticulare. Das untere Stratum reticulare umschließt große horizontal verlaufende arterielle und venöse Blutgefäße mit einem Durchmesser von ca. 0,5-1 mm Durchmesser, in deren Nähe gehäuft marklose Nervenfasern vorkommen (vgl. Abb. 32). Die in der Peripherie verlaufenden Gefäße sind von kleinerem Durchmesser. Haarwurzelscheiden ragen, wo vorhanden, bis ins Stratum reticulare vor; an ihren Seiten sind die Talgdrüsen erkennbar (vgl. Abb. 23).

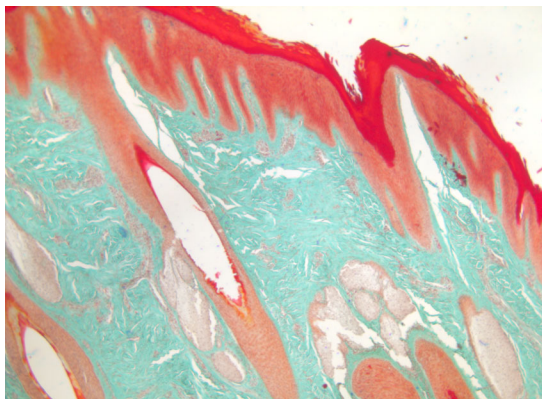


Abb. 23: G1, Haut mit Haarwurzelscheiden, Talgdrüsen, TC; 50x

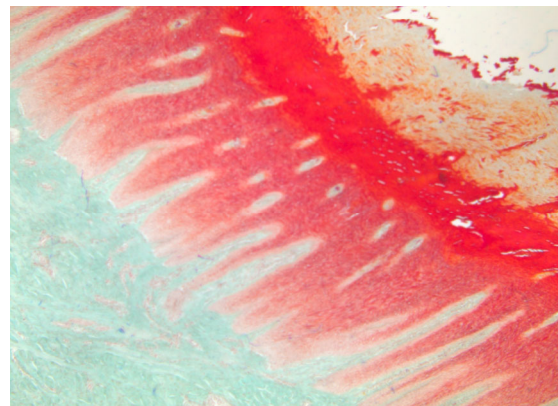


Abb. 24: Beton-Gruppe, verdickte Epidermis, Haarwurzelscheiden u. Talgdrüsen atresiert, TC; 50x

Der Übergang vom oberen Stratum reticulare in das Stratum papillare ist gekennzeichnet durch das Auftreten von feineren Kollagenfasern. Blutgefäße sind in den Papillen nicht mehr darstellbar, „Erythrozytenschnüre“ lassen jedoch den Verlauf der Kapillaren erahnen.

Dermisdicke

Die Dicke der Dermis liegt bei allen drei Spaltenbodengruppen bei knapp 8 mm, signifikante Unterschiede zwischen diesen Gruppen traten nicht auf. Von allen Spaltenbodengruppen hebt sich die Stroh-Gruppe mit einer mittleren Dermisdicke von 6,6 mm signifikant ab. Die Dermis der lateralen Hautproben weist eine mittlere Dicke von 5,1 mm auf und ist somit signifi-

kant dünner als die der Proben vom dorsalen Karpalgelenk bei allen Untersuchungsgruppen ($p < 0,01$; vgl. Abb. 25 und Tab. 11).

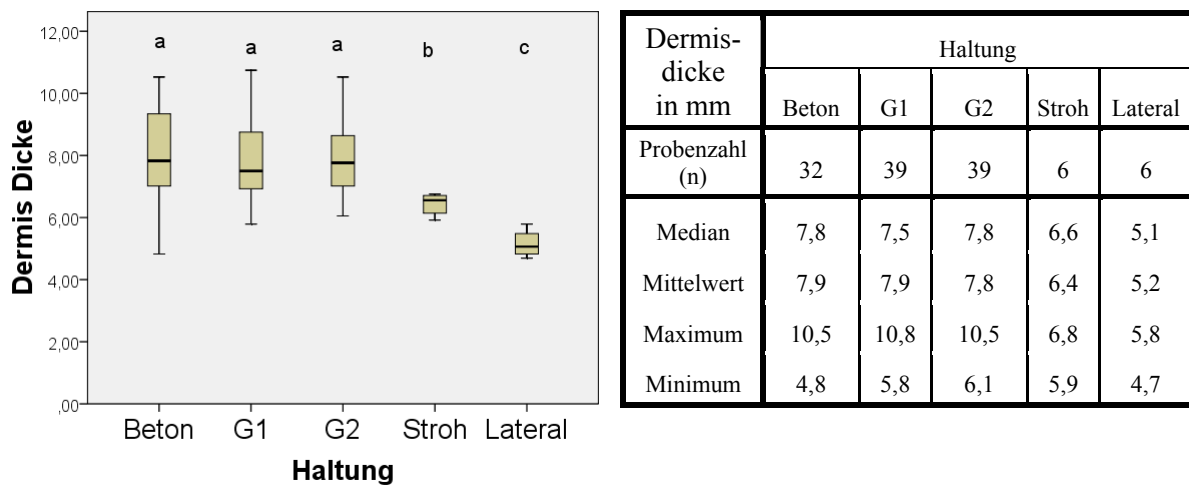


Abb. 25 (links): Dermisdicke in mm in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b, c: $p < 0,01$; MWU Test*)

Tab. 11 (rechts): Dermisdicke in mm in Abhängigkeit von der Haltung

Der Papillarkörper

Die Höhe des Papillarkörpers zeigt bei den verschiedenen Haltungsgruppen eindeutige mit der Haltungsform korrelierende Unterschiede. Die Papillen in den Hautproben der Beton-Gruppe sind durchschnittlich höher und breiter ausgebildet als die der anderen Versuchsgruppen, was ein entsprechend höheres Stratum spinosum bedingt (vgl. Abb. 27-31).

Beim Herstellen der Schnitte konnte nicht immer ein genauer Längsschnitt durch die Papillen erzielt und das Ende der Papillen dargestellt werden. Daher wurde auf eine Einzelvermessung der Papillenzahlen verzichtet. Stichprobenuntersuchungen an genau längs geschnittenen Papillen ergaben jedoch, dass die Papillen bis auf 0,03-0,04 mm an den Übergang vom Stratum spinosum zum Stratum corneum heranreichen. Dadurch entspricht die Papillenhöhe praktisch der Höhe des Stratum spinosum, siehe dazu auch Kap. 4.3.1.3.

Der Medianwert für die Papillenzahl liegt bei der Betongruppe bei 7,4/mm Hautschnitt, bei den Gummivarianten sind die Papillen kürzer und schmaler ausgeprägt und erreichen einen Wert bei G1 und G2 von 8,6/mm. Die Unterschiede der Papillenzahl zwischen der Beton-Gruppe und den beiden Gummispalten-Gruppen sind signifikant. Bei der Strohhaltung liegt die Papillenzahl bei 10/mm, dieser Wert ist signifikant höher als bei allen 3 Spaltenboden-Gruppen.

An den lateral entnommenen Hautproben beträgt die Dicke des Stratum spinosum teilweise unter 0,05 mm. In diesen Fällen verstreichen die Papillen fast vollständig und stellen praktisch nur noch eine Schablone der gewellten Hautoberfläche dar. Die Papillenzahl beträgt durchschnittlich 6,3/mm. Hinsichtlich der Papillenzahl der lateralen Hautproben besteht somit kein signifikanter Unterschied zu den Hautproben der Beton- und der Strohhgruppe, die Unterschiede zu den Hautproben von G1 und G2 sind jedoch signifikant ($p < 0,01$; vgl. Abb. 26 und Tab. 12).

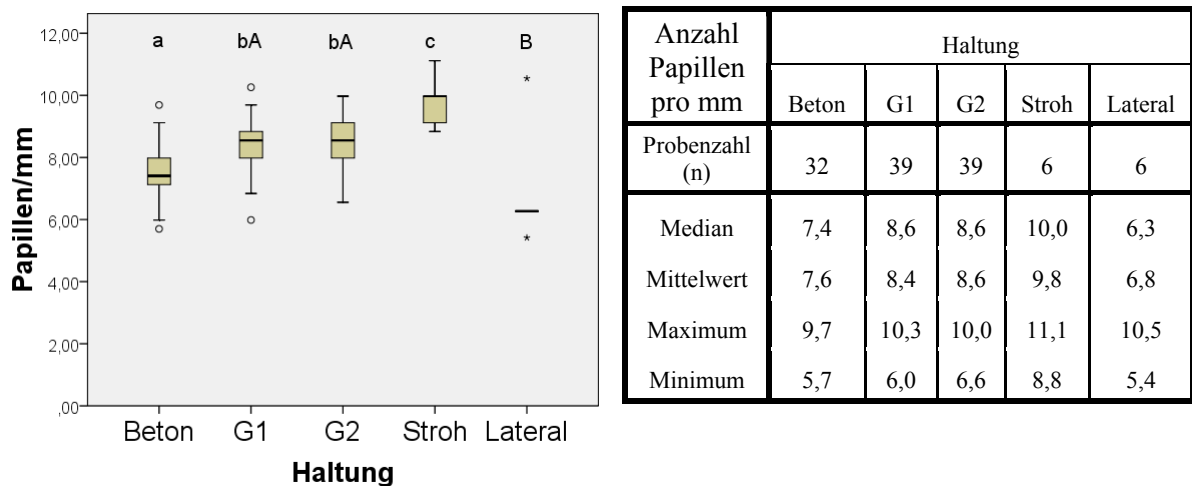


Abb. 26 (links): Anzahl Papillen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung; (a, b, c: $p < 0,01$; MWU Test)

Tab. 12 (rechts): Anzahl Papillen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung;

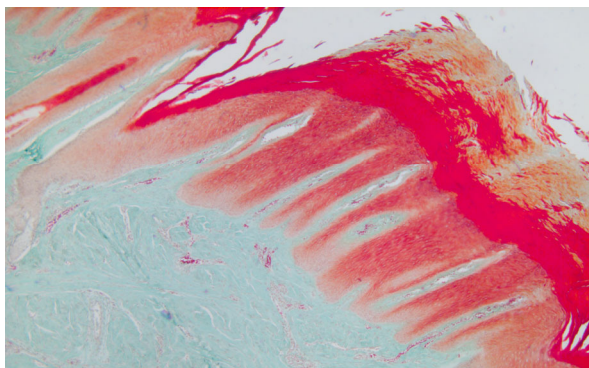


Abb. 27: Beton-Gruppe, sehr hoher Papillarkörper, TC; 50x

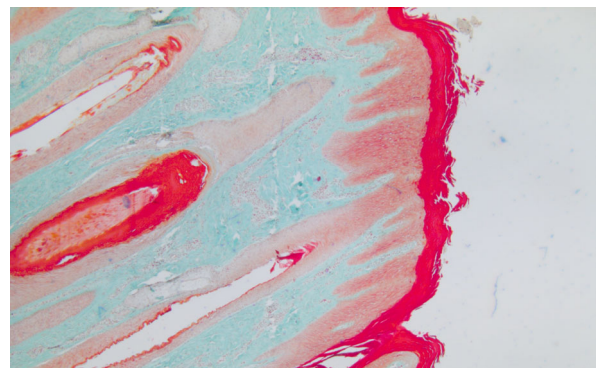


Abb. 28: G1, hoher Papillarkörper, TC; 50x

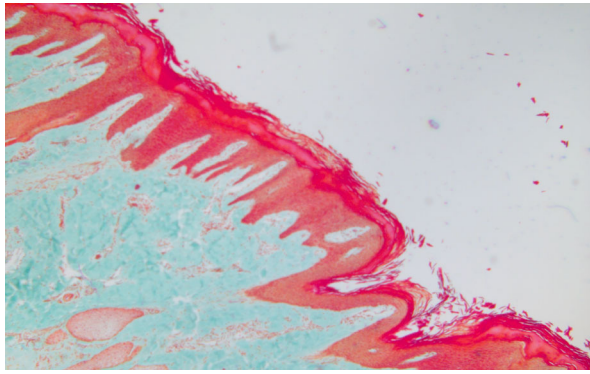


Abb. 29: Stroh-Gruppe,
Papillarkörper mittlerer Höhe, TC; 50x

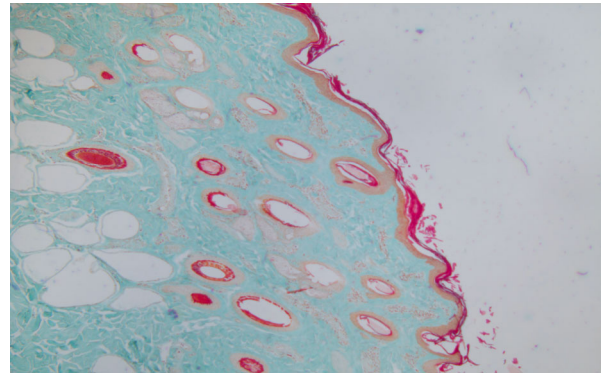


Abb. 30: laterale Kontrolle,
niedriger Papillarkörper, TC; 50x

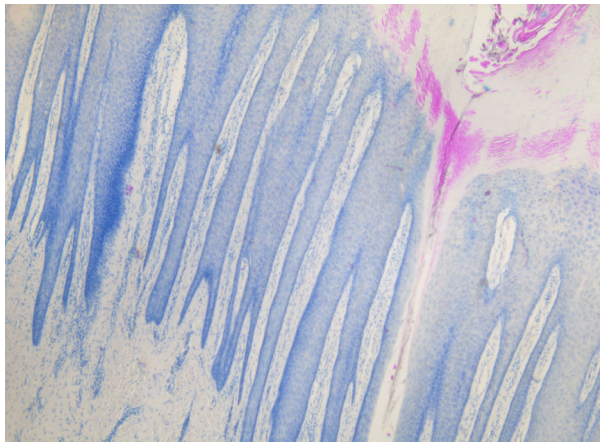


Abb. 31: Beton-Gruppe,
stark zergliederter Papillarkörper, R/T; 50x

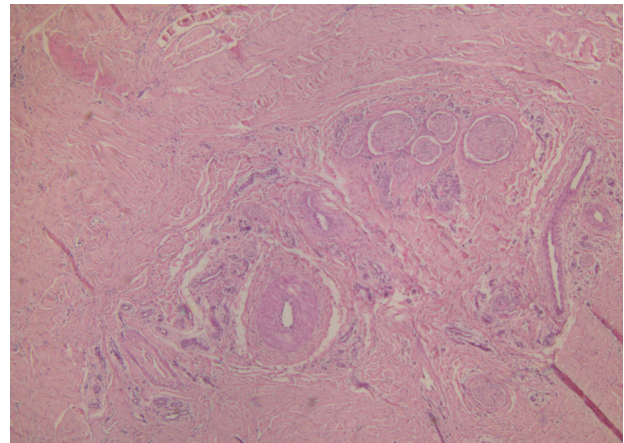


Abb. 32: Gefäße und Nerven im Stratum reticulare
profundum, HE; 200x

Elastische Fasern

Die höchste Dichte an elastischen Fasern in der Dermis besteht im Stratum papillare. Hier sind Fasergeflechte unterschiedlicher Dichte zu beobachten, die bis in die Papillen ziehen (vgl. Abb. 33-36).

Die Messzahlen liegen entsprechend der Einstufungsmethode überwiegend zwischen 3 und 4. Die Proben der Betongruppe ergaben im Median die höchste Dichte an elastischen Fasern. Hier kam signifikant häufiger eine hohe und mittlere Dichte vor als bei G1, G2 und den lateralen Kontrollproben ($p < 0,01$; vgl. Tab. 13). Zwischen der Beton-Gruppe und der Stroh-Gruppe konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Ein Vergleich der Gummivarianten mit Stroh sowie von G1, G2 und Stroh mit der lateralen Kontrollgruppe zeigte ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

elast. Fasern Str. papillare	Haltung					a,b: p-Wert
	a Beton	b G1	b G2	Stroh	b Lateral	
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6	
Median	4	3,5	3,5	3,8	3,5	< 0,01
Mittelwert	4	3,5	3,6	3,8	3,4	
Maximum	5	4,5	5	4	4	
Minimum	2	2,5	2	2,5	2	

Tab. 13: Dichte der elastischen Fasern im Stratum papillare (Messzahl 1-5) in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b: p < 0,01; MWU Test*)

Das oberflächliche Stratum reticulare weist die geringste Dichte an elastischen Fasern auf, die meisten Werte für die Dichte in dieser Schicht liegen bei der Messzahl 1, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen waren nicht festzustellen.

Im unteren Stratum reticulare nimmt die Dichte an elastischen Fasern zu, die Werte liegen hier zwischen den Messzahlen 1 und 4 mit einer deutlichen Häufung von 2 und 3. Zwischen der Beton-Gruppe, G1, G2 und der Strohhgruppe liegen keine signifikanten Unterschiede vor.

Die lateral entnommenen Hautproben in dieser Schicht weisen zwar tendenziell eine etwas höher Dichte auf, ein signifikanter Unterschied ergibt sich jedoch nur gegenüber der G1-Gruppe ($p < 0,01$; vgl. Tab. 14).

elast. Fasern Str. ret. Prof.	Haltung					a,b: p-Wert
	Beton	a G1	G2	Stroh	b Lateral	
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6	
Median	2,5	2	2	2,5	2,5	< 0,01
Mittelwert	2,4	2,2	2,3	2,4	2,7	
Maximum	3	3	3	3	3,5	
Minimum	1,5	1,5	1	2	2	

Tab. 14: Dichte der elastischen Fasern im Stratum reticulare profundum (Messzahl 1-5) in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b: p < 0,01; MWU Test*)

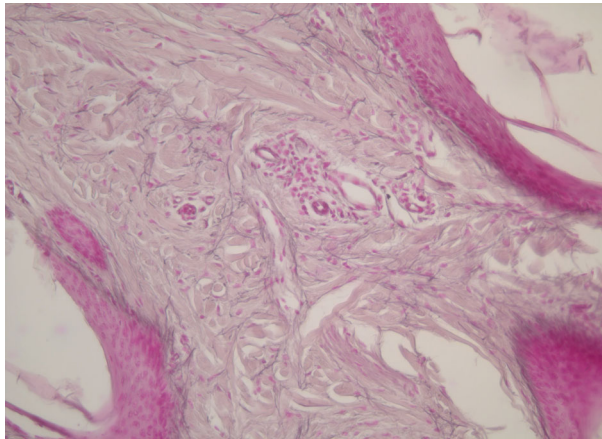


Abb. 33: Stratum papillare, Messzahl 5;
Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x

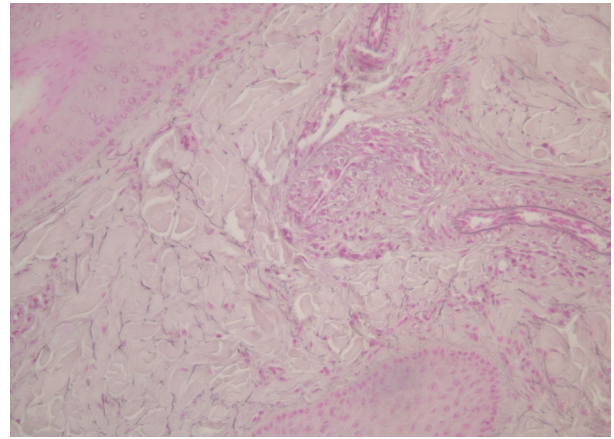


Abb. 34: Stratum papillare, Messzahl 4;
Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x

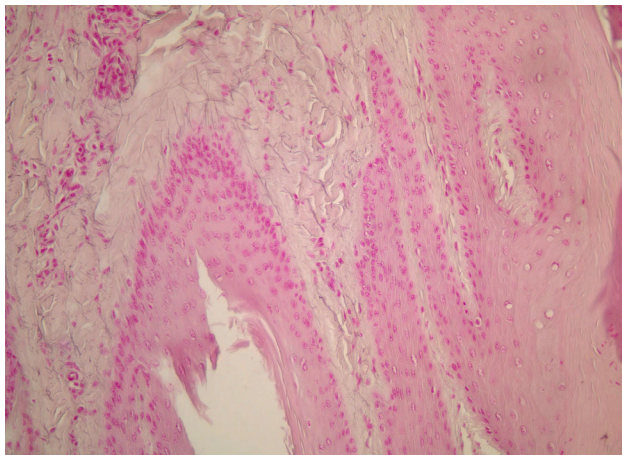


Abb. 35: Stratum papillare, elastische Fasern ziehen
in die Papille; Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x

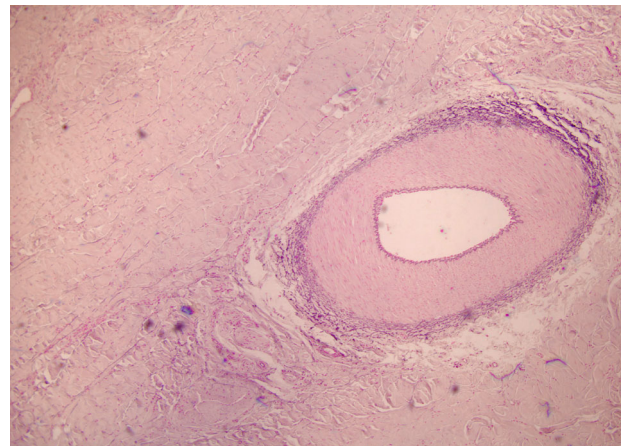


Abb. 36: Arterie im Stratum reticulare profundum;
Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x

4.3.1.3 Die Epidermis

Diese Hautschicht weist die größten morphometrischen Unterschiede auf. Die Extremwerte für die Epidermisschichtdicke reichen von 0,1 mm bei einer lateral entnommenen Hautprobe bis hin zu über 5 mm einer dorsal entnommenen Hautprobe aus der Beton-Gruppe und unterscheiden sich somit um bis zum 50-fachen (vgl. Abb. 38-41). Der Medianwert beträgt 1,4 mm bei der Betongruppe, 0,6 mm bei der G1- und bei der G2-Gruppe, 0,4 mm bei der Strohgruppe und 0,1 mm bei der lateralen Kontroll-Probe ($p < 0,01$; vgl. Abb. 37 und Tab. 15). Diese

Unterschiede ergeben zwischen G1 und G2 keine Signifikanz, ansonsten bestehen zwischen allen anderen Gruppen signifikante Unterschiede.

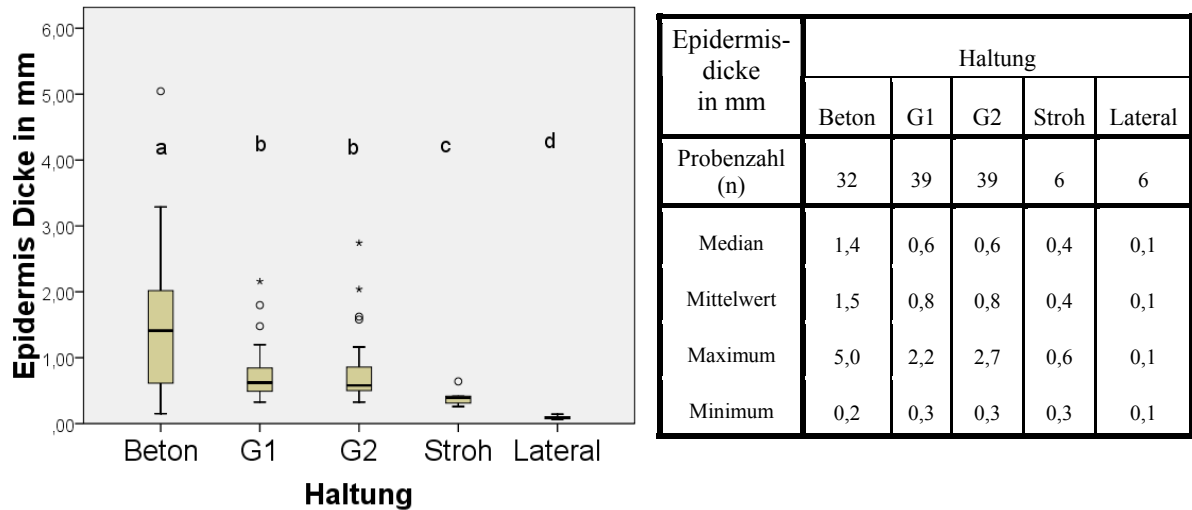


Abb. 37 (links): Epidermisdicke in Abhängigkeit von der Haltung
(a, b, c, d: $p < 0,01$; MWU Test)

Tab. 15 (rechts): Epidermisdicke in Abhängigkeit von der Haltung

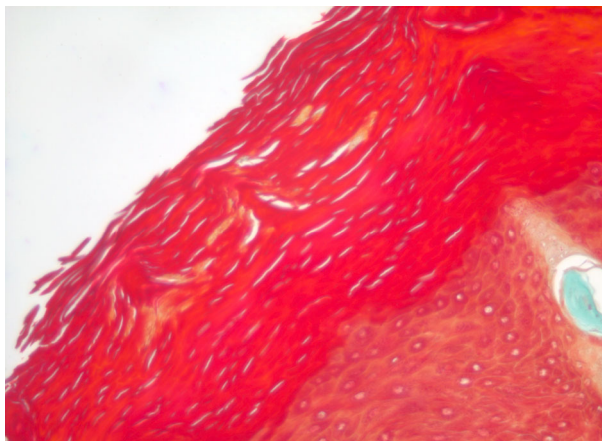


Abb. 38: Epidermis auf Betonspalten, TC; 200x

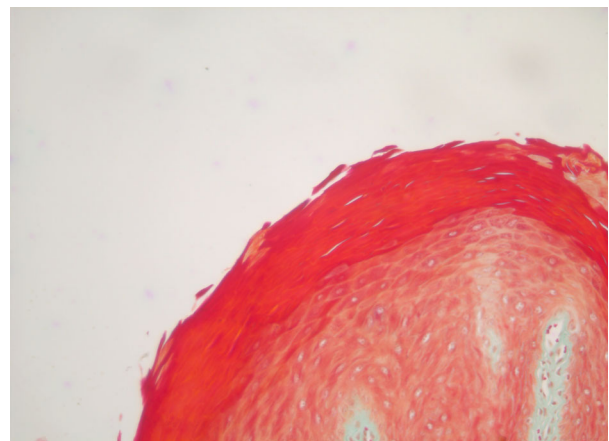


Abb. 39: Epidermis auf Gummispalten, TC; 200x

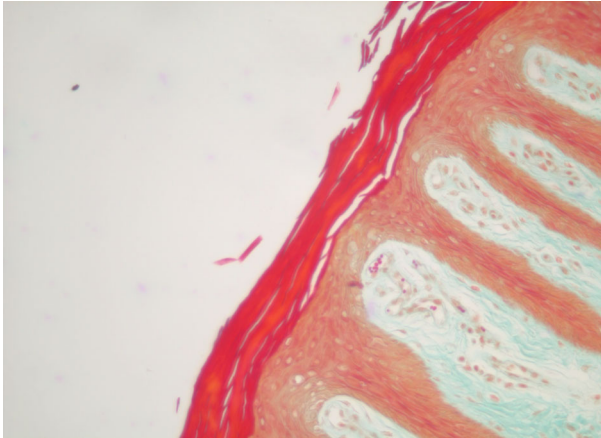


Abb. 40: Epidermis auf Strohhaltung, TC; 200x

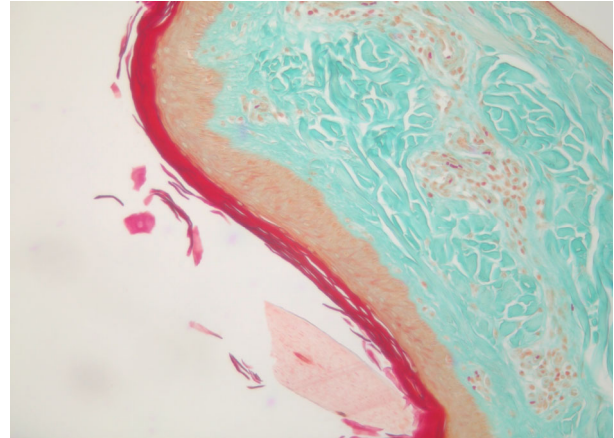


Abb. 41: Epidermis der lateralen Kontrolle, TC; 200x

Stratum basale

Die Zellen des Stratum basale besitzen eine schmale, längliche Form, welche sich scheinbar nach der Hautoberfläche streckt. An den Seiten des Papillarkörpers bekommen sie dadurch eine fischgrätenförmige Aufstellung. In der histologischen Färbung werden im Stratum basale verstärkt basophile Zellstrukturen durch die Hämatoxilin, Eisenhämatoxilin und Toluidin angefärbt (vgl. Abb. 42).

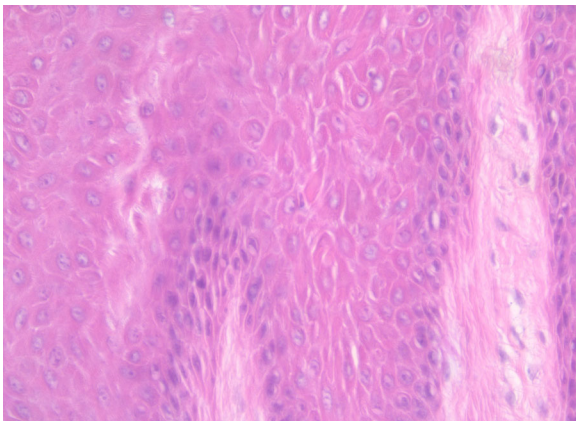


Abb. 42: Stratum basale und unteres Stratum spinosum, HE; 400x

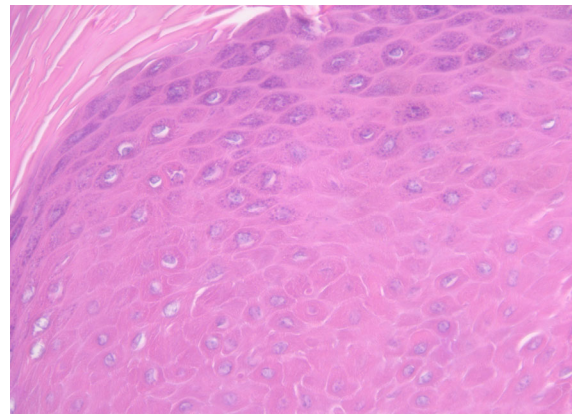


Abb. 43: oberes Stratum spinosum und Stratum granulosum, HE; 400x

Stratum spinosum

An das einlagige Stratum basale schließt sich das Stratum spinosum an, dessen Zellen eine deutlich kubischere Form entwickeln. Im Stratum spinosum dominieren die azidophilen Farb-

stoffe Eosin (HE) und Azophloxin (TC). Im Übergang zum Stratum granulosum flacht die Zellstruktur ab und bekommt eine eher elliptische Form. Neben den Keratohyalin granula werden hier auch wieder vermehrt Zellkernbestandteile von den oben genannten basophilen Farbstoffen angefärbt (vgl. Abb. 42 und 43).

Die Dicke des Stratum spinosum ergibt sich aus der Höhe des Papillarkörpers. Auch hier hebt sich die Betongruppe mit einem Medianwert von 0,9 mm von allen andern Gruppen deutlich ab. Bei G1 mit 0,5 mm und G2 mit 0,4 mm liegen die Werte nah beieinander. Bei den Strohtieren fällt der Medianwert auf 0,3 mm. Bei der lateralen Kontrolle liegt er nur bei 0,1 mm. Während zwischen G1 und G2 bzw. zwischen G2 und der Strohgruppe keine signifikanten Unterschiede bestehen, sind die Unterschiede zwischen allen anderen Gruppen signifikant ($p < 0,01$; vgl. Abb. 44 und Tab. 16).

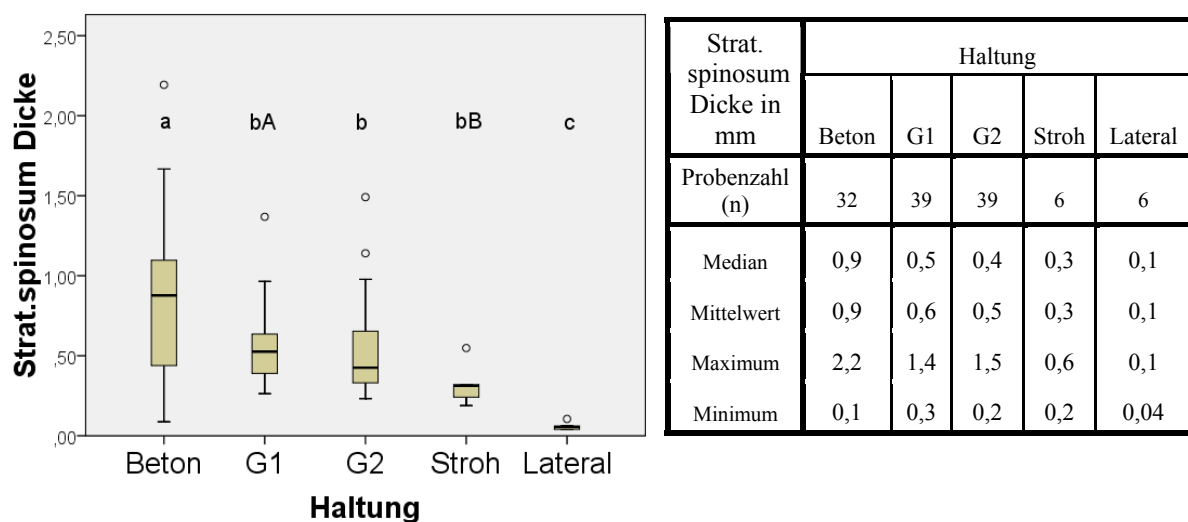


Abb. 44 (links): Dicke des Stratum spinosum in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b, c, A, B*: $p < 0,01$; MWU Test)

Tab. 16 (rechts): Dicke des Stratum spinosum in Abhängigkeit von der Haltung

Zelllagen des Stratum granulosum

Präparate der Beton-Gruppe weisen im Median 8,3 Granulosazelllagen auf, während G1 und G2 beide im Schnitt 3 Zelllagen besitzen. Auf Stroh hingegen werden nur 2,3 und in den Hautproben der lateralen Kontrolle nur 0,9 Granulosazelllagen gebildet. In den unbelasteten Präparaten der lateralen Kontrolle ist die einzige Granulosazelllage häufig diskontinuierlich. Zwischen den Granulosazelllagen der Gummivarianten und der Strohgruppe waren keine signifikanten Unterschiede zu ermitteln (vgl. Abb. 45-48). Alle anderen Gruppen weisen jedoch

hinsichtlich der Granulosazelllagen signifikante Unterschiede zueinander auf ($p < 0,01$; vgl. Abb. 49 und Tab. 17).

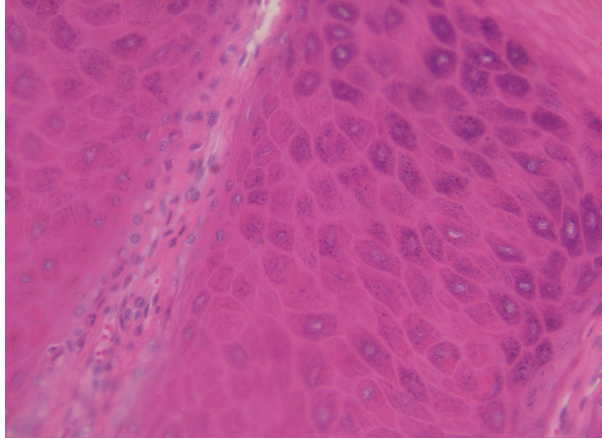


Abb. 45: Beton-Gruppe,
Granulosazelllagen, HE; 400x

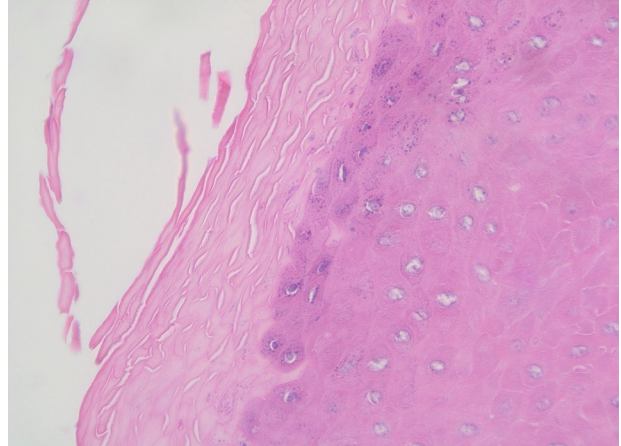


Abb. 46: G1,
Granulosazelllagen, HE; 400x

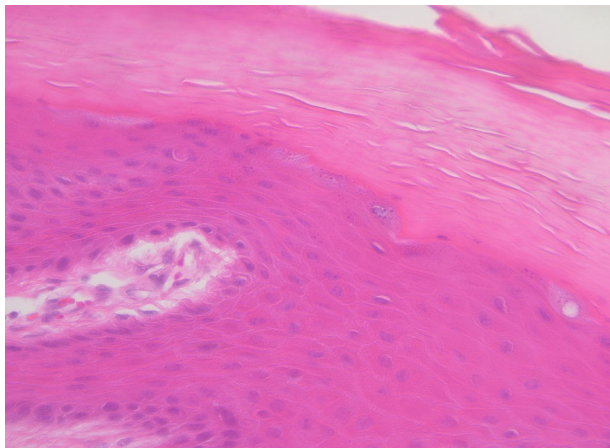


Abb. 47: Stroh-Gruppe,
Granulosazelllagen, HE; 400x

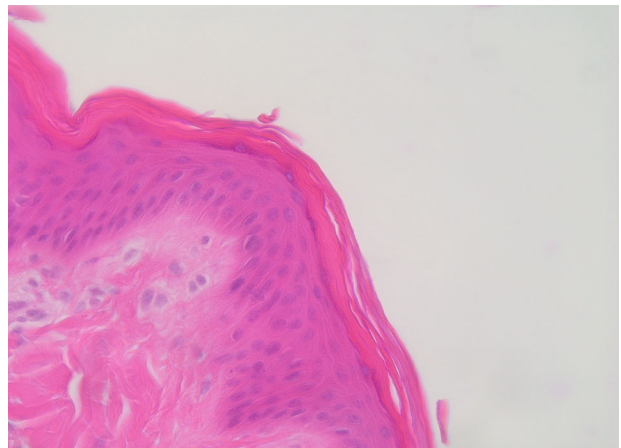


Abb. 48: laterale Kontrolle,
diskontinuierliche Granulosazelllage, HE; 400x

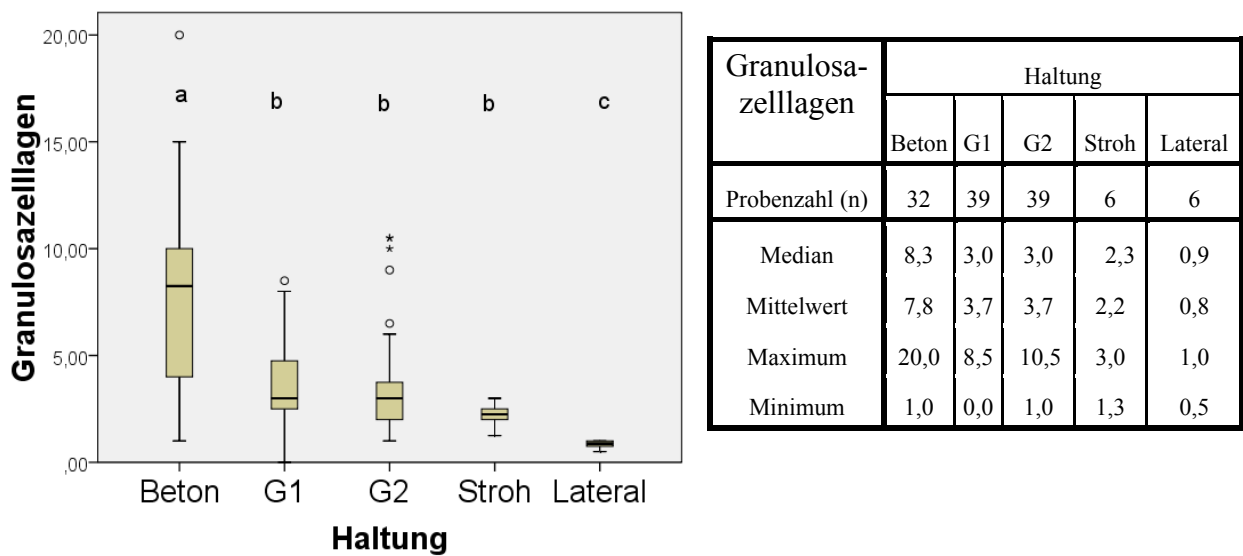


Abb. 49 (links): Durchschnittliche Anzahl der Granulosazelllagen in Abhängigkeit von der Haltung (*a, b, c: p < 0,01; MWU Test*)

Tab. 17 (rechts): Durchschnittliche Anzahl der Granulosazelllagen in Abhängigkeit von der Haltung

Stratum corneum

In dieser Schicht verschwinden in der Regel die Zellkernbestandteile abrupt, auch das Färbeverhalten verändert sich schlagartig. In der HE-Färbung dominiert das Eosin, in der Rhodaminfärbung werden die jungen Hornzellen intensiv dunkel-rosa angefärbt. In der Trichromfärbung werden die Hornzellen von Azophloxin und Phosphormolybdän in roten Farbtönen dargestellt.

Auffallend ist in Vergleichspräparaten, dass jene Zellen, die sich intensiv mit Rhodamin anfärben, sich auch in der Trichromfärbung in intensiven Rottönen darstellen, während sie in der HE-Färbung deutlich schwächer von Eosin angefärbt werden als das übrige Stratum corneum. Jene Zellen des Stratum corneum, die eine Chromophobie für Rhodamin aufweisen, scheinen sich auch nicht mit den roten Farbstoffen der Trichrom-Färbung zu färben, dagegen jedoch mit Lichtgrün. In der HE-Färbung verstärkt sich hier der Einfluss von Eosin noch. Während die Zellen im Stratum corneum zunehmend flacher werden, wird der Interzellularspalt mikroskopisch gut sichtbar, in der Rhodaminfärbung ist er als weißer Streifen erkennbar, durch die PAS-Reaktion färbt er sich in leuchtendes Rosa-Violett (vgl. Abb. 50-55).

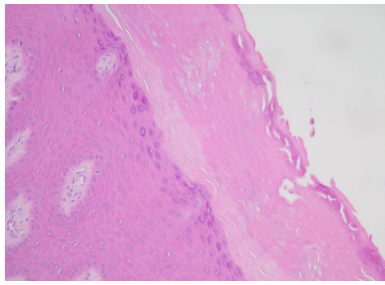


Abb. 50: Färbeverhalten von Epidermis mit HE; 200x

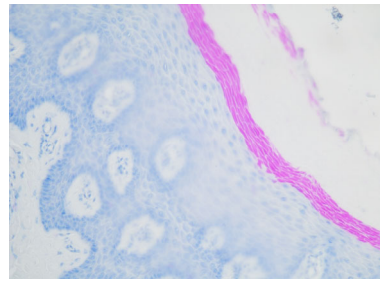


Abb. 51: Färbeverhalten von Epidermis mit R/T; 200x

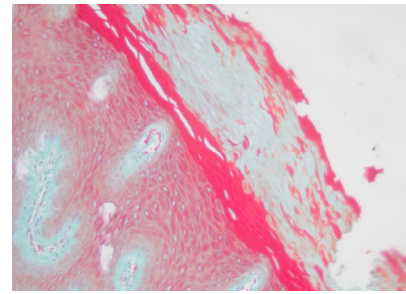


Abb. 52: Färbeverhalten von Epidermis in TC; 200x

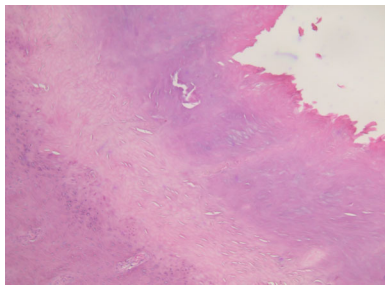


Abb. 53: Färbeverhalten von Epidermis mit HE; 100x

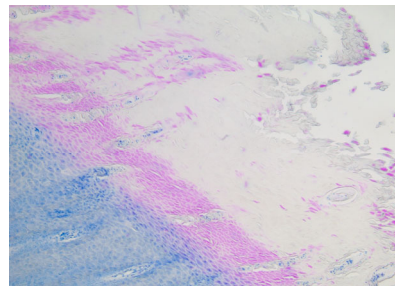


Abb. 54: Färbeverhalten von Epidermis mit R/T; 100x

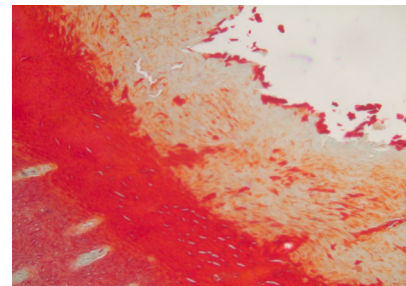


Abb. 55: Färbeverhalten von Epidermis in TC; 100x

Das Stratum corneum trägt am stärksten zu den Schichtdickenunterschieden der Epidermis bei. Hier liegt die Dicke der Betongruppe im Median bei 0,58 mm. G1 und G2 kommen auf Dicken von 0,13 bzw. 0,16 mm. In der Strohgruppe beträgt sie 0,08 mm und in der lateralen Kontrolle schließlich nur noch 0,03 mm, etwa 7% der Dicke des Stratum corneum in der Beton-Gruppe. Sämtliche Gruppen mit Ausnahme von G1 und G2 weisen zueinander signifikante Unterschiede auf ($p < 0,01$; vgl. Abb. 56 und Tab. 18).

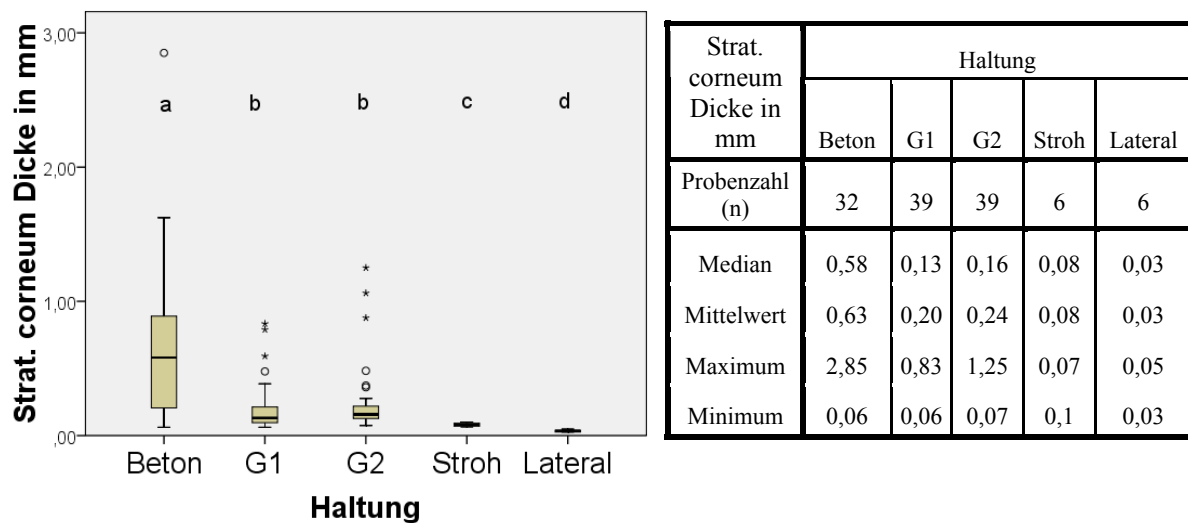


Abb. 56 (links): Durchschnittliche Dicke des Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung (a, b, c, d: $p < 0,01$; MWU Test)

Tab. 18 (rechts): Durchschnittliche Dicke des Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung

4.3.2 Mitoseraten der Epidermis

Zur Zählung der Mitosen war in erster Linie die Feulgenfärbung vorgesehen. Bei den Färbungen im Rahmen dieser Arbeit konnte jedoch mit Toluidin eine bessere Darstellung der Zellteilung erzielt werden, weshalb die Auswertung an den Rhodamin/Toluidin-gefärbten Präparaten durchgeführt wurde (vgl. Abb. 57-62). Die höchste Dichte an Mitosen kann im interpapillären Bereich des Stratum basale festgestellt werden. Vereinzelt sind suprabasale Mitosen zu sehen (vgl. Abb. 61). Extrem hohe Mitosedichten sind in der Nähe von Läsionen und Entzündungen anzutreffen (vgl. Abb. 62).

Die höchste Mitoserate liegt bei den Betonpräparaten vor. Sie erreicht hier einen Medianwert von 3,9/mm Schnittlänge. Bei G1 fällt sie auf 2,0/mm und erreicht bei G2 nur 1,3/mm. In der Strohgruppe steigt der Wert wieder auf 1,5/mm. Die Mitoserate der lateralen Kontrolle beträgt nur 0,3/mm und ist somit signifikant niedriger als die aller Versuchsgruppen. Darüber hinaus kann nur noch für die Unterschiede zwischen der Betongruppe und den Gummivarianten ein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Die Unterschiede zwischen Beton und Stroh bzw. zwischen G1 und G2 zeigen lediglich eine Tendenz. Zwischen den Gummivarianten und Stroh bestehen keine signifikanten Unterschiede ($p < 0,01$; vgl. Abb. 63 und Tab. 19).

Auffallend bei der Strohgruppe ist die breite Streuung der Werte und das Vorliegen einiger Proben mit sehr hohen Werten (ein Maximalwert von 10,5 Mitosen/mm), die zu einem Mittelwert führen, welcher über den Mittelwerten von G1 und G2 liegt.

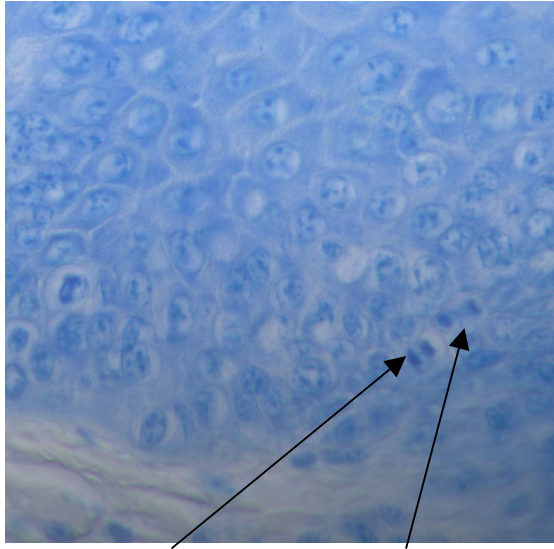


Abb. 57: Anaphase und Telophase, R/T; 400x

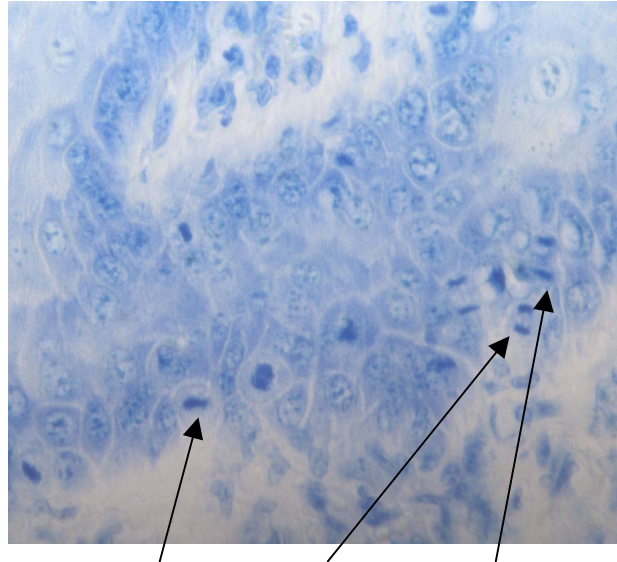


Abb. 58: Metaphase, Anaphase und Telophase, R/T; 400x

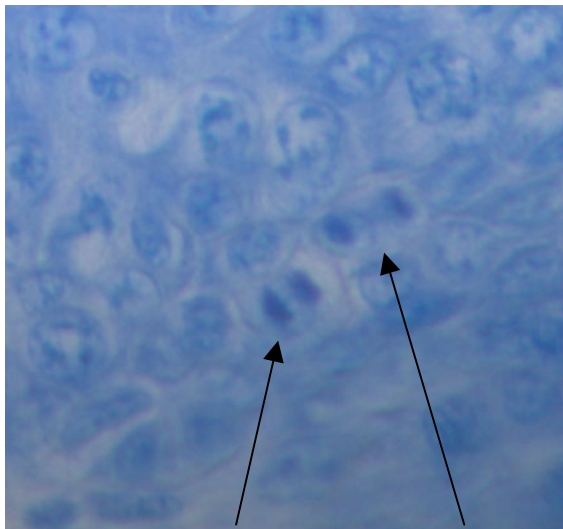


Abb. 59: Anaphase und beginnende Telophase, R/T; 800x

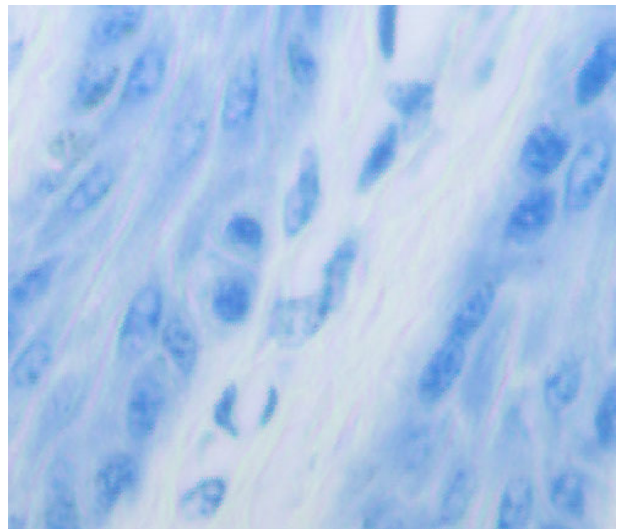


Abb. 60: Zytokinese, R/T; 800x

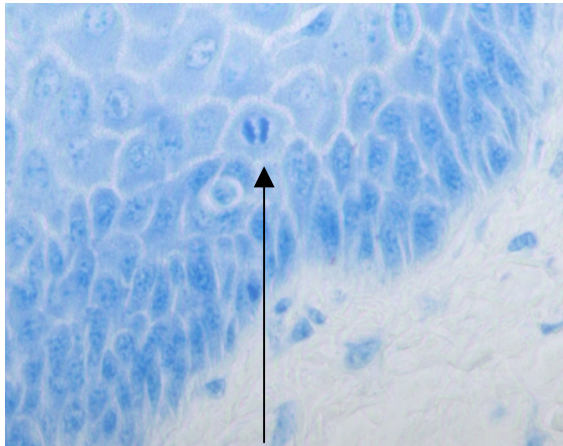


Abb. 61: Suprabasale Mitose, R/T; 400x

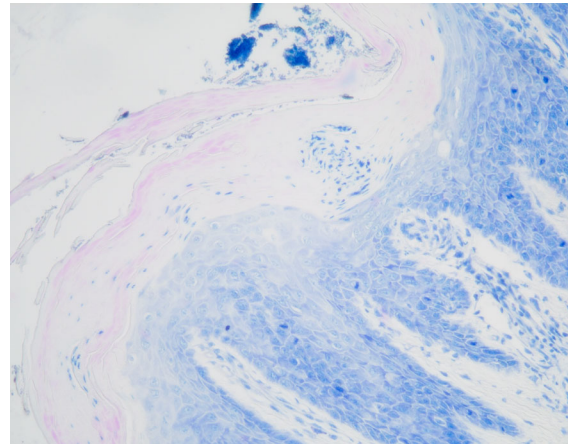
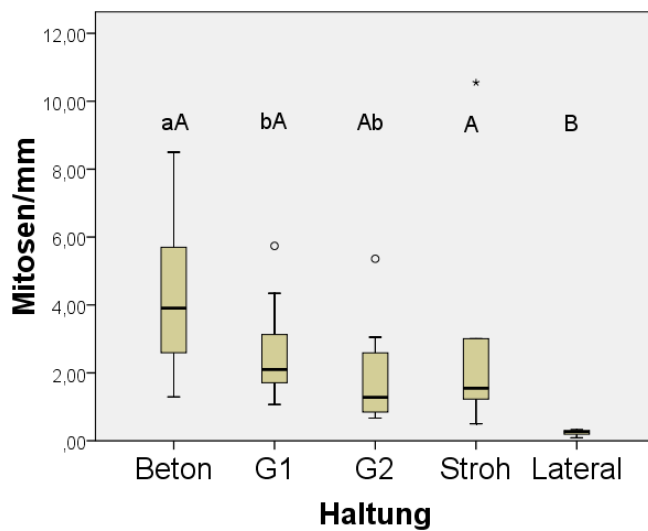


Abb. 62: Stroh-Gruppe, Zellkerne im Stratum corneum, Entzündungszellen, erhöhte Mitoserate, R/T; 200x



Mitosen	Haltung				
	Beton	G1	G2	Stroh	Lateral
Probenzahl (n)	17	18	18	6	6
Median	3,9	2,0	1,3	1,5	0,3
Mittelwert	4,3	2,4	1,8	3,1	0,2
Maximum	8,5	5,7	5,4	10,5	0,3
Minimum	1,3	1,1	0,7	0,5	0,1

Abb. 63 (links): Durchschnittliche Anzahl an Mitosen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung. (*a, b, A, B: p < 0,01; MWU Test*)

Tab. 19 (rechts): Durchschnittliche Anzahl an Mitosen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung.

4.3.3 Entzündungszellen

Für die Darstellung von Entzündungszellen eignet sich die Toluidinfärbung besonders gut. In den entzündungspositiven Hautproben können Ansammlungen von Lymphozyten und Granulozyten festgestellt werden. Auffallend ist, dass in dieser Auswertung die Stroh-Gruppe das höchste Vorkommen an Entzündungszellen aufweist. Hier treten sie mit einer Häufigkeit von 25% auf, was 3 von 12 Gelenksproben entspricht (zu beachten ist, dass durch die Aggregation der Daten eines Tieres zum arithmetischen Mittel der Wert von 0,5 dem positiven Befund an einem Gelenk entspricht).

Allerdings scheinen die wenigen Proben die Tendenz zu zeigen, dass sich das Entzündungsgeschehen bei dieser Haltungsvariante primär in den oberflächlichen Hautschichten, im Stratum corneum abspielt (vgl. Abb. 65). Bei G1 und G2 liegen die Häufigkeiten von positiven Proben bei 7,5 bzw. 6,5%, auch hier ist bei den wenigen positiven Proben eine Tendenz sichtbar, dass die Entzündungen weniger in die Tiefe gehen, sondern sich in erster Linie im Stratum corneum abspielen (vgl. Abb. 60).

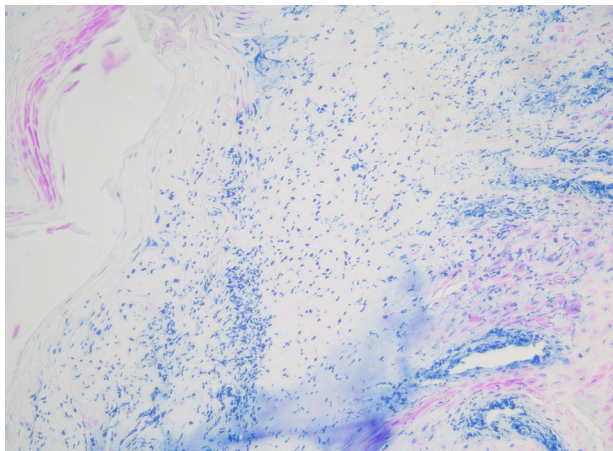


Abb. 64: G1,
starke Entzündung im Stratum corneum, R/T;
200x

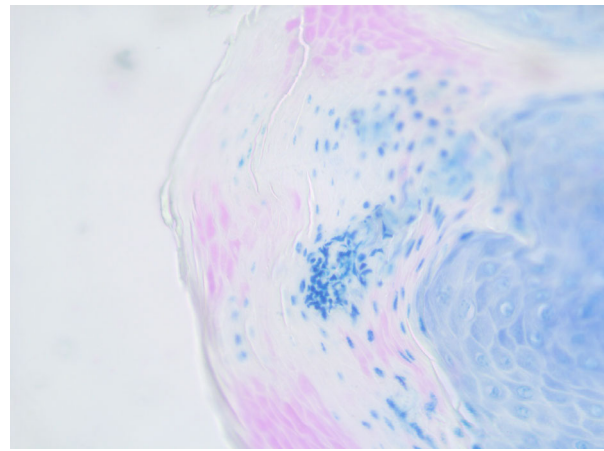


Abb. 65: Stroh-Gruppe,
Entzündungszellen im Stratum corneum,
beidseits davon Hornzellen mit Zellkernen, R/T;
400x

In der Beton-Gruppe kommen Entzündungszellen in 19% der Proben vor. Im Gegensatz zur Stroh-Gruppe scheint hier das Entzündungsgeschehen in der Regel tiefer zu gehen, in 16% der Proben sind die Entzündungszellen bis in die Dermis konzentriert. Die mikroskopische Betrachtung gibt Hinweise dafür, dass das Vorkommen von Entzündungen in dieser Untersu-

chungsgruppe oft mit mechanischen Beschädigungen der Haut einhergeht (vgl. Abb. 66), während bei der Strohgruppe keine Epidermisverletzungen zu beobachten sind (vgl. Abb. 65 und Tab. 20).

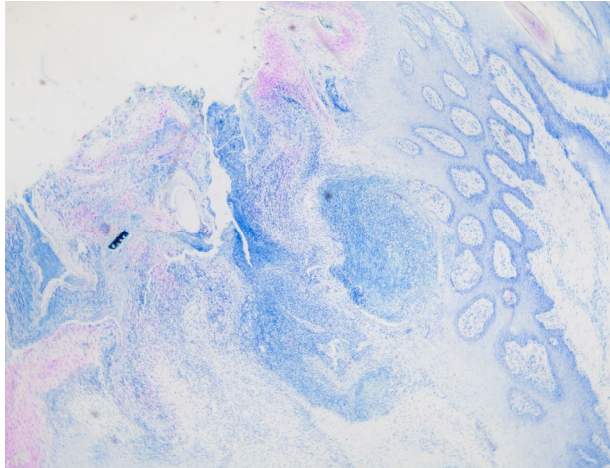


Abb. 66: Beton-Gruppe, Epidermisdecke zerstört, starke Entzündung im Stratum corneum und –spinosum, R/T; 50x

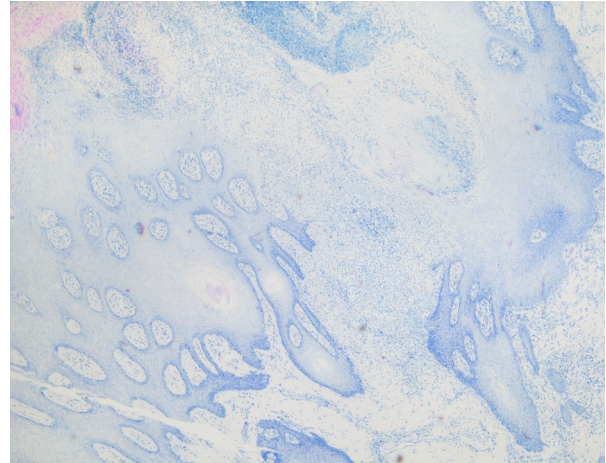


Abb. 67: Beton-Gruppe, Entzündung hat die Basalmembran zerstört und ist in die Dermis vorgedrungen, R/T; 50x

Vorkommen von Entzündungszellen	Haltung					p-Wert
	Beton	G1	G2	Stroh	Lateral	
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6	
nur Strat. corneum	19% (6)	7,5% (3)	6,5% (2,5)	25% (1,5)	8,5% (0,5)	n.s.
bis Strat. spinosum	15,5% (5)	4% (1,5)	1,5% (0,5)	8,5% (0,5)	8,5% (0,5)	n.s.
bis Dermis	15,5% (5)	4% (1,5)	1,5% (0,5)	8,5% (0,5)	8,5% (0,5)	n.s.

Tab. 20: Anzahl und Häufigkeit des Vorkommens von Entzündungszellen in den Hautproben und deren Lokalisation in Abhängigkeit von der Haltung

Trotz der auffälligen Ergebnisse können im Chi-Quadrat-Test für das Stratum corneum keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ermittelt werden. Dies liegt möglicherweise an der vor allem in der Stroh- und lateralen Kontrollgruppe niedrigen Vergleichsprobennzahl.

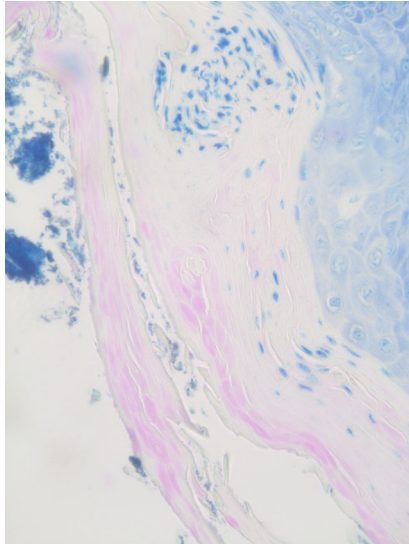


Abb. 68: Stroh-Gruppe, Zellkerne und Entzündungszellen im Stratum corneum, R/T; 400x

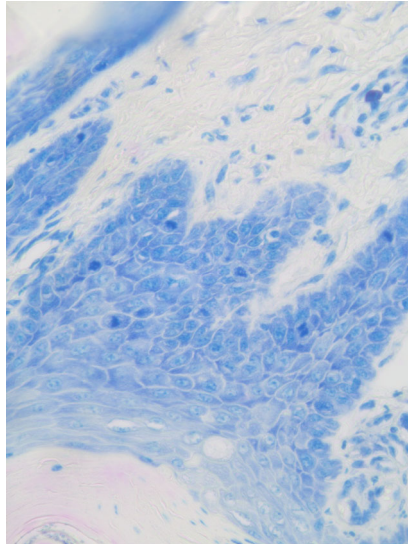


Abb. 69: Stroh-Gruppe, erhöhte Mitoserate, R/T; 400x

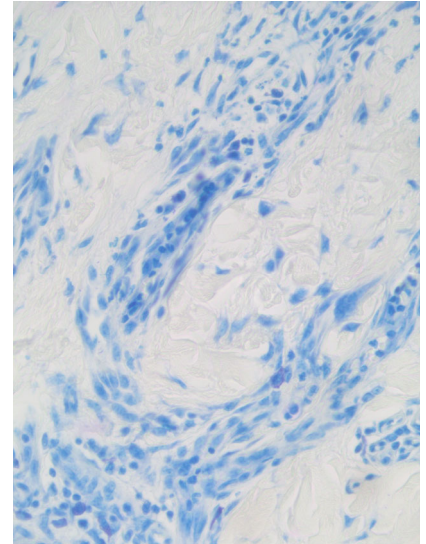


Abb. 70: Stroh-Gruppe, Entzündungszellen in Dermis, R/T; 400x

4.3.4 Verhornung

4.3.4.1 Kernhaltige Zellen im Stratum corneum

Wie beim Nachweis von Mitosen erweist sich Toluidin mit seiner Affinität zu den basophilen Bestandteilen des Zellkerns als zweckmäßige Färbung, um jene Zellen im Stratum corneum zu erkennen, bei welchen die Zellkerne während des Verhornungsprozesses nicht vollständig abgebaut wurden (vgl. Abb. 71 und 72). Mit der in Material und Methoden beschriebenen Einteilung dieser Zellen nach Häufigkeit des Auftretens in Stufen von 1-5 ergibt sich bei der Betongruppe ein Medianwert von 2, bei G1 und G2 hingegen nur ein Wert von 0,5. Bei der Strohgruppe ist wieder ein Anstieg zu verzeichnen. Der Medianwert ihrer Konzentration liegt nahe bei der Beton-Gruppe, nämlich bei 1,8. Am geringsten ist das Vorkommen von Zellkernen in den Proben der lateralen Kontrolle. Hier ergibt sich nur ein Medianwert von 0,1 (vgl. Abb. 73 und Tab. 21).

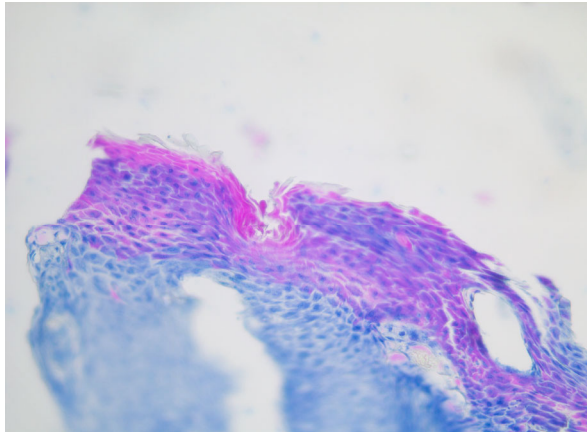


Abb. 71: Beton-Gruppe,
Zellkerne im Stratum corneum, R/T; 200x

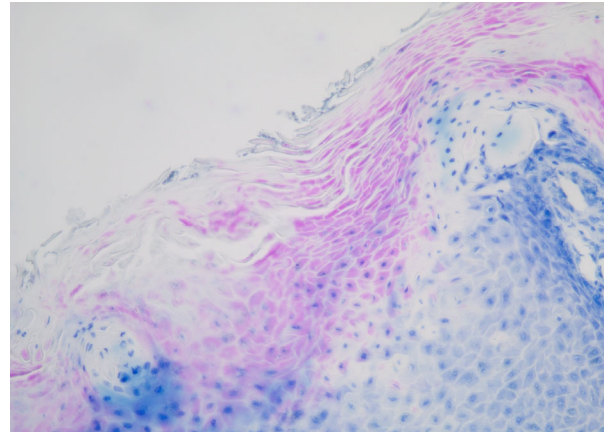


Abb. 72: Beton-Gruppe,
Zellkerne im Stratum corneum, R/T; 200x

Als signifikant erweisen sich die Unterschiede zwischen der Beton-Gruppe und der G1- bzw. G2-Gruppe. Zwischen der Beton- und der Strohhgruppe können keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden. Zwischen G1 und G2 bzw. zwischen den Gummispalten- und der Strohhgruppe bestehen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Die Unterschiede zwischen der laterale Kontrolle und den Haltungsgruppen erweisen sich lediglich zur Betongruppe als signifikant ($p < 0,01$, vgl. Abb. 73).

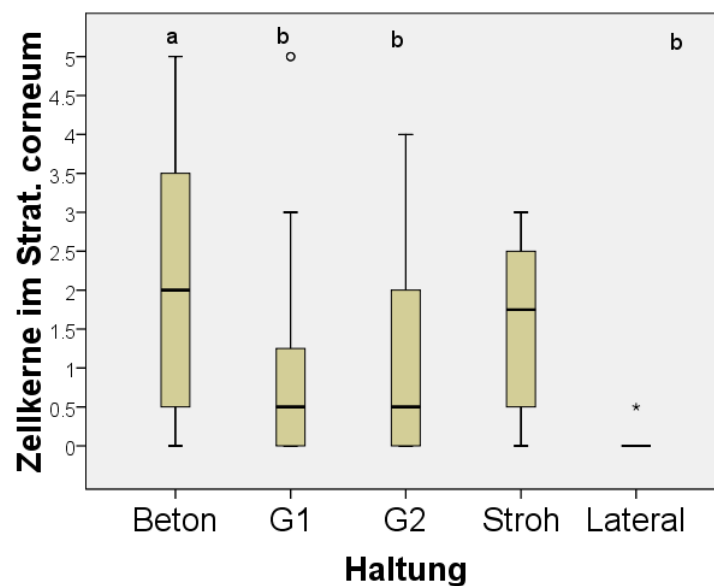


Abb. 73: Durchschnittliche Häufigkeit von Zellkernen im Stratum corneum (Messzahl 0-5)
(a, b: $p < 0,01$; MWU Test)

Zellkerne im Strat. corneum	Haltung				
	Beton	G1	G2	Stroh	Lateral
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6
Median	2	0,5	0,5	1,8	0,1
Mittelwert	2,2	1,1	0,9	1,6	1,1
Maximum	5	5	4	3	0,5
Minimum	0	0	0	0	0

Tab. 21: Durchschnittliche Häufigkeit von Zellkernen im Stratum corneum (Messzahl 0-5)

4.3.4.2 Die Rhodaminfärbung des Stratum corneum

Rhodamin färbt insbesondere die jungen Zellen des Stratum corneum, vereinzelt ist eine Chromophobie der Übergangszellen zu beobachten. Der Interzellularraum bleibt ebenfalls ungefärbt und zeichnet sich als weiße Linie zwischen den Hornzellen ab, wodurch sich der Eindruck einer Backsteinmauer mit weißem Mörtel ergibt. Mit zunehmender Dicke des Stratum corneum zeigen die oberen Lagen des Stratum corneum wieder eine vermehrte Chromophobie (vgl. Abb. 74 und 75).

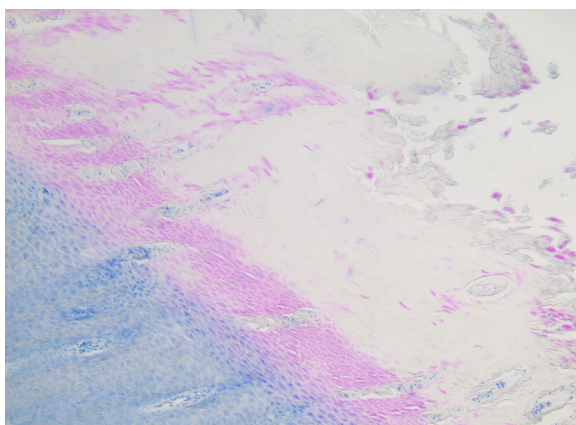


Abb. 74: Beton-Gruppe, Rhodaminfärbung des Stratum corneum, chromophobe obere Lagen, R/T; 100x

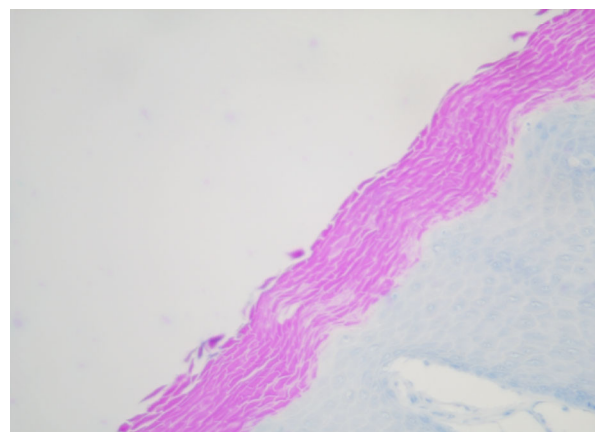


Abb. 75: G1, Rhodaminfärbung des Stratum corneum, R/T; 200x

Die Zahl der Rhodamin-gefärbten Zellschichten ist bei der Beton-Gruppe, aufgrund der insgesamt dickeren Epidermis, höher als bei allen anderen Gruppen. Sie liegt hier bei 20 Zellschichten im Median. Signifikante Unterschiede ergeben sich zu G1 und der Strohhgruppe. Die anderen Haltungsguppen weisen mit 13-15 gefärbten Zellschichten untereinander nur geringe bzw. keine signifikanten Unterschiede auf. Die laterale Kontrolle besitzt im Median 5 und somit signifikant weniger gefärbte Zellschichten als alle Haltungsguppen außer der Strohhgruppe ($p < 0,01$, vgl. Abb. 76 und Tab. 22).

Auch die Anzahl an Zellschichten, die sich als chromophob für Rhodamin erweisen, ist bei der Beton-Gruppe signifikant höher als bei allen anderen Haltungsguppen. Hier sind im Median nur 53% der Zellschichten gefärbt, während bei G1 und G2 der Anteil an Rhodamin-gefärbten Zellschichten bei 70 bzw. 80% liegt. Bei der Strohhvariante und der lateralen Kontrolle liegen die Medianwerte bei 98 bzw. 95%. Aufgrund der großen Streuung können signifikante Unterschiede nur zwischen der Betongruppe und G2 bzw. der Strohhgruppe festgestellt werden ($p < 0,01$, vgl. Abb. 77 und Tab. 22).

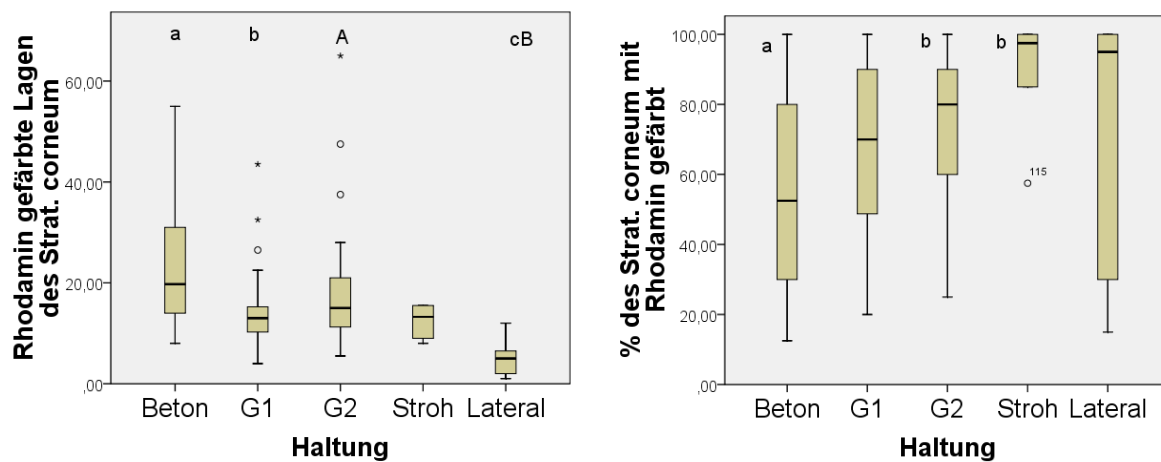


Abb. 76 (links): Anzahl Rhodamin-gefärbter Zellschichten in Abhängigkeit von der Haltung
(*a, b, c, A, B*: $p < 0,01$; *MWU Test*)

Abb. 77 (rechts): Anteil der Rhodamin-gefärbten Zellschichten an der Gesamtdicke im Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung
(*a, b*: $p < 0,01$; *MWU Test*)

Rhodamin-gefärbte Lagen	Haltung				
	Beton	G1	G2	Stroh	Lateral
Probenzahl (n)	32	39	39	6	6
Median	20 (53%)	13 (70%)	15 (80%)	13 (98%)	5 (95%)
Mittelwert	24 (54%)	14 (69%)	18 (73%)	12 (90%)	5 (73%)
Maximum	55 (100%)	44 (100%)	65 (100%)	16 (100%)	12 (100%)
Minimum	8 (13%)	4 (20%)	5,5 (25%)	8 (57%)	1 (15%)

Tab. 22: Anzahl Rhodamin-gefärbter Zellschichten und deren Anteil an der Gesamtdicke im Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung

4.3.4.3 Vorkommen von SH- und SS-Gruppen

Der SH-Gruppen Nachweis durch die DDD-Reaktion fällt im Stratum basale, im Stratum spinosum und Stratum granulosum schwach- bis schwach-mittelgradig positiv aus und weist auf geringe bis geringste Konzentrationen an SH-Gruppen in dieser Schicht hin. Die tendenziell höheren Konzentrationen in der Strohhgruppe und der lateralen Kontrolle sind nur zwischen G1 und der Strohhgruppe signifikant. In der Übergangszone steigt die Konzentration an SH-Gruppen auf schwach bis mittelgradig an, auch hier fällt das Ergebnis der Strohhgruppe und der lateralen Kontrolle tendenziell höher aus, ist aber wiederum nur zwischen G1 und der Strohhgruppe signifikant ($p < 0,01$; vgl. Tab. 23).

Im unteren Stratum corneum fällt in den meisten Proben die SH-Konzentration wieder stark ab, mit Ausnahme der Betongruppe. Hier steigt die durchschnittliche Konzentration noch einmal auf mittelgradig an, aufgrund der großen Streubreite der Werte entstehen jedoch keine signifikanten Unterschiede. Auffallend ist, dass Präparate, in denen die Zellen dieser Schicht eine intensive SH-Gruppenfärbung aufweisen, in der R/T-Färbung auch von Rhodamin angefärbt werden, während die darüber liegenden Schichten tendenziell chromophob sind (vgl. Abb. 80-82).

In den alten Hornzellen des oberen Stratum corneum fällt das Ergebnis des SH-Gruppennachweises schließlich überwiegend negativ aus. Signifikante Unterschiede sind somit auch hier nicht mehr nachweisbar (vgl. Tab. 23).

SH-Gruppen-Färbung	Haltung					p-Wert
	Beton	a G1	G2	b Stroh	Lateral	
Probenzahl	8	5	6	5	5	
Str. basale Median (Mittelwert)	1(1,3)	1(0,9)	1(1,1)	2(1,8)	2(1,8)	a,b: < 0,01
Str. spinosum Median (Mittelwert)	1(1,4)	1(0,9)	1(1,3)	2(1,8)	2(1,8)	a,b: < 0,01
Str. granulosum Median (Mittelwert)	1(1,4)	1(0,9)	1(1,3)	2(1,5)	2(1,8)	a,b: < 0,01
Übergangszone Median (Mittelwert)	2(2,1)	2(1,4)	2(1,8)	3(2,8)	3(2,8)	a,b: < 0,01
Str. corneum conjunctum Median (Mittelwert)	3(2,8)	1(1,2)	0(0,5)	1(1,8)	0(0,2)	n.s.
Str. corneum disjunctum Median (Mittelwert)	0(0,4)	0(0)	0(0)	0(0,4)	0(0)	n.s.

Tab. 23: Ergebnisse des SH-Gruppenachweises in den einzelnen Schichten der Epidermis

Der SS-Gruppenachweis ist in den Schichten vom Stratum basale bis Stratum granulosum negativ bis schwach positiv und steigt in der Übergangszone auf schwach bis mittelgradig an. Im Stratum corneum steigt die Konzentration schließlich auf mittelgradige bis stark positive Werte an, tendenziell ist die Konzentration in der Betongruppe etwas niedriger.

Signifikant Unterschiede waren hinsichtlich der SS-Gruppen-Konzentration in keiner Schicht nachzuweisen (vgl. Tab. 24).

SS-Gruppen-Färbung	Haltung					p-Wert
	Beton	G1	G2	Stroh	Lateral	
Probenzahl	8	5	6	5	5	
Str. basale Median (Mittelwert)	0,3(0,4)	1(1,2)	1(1)	1(1)	1(1)	n.s.
Str. spinosum Median (Mittelwert)	0,8(0,7)	1(1,2)	1(1)	1(1)	1(1)	n.s.
Str. granulosum Median (Mittelwert)	0,8(0,7)	1(1,2)	1(1)	1(1)	1(1)	n.s.
Übergangszone Median (Mittelwert)	2(2)	2(2,6)	2,5(2,7)	2(2,1)	2(2,2)	n.s.
Str. corneum conjunctum Median (Mittelwert)	3,8(3,6)	4(4)	3,5(3,5)	4(3,8)	4(3,6)	n.s.
Str. corneum disjunctum Median (Mittelwert)	3(3,4)	4(3,6)	4(3,7)	4(3,5)	4(3,8)	n.s.

Tab. 24: Ergebnisse des SS-Gruppenachweises in den einzelnen Schichten der Epidermis

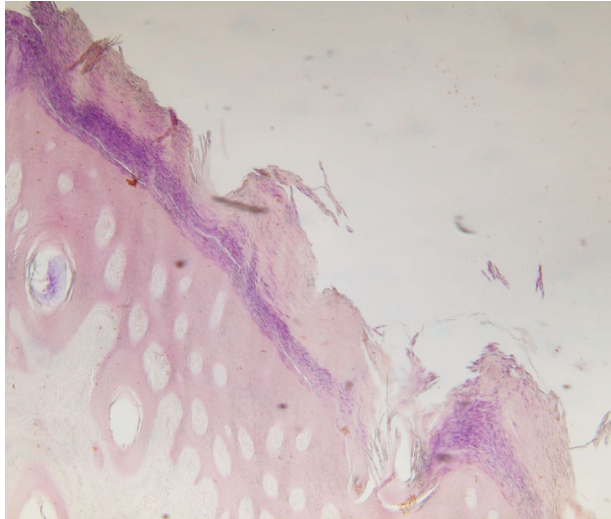


Abb. 78: Beton-Gruppe,
SH-Gruppen-Nachweis mit DDD-Reaktion; 100x

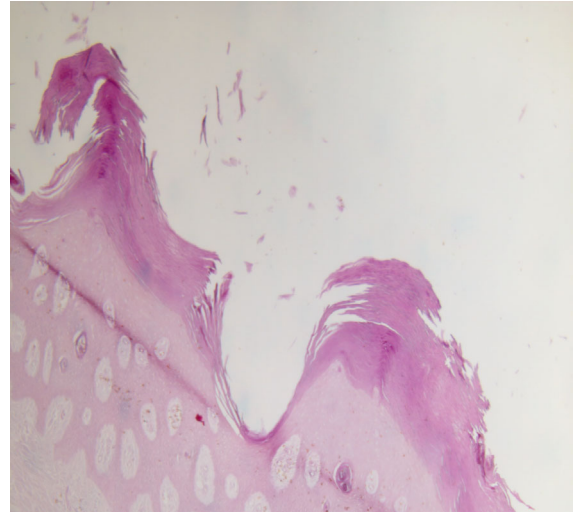


Abb. 79: Beton-Gruppe,
SS-Gruppen-Nachweis mit DDD-Reaktion; 100x

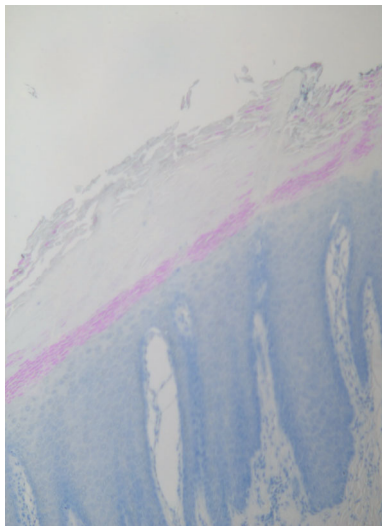


Abb. 80: G1,
R/T Färbung der Epidermis;
200x

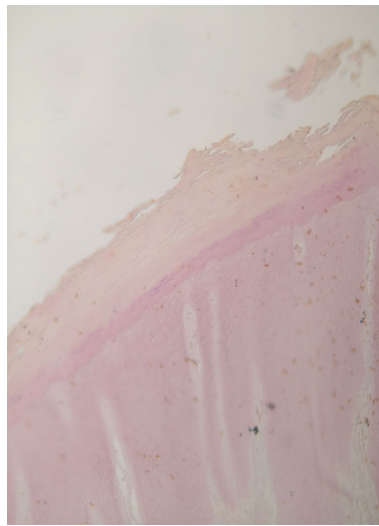


Abb. 81: G1,
SH-Gruppen-Färbung in der
Epidermis; 200x

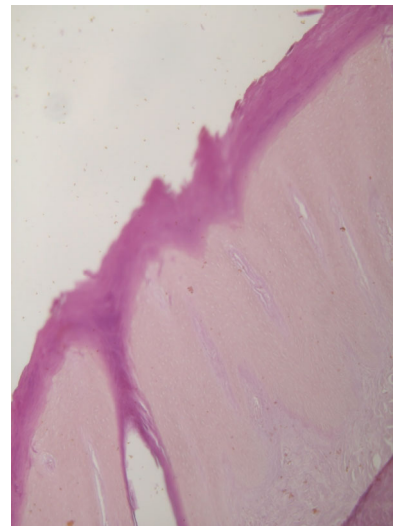


Abb. 82: G1,
SS-Gruppen-Färbung in der
Epidermis; 200x

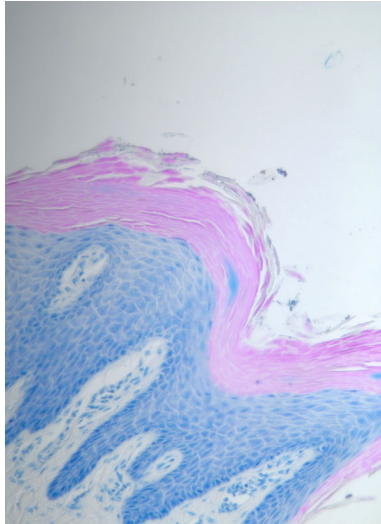


Abb. 83: Stroh-Gruppe,
R/T-Färbung der Epidermis;
200x

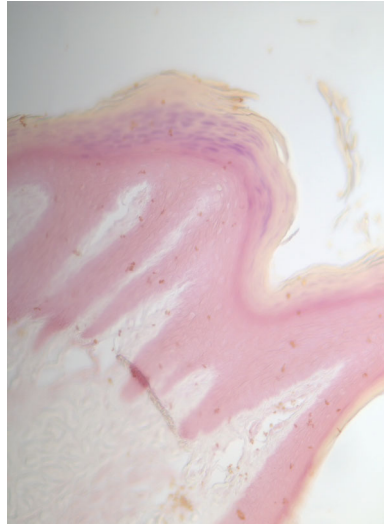


Abb. 84: Stroh-Gruppe,
SH-Gruppen-Färbung der Epi-
dermis; 200x

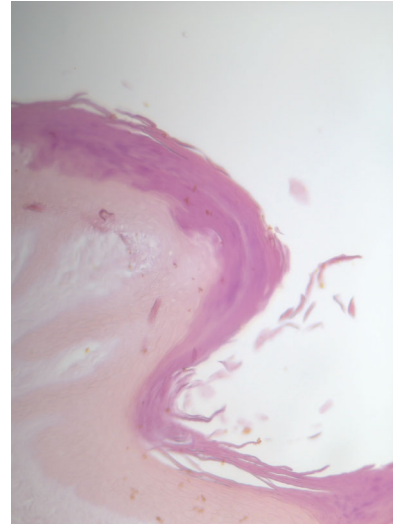


Abb. 85: Stroh-Gruppe,
SS-Gruppen-Färbung der Epi-
dermis; 200x

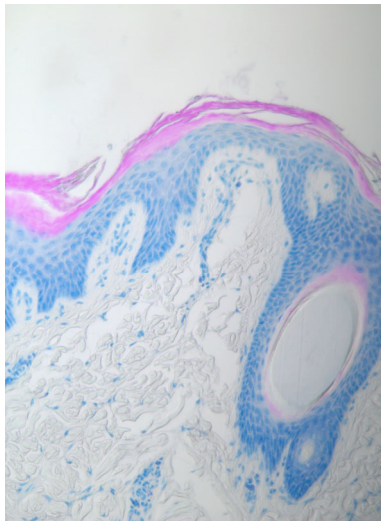


Abb. 86: laterale Kontrolle,
R/T-Färbung der Epidermis;
200x

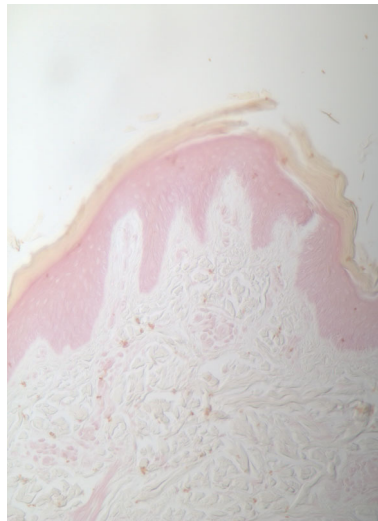


Abb. 87: laterale Kontrolle,
SH-Gruppen-Färbung der Epi-
dermis; 200x

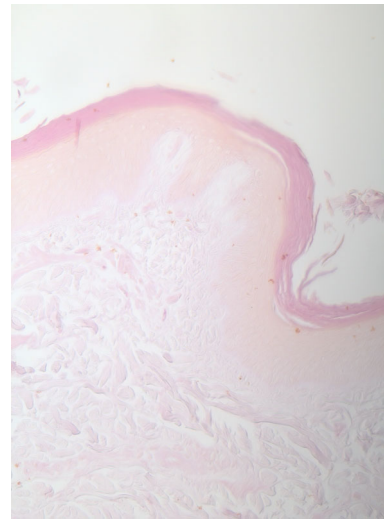


Abb. 88: laterale Kontrolle,
SS-Gruppen-Färbung der Epi-
dermis; 200x

4.3.4.4 Beurteilung des Interzellularkitts durch die PAS-Reaktion

Die PAS-Reaktion führt zu einer rosa-violetten Anfärbung des Interzellularraums im Stratum corneum. In Präparaten mit dickem Stratum corneum lässt die Intensität der Färbung im oberen Stratum corneum immer mehr nach und verschwindet dann im Stratum disjunctum vollständig.

Unterschiede hinsichtlich der Intensität der Färbung und der Weite des Interzellularraums konnten mikroskopisch zwischen den Haltungsformen nicht festgestellt werden (vgl. Abb. 89 u. 90).

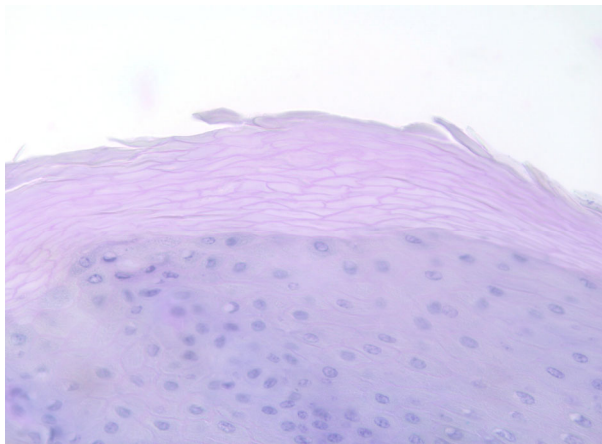


Abb. 89: G1,
Färbung des IZK durch PAS-Reaktion; 400x

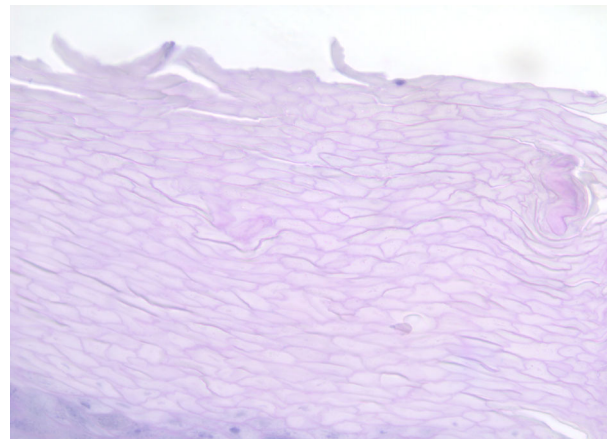


Abb. 90: Beton-Gruppe,
Färbung des IZK durch PAS-Reaktion; 400x

5 Diskussion

Die Auswirkungen gummibeleger Spaltenböden in der Milchviehhaltung auf Gesundheit und Wohlbefinden der Tiere (und insbesondere auf die Klauengesundheit) wurden in der jüngeren Vergangenheit schon mehrfach untersucht und werden bis heute zum Teil kontrovers diskutiert (Telezhenko und Bergstein, 2005; Sogstad et al., 2006; Flower et al., 2007, Rushen et al., 2007; Telezhenko et al., 2007; Platz et al., 2008; u.a.). Dagegen liegen nur wenige Publikationen über die Anwendung dieser Beläge in der Mastbullenhaltung vor (Thio et al., 2005; Mayer et al., 2007; Platz et al., 2007), die üblicherweise auf Vollspaltenboden aufgestellt werden. Da bei Boxenlaufstallhaltung von Milchkühen den Tieren üblicherweise ein befestigter Liegeplatz zur Verfügung steht, ist bei dieser Haltungsform vor allem die Auswirkung der unterschiedlichen Bodenbeläge auf die Klauen relevant. In der Bullenmast auf Vollspaltenboden dagegen steht dem Tier in der Regel ausschließlich dieser als Lebensraum zur Verfügung, das heißt, der Spaltenboden dient auch als Liegeplatz. Dadurch erlangt die Frage nach dem Effekt verschiedener Bodenbeläge auf die Hauptbelastungszonen beim Liegen und Aufstehen der Tiere im Hinblick auf Schadensvermeidung einen erheblichen Stellenwert.

Demzufolge war es das Ziel dieser Arbeit, die Auswirkungen verschiedener Bodenoberflächen (und von unterschiedlichem Flächenangebot bei den Spaltenbodenvarianten) auf die Haut der dorsalen Karpalgelenke von Mastbullen (Hauptbelastungszonen beim Liegen und Aufstehen der Tiere) makroskopisch und histologisch zu untersuchen, um Schlussfolgerungen hinsichtlich der Tierschutzrelevanz der festgestellten Veränderungen ziehen zu können.

Zusätzlich wurde in der vorliegenden Studie der für die Fragestellung wichtige Funktionskreis „Ruheverhalten“ mit seinen zugehörigen einleitenden (Abliegevorgang) und abschließenden (Aufstehvorgang) Bewegungsabläufen in die Betrachtung mit einbezogen.

In einer natürlichen Umgebung ist der Untergrund, auf dem das Rind sich bewegt, mehr oder weniger elastisch und ermöglicht durch Einsinken der Klaue eine erleichterte Gewichtsübertragung (Hinterhofer et al. 2006). Entsprechend seiner natürlichen Umgebung ist das Rind eher als Steppentier einzustufen (Wünschmann 1993). Die Weide als Unterboden vereinigt weiche mit steinigen Elementen, die einen schmiergelnden Effekt haben. Aufstallungssysteme müssen daneben jedoch auch hygienische, arbeitswirtschaftliche und ökonomische Aspekte wie z.B. Sauberkeit, Rutschfestigkeit, Kosten, Haltbarkeit und ergonomische Gesichtspunkte berücksichtigen. Die Wahl des Untergrundes bei der Aufstallung basiert primär auf arbeits-

wirtschaftlichen und ökonomischen Überlegungen im Hinblick auf optimalen Sauberkeit im Tierbereich (Hinterhofer et al. 2006).

Den Hautläsionen in den beim Aufstehen und Abliegen exponierten Gelenkbereichen kommt jedoch eine wesentliche Bedeutung für Gesundheit und Wohlbefinden der betroffenen Tiere zu. Haltungsbedingte Läsionen, die bisher nicht im Fokus wissenschaftlichen Interesses standen, sind nach Untersuchungen von Müller et al. (2005) von hoher Relevanz, da von ihnen Bakteriämien mit generalisierter Abszessbildung und Todesfolge ausgehen können.

Der **Einfluss der Haltungsumwelt auf den Funktionskreis „Ruheverhalten“** wurde in der hier vorliegenden Arbeit nur an den drei Spaltenbodenvarianten untersucht. Im **Liege- und Aufstehverhalten** der Tiere ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Liegedauer zwischen den verschiedenen Haltungsgruppen. Die Tiere der Gummispaltenbodengruppen G1 und G2 teilten die Gesamtliegezeit jedoch in signifikant häufigere und kürze Perioden ein als die Bullen der Betongruppen. Diese Ergebnisse entsprechen im Wesentlichen denen der Untersuchung von Rushen et al. (2007), Platz et al. (2007) und Mayer et al. (2007). Diese Ergebnisse lassen sich in Übereinstimmung mit Rushen et al. (2007) dahingehend interpretieren, dass die Bereitschaft zum Positionswechsel bei den auf gummibeschichteten Böden gehaltenen Tieren höher ist als bei den Tieren auf Betonböden.

Bei den Tieren der Beton-Gruppe kamen in der vorliegenden Studie arttypische **Aufstehvorgänge** signifikant weniger und nicht-arttypische Aufstehvorgänge signifikant häufiger vor als bei den beiden Gummivarianten. Diese zeigten untereinander keine Unterschiede hinsichtlich arttypischer Aufstehvorgänge, nicht-arttypische Aufstehvorgänge kamen jedoch bei der G1-Gruppe signifikant häufiger vor als bei G2. Letzteres kann dahingehend interpretiert werden, dass neben dem Bodenbelag auch das Platzangebot eine wichtige Rolle beim Aufstehvorgang spielt. Rinder haben einen hohen Raumbedarf, um bei der ersten Bewegungssequenz den Rumpf und somit auch den Kopf nach vorne zu schwingen, während das Hauptgewicht auf den Karpalgelenken lastet und die Hinterbeine die durch die Gewichtsverlagerung entlastete Hinterhand in die Höhe schwingen, um zum endgültigen Stand zu kommen.

Auch beim **Abliegen** kamen in der Betongruppe hochsignifikant mehr artuntypische Bewegungsabläufe vor als in den beiden Gummispaltenbodenvarianten, die untereinander keine gesicherten Unterschiede zeigten. Mayer et al. (2007) beobachteten beim Vergleich des Liegeverhaltens von Mastbullen auf Betonspalten- und gummierten Spaltenboden ebenfalls keine Unterschiede der Gesamtliegedauer, jedoch kürzere und häufigere Liegephasen bzw. Positionswechsel bei den Tieren auf gummiertem Boden. Nur knapp 50% der Aufsteh- und Ablie-

gevorgänge der Tiere auf Betonspaltenboden entsprachen dem normalen Bewegungsmuster. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Schulze-Westerath et al. (2004).

Kurze Stehphasen kamen in der Beton-Gruppe signifikant seltener vor als bei den Gummivarianten, wobei die Unterschiede bei den Stehphasen < 3 Minuten noch ausgeprägter waren als bei den Stehphasen < 5 Minuten.

Bei der qualitativen Beurteilung der kurzen Stehphasen von max. 5 Minuten kamen Mayer et al. (2007) beim Vergleich von Betonspalten- und gummimodifizierten Spaltenböden zu ähnlichen Resultaten. Das heißt, dass die Tiere auf Betonspaltenboden eher in einer unbequemen, möglicherweise schmerzhaften Liegeposition verharren als aufzustehen, um eine neue Position einzunehmen.

Alle Ergebnisse aus den Untersuchungen des Ruhe-, Aufsteh- und Abliegeverhaltens zeigen, dass der Positionswechsel und insbesondere die Belastung der Karpalgelenke von den Tieren auf Betonspaltenboden hinausgezögert oder durch artuntypische Bewegungsmuster umgangen wird, und weisen darauf hin, dass ihnen dieser Bewegungsvorgang Schmerzen bereitet.

Die **Mastergebnisse** zeigten von der Betongruppe über G1 und G2 zur Strohgruppe eine steigende Tendenz, ein statistisch abgesicherter Unterschied ergab sich jedoch nur zwischen der Betongruppe und G2. Demgegenüber konnten Mayer et al. (2007) bei ihrer Untersuchung keine Unterschiede hinsichtlich der Mastleitung zwischen den verschiedenen Haltungssystemen ermitteln.

Der **Einfluss der Haltungsumwelt auf das Integument** wurde im Rahmen dieser Arbeit anhand der **makroskopischen Veränderungen der Haut** im dorsalen Bereich der Karpalgelenke ermittelt.

Dabei waren **haarlose Stellen** bei allen drei Spaltenbodenvarianten ein häufig auftretendes Phänomen, für das keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu ermitteln war.

Krusten wiesen fast alle untersuchten Gelenke der Tiere der Betonspaltengruppe auf. Bei den Tieren, die auf Gummispaltenboden gehalten wurden, trat dieser Befund signifikant seltener auf. Auch in den Untersuchungen von Thio et al. (2005) und Mayer et al. (2007) kamen Krusten im Bereich der Karpalgelenke bei den auf Betonspaltenboden gehaltenen Mastbullen im Vergleich zu Tieren auf gummierten Böden signifikant häufiger vor. Auffällig war, dass die Befunde der Betonspaltengruppe – im Unterschied zu den Gruppen auf verschiedenen Gummivarianten – in der letzten Versuchsperiode deutlich anstiegen. Haarlose Stellen im Bereich der Karpalgelenke traten auch in dieser Versuchsanordnung bei den Tieren auf Betonspaltenboden am häufigsten auf.

Wunden, nasse Krusten und **weiche Schwellungen** traten insgesamt bei allen Haltungssystemen selten auf.

Bei der Betongruppe wurden an 59% der untersuchten Gelenke **bindegewebige Schwellungen** festgestellt, deutlich häufiger als bei den Gummivarianten (G1 = 24%, G2 = 32%). Mayer et al. (2007) stellen bei den Tieren, die in Betonspaltenbuchten und auf gummimodifizierten Spaltenböden gehalten wurden, mehr haarlose Stellen und weiche Schwellungen fest als bei den Tieren in eingestreuten Zweiflächenbuchten. Die Anzahl der Krusten und der harten Schwellungen nahm von der Betonspaltenbucht über die gummimodifizierte Spaltenbucht zur eingestreuten Zweiflächenbucht hin ab. Rushen et al. (2007) unterschieden in ihrer Untersuchung zwar nicht hinsichtlich weicher und bindegewebiger Schwellung, doch auch sie fanden eine signifikant höhere Inzidenz von Schwellungen der Karpalgelenke bei Kühen in Anbindehaltung auf Betonboden als in der Referenzgruppe auf Gummimatten. Platz et al. (2007) berichten von signifikant höherem Vorkommen von Hautverletzungen bei Mastbullen in Betonbuchten im Vergleich zu Tieren in gummibeschichteten oder Zweiflächen-Wahlbuchten. Übereinstimmend damit stellten Zerbe et al. (2008) einen positiven Einfluss gummierter Böden im Vergleich zu Betonspaltenbodenhaltung auf Karpalverletzungen fest.

Aufliegeschäden im Sinne von Technopathien im Bereich der Karpal- und Tarsalgelenke fanden sich auch in der Untersuchung von Platz et al. (2007) am häufigsten und mit dem größten Schweregrad bei den Tieren auf Betonspaltenboden.

Die makroskopische Untersuchung der Haut der dorsalen Karpalgelenke ergab somit bei den Tieren der Betonspaltengruppe durchweg eindeutig schlechtere Befunde als bei den auf gummimodifizierten Spaltenboden gehaltenen Tieren.

Die Strohgruppe konnte in dieser Auswertung nicht verglichen werden, da die Karpalgelenke dieser Tiere zum Zeitpunkt des relevanten Untersuchungsgangs, kurz vor der Schlachtung, durch eine Kruste aus Mist und Gülle bedeckt war, die eine Untersuchung unmöglich machte. Eine Betrachtung der Ergebnisse der vorletzten Untersuchung, etwa einen Monat vor der Schlachtung, bei der diese Verschmutzung noch nicht bestand, ergab jedoch nur an einem Karpalgelenk eine haarlose Stelle, ansonsten wiesen die Tiere keine makroskopische Auffälligkeiten an den Karpalgelenken auf. Insofern können die oben genannten Ergebnisse von Mayer et al. (2007) bestätigt werden.

Durch **histologische Untersuchungen** wurden in der vorliegenden Arbeit die Auswirkungen der verschiedenen Haltungssysteme auf die druckbelasteten Hautareale der Karpalgelenke

mikroskopisch überprüft um festzustellen, inwieweit diese Ergebnisse mit denen der makroskopischen Inspektion übereinstimmen.

Die **Subkutis** stellte sich in sehr unterschiedlicher Mächtigkeit dar. Dies ist zum Teil auf den Enthäutungsschnitt zurückzuführen, der durch die Subkutis geführt wurde und willkürlich Teile dieser Schicht an der Haut oder am Schlachtkörper beließ. Demzufolge trat bei den Schichtdickenmessungen eine extreme Varianz innerhalb der einzelnen Gruppen auf. Trotzdem ergaben sich im Median deutliche Unterschiede zwischen den Spaltenbodengruppen und der Strohgruppe bzw. zur lateralen Kontrolle. Während die Subkutis der Strohtiere auf der dorsalen Seite des Karpalgelenks fast doppelt so dick war wie auf der lateralen Seite ohne Druckbelastung, erreichte sie bei den Spaltenbodentieren Werte, die im Schnitt um mehr als das 8fache dicker waren als bei der lateralen Kontrolle.

Auffallend war das Vorkommen von Extremvarianten in den Spaltenbodengruppen, bei denen die Subkutis eine Mächtigkeit von bis zu 23 mm erreichte (zum Vergleich: laterale Kontrollgruppe im Median 0,5 mm). In diesen Fällen war eine Verdichtung der kollagenen und elastischen Fasern zu beobachten. Gleichzeitig traten vermehrt subkutane Schleimbeutel auf. Es war somit eine Proliferation des subkutanen Gewebes als Reaktion der Haut auf chronische Druckbelastung festzustellen, wodurch elastische Polster entstanden, die an die Spezialgebilde der Subkutis in den unbehaarten Ballen der Pfortengänger erinnern, deren Aufgabe es ist, die bei der Fußung auftretenden Kräfte zu dämpfen (Bragulla et al., 2004). Die subkutanen Schleimbeutel gleichen den Gelkissen der Laufschuhe, deren Aufgabe es ebenfalls ist, Stöße abzufangen und so die darüber liegenden Gelenke zu schützen. Sie bilden sich infolge anhaltender mechanischer Einwirkung (Druck) und sind als Kompensationsmechanismus der Haut zu verstehen (Habermehl 1996). Kirk et al. (1993) sehen ihre Entwicklung als Folge wiederholter traumatisch bedingter Nekrosen und Entzündungen und betonen dass diese subkutanen Schleimbeutel sich durch Sekundärinfektion zu Abszessen weiterentwickeln können. Sie sind somit übereinstimmend mit Habermehl (1996) als pathologische Gebilde aufzufassen und Indizium dafür, dass die Fähigkeit der Haut, die beim Abliegen, Liegen und Aufstehen auf die Karpalgelenke einwirkenden Stöße und Druckbelastungen abzufangen, bei der Spaltenbodenhaltung an ihre Grenzen kommt. Auffallend ist, dass für die Gummispaltenbodenhaltung keine besseren Werte als bei der Betonspaltenhaltung zu ermitteln waren. Dies weist darauf hin, dass der gummibelegte Spaltenboden hinsichtlich der dämpfenden Wirkung auf die Gelenke keine Vorteile gegenüber Betonspaltenboden besitzt.

Messungen der **Dermis** ergaben hinsichtlich der Schichtdicken signifikante Unterschiede zwischen den dorsal und lateral im Bereich der Karpalgelenke entnommenen Hautproben. Gleichzeitig waren signifikante Unterschiede zwischen den Spaltenbodengruppen und der Strohgruppe zu verzeichnen. Die Dickenausprägung der Dermis im Bereich der Belastungszonen des Körpers ist somit nicht allein genetisch determiniert, sondern darüber hinaus als spezifischer Reaktionsmechanismus zu verstehen, mit dem die Dermis auf höhere Belastung bzw. Beanspruchung durch Proliferation reagiert. Da praktisch keine Unterschiede zwischen den Hautproben der Spaltenbodengruppen zu finden waren, ist anzunehmen, dass die Belastungen für diese Hautschicht bei den auf Spaltenboden gehaltenen Gruppen annähernd gleich hoch waren. Der Gummispaltenboden führt im Vergleich zum Betonspaltenboden demzufolge nicht zu einer Reduktion der auf die Dermis einwirkenden Druckkräfte.

Im **Stratum papillare** fanden sich eindeutige mit der Haltungsform korrelierende Unterschiede hinsichtlich Höhe und Breite der Papillen.

Es konnte festgestellt werden, dass die Papillen einheitlich bis auf 0,03-0,04 mm an den Übergang zum Stratum corneum heranwachsen und somit die Papillenlänge nahezu der Dicke des Stratum spinosum entspricht.

Die Papillen in den Hautproben der Betongruppe erwiesen sich als signifikant länger als die aller anderen Vergleichsgruppen, wobei in den Hautproben der Gummivarianten noch signifikant längere Papillen als bei der Strohgruppe vorzufinden waren. Durch das verstärkte Längenwachstum wird die Oberfläche der vaskularisierten Dermis vergrößert und gleichzeitig die Diffusionsfläche in die gefäßlose Epidermis ausgeweitet. Dies lässt auf erhöhte – von der Strohhaltung über die Gummispaltenbodenhaltung zur Betonspaltenhaltung hin zunehmende – Proliferationsvorgänge innerhalb der Epidermis schließen, am wahrscheinlichsten um eine verstärkte Abnutzung auszugleichen. Dass die Breite der Papillen mit der Länge zu- und die Zahl der Papillen in reziproker Korrelation abnahmen, ist hier als Folge des Längenwachstums zu sehen.

Diese Ergebnisse decken sich mit den Hinweisen von Bragulla et al. (2001), dass eine erhöhte Zellproliferation der gefäßlosen Epidermis einen ausgeprägteren sie ernährenden Papillarkörper bedingt. Bragulla et al. (2004) betonen, dass Nährstoffmangel oder ein erhöhter Nährstoffbedarf der Epidermis eine verstärkte Ausformung des Papillarkörpers zur Folge haben.

Die laterale Kontrolle wies die niedrigste Länge und Anzahl an Papillen/mm auf; das Längenwachstum war zum Teil so gering, dass es kaum noch messbar war.

Diese histologischen Befunde lassen sich dahingehend interpretieren, dass es in Folge verstärkter epidermaler Proliferationsvorgänge in der druckexponierten Haut der dorsalen Kar-

palgelenke zunächst zu einer zahlenmäßigen Zunahme und Verlängerung der Papillen kommt, um über Oberflächenvergrößerung einen erhöhten Stoffaustausch und Metabolismus zu ermöglichen. Sobald dieser Anpassungsprozess jedoch eine kritische Grenze überschritten hat, nimmt die Papillenlänge zwar weiter zu, es kommt jedoch zu einer Verbreitung und Verplumpung und damit zahlenmäßigen Reduktion der Papillen.

Die verstärkte Ausformung des Papillarkörpers weist somit auf erhöhte Druck- und Scherkräfte hin (Bragulla et al., 2001; Hirschberg et al., 2001), die auf die Haut am dorsalen Karpalgelenk einwirken und zwar ebenfalls in zunehmenden Maß von der Strohhaltung über die Gummispalten- hin zur Betonspaltenhaltung, denn verlängerte und verbreitete Papillen bewirken auch eine stärkere Verzahnung zwischen Dermis und Epidermis. Übereinstimmend damit ist im Stratum papillare der Betongruppe die höchste Dichte an **elastischen Fasern** zu finden. Ihr Geflecht verläuft an der Oberfläche der Dermis nicht nur horizontal, sondern zieht auch in die Papillen und trägt hier zu deren Verstärkung bei.

Insgesamt weist das Stratum papillare die höchste und das oberflächliche Stratum reticulare die geringste Dichte an elastischen Fasern auf. Im unteren Stratum reticulare nimmt die Anzahl an elastischen Fasern zu, wobei die Werte dieser Schicht bei den lateral entnommenen Hautproben tendenziell höher lagen, eine Signifikanz ergab sich jedoch nur gegenüber der G1-Gruppe.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Ausprägung der elastischen Fasern ebenfalls nicht allein genetisch determiniert, sondern auch von der Belastung der Haut abhängig ist.

Ein Nebenbefund ist die Tendenz zur stärkeren Ausprägung von elastischen Fasern bei der lateralen Kontrolle im Stratum reticulare profundum. Anscheinend treffen die Kräfte der Zugbelastung, die in diesen Hautarealen vorherrschen, eher auf die tieferen Hautschichten der Lederhaut.

In der **Epidermis** fanden sich bei der Schichtdickenmessung die größten morphometrischen Unterschiede, die zwischen den Haltungsformen Betonspaltenboden, gummimodifizierte Spaltenboden und Stroheinstreuung jeweils signifikant waren. Die geringste Schichtdicke wies die laterale Kontrollgruppe auf. Bei den Proben des dorsalen Karpalgelenks lagen die Werte der Strohgruppe am niedrigsten, gefolgt von den Gummispaltenbodenvarianten. Die höchsten Werte wiesen die Hautproben der Betongruppe auf, diese waren mehr als doppelt so dick wie die Hautproben der auf Gummispaltboden aufgestellten Tiere. Es ist somit von einer in dieser Reihenfolge erhöhten Belastung durch Druck- und Scherkräfte der epidermalen Hautschichten auszugehen. Dies deckt sich mit der Aussage von Kirk et al. (1993), wonach es

bei starker Druckbelastung der Haut, z.B. Liegen auf harten Böden, insbesondere über Knochen- und Gelenkvorsprüngen zur Bildung von Liegeschwielen durch eine extreme Epidermisproliferation kommt. Hierin sieht er eine Schutzreaktion der Haut auf eine druckbedingte Ischämie und Entzündung.

Auffällig war die enorm große Varianz der Schichtdickenwerte in der Epidermis: Die Extremwerte (0,1 mm bei einer lateral entnommenen Hautprobe; über 5mm bei einer dorsal entnommenen Hautprobe aus der Beton-Gruppe) unterscheiden sich um bis zum 50fachen und unterstreichen die außerordentliche Anpassungs- und Reaktionsfähigkeit der Epidermis an und auf veränderte äußere Bedingungen.

Das einschichtige **Stratum basale** spielt für den Schichtdickenvergleich keine Rolle. Als die proliferative Zone der Epidermis erreicht das Stratum basale, bedingt durch die Höhe des Papillarkörpers, bei der Betongruppe jedoch die höchste Flächenausdehnung.

Die Abmessungen des sich anschließenden **Stratum spinosum** ergeben sich aus der Höhe des Papillarkörpers. Durch die Erhöhung der Schichtdicke wird jedoch nicht nur der Länge des Papillarkörpers Rechnung getragen, sondern es wird auch Raum geschaffen für eine größere Zahl an Spinosazellen, somit wird hier die Voraussetzung für eine verstärkte Synthese und Reifung von Hornzellbestandteilen, insbesondere Zytokeratinen (Marks, 2004; Tomlinson et al., 2004; Moll, 2005) geschaffen.

Dementsprechend fanden sich auch hier beim Schichtdickenvergleich die höchsten Werte für die Betongruppe. Sie unterschied sich signifikant von allen anderen Vergleichsgruppen. Es waren abnehmende Schichtdicken in der Reihenfolge Betonspaltenboden über gummi-modifizierte Spaltenboden zur Strohgruppe zu verzeichnen. Die laterale Referenzgruppe wies die niedrigsten Werte auf. Auch Görmar et al. (1990) stellten fest, dass wiederkehrende Druckbelastung die Proliferation epidermaler Zellen fördert. Nach ihren Untersuchungen entwickeln mechanisch beanspruchte Körperregionen zunächst eine dickere Haut durch Zunahme der Zellschichten des Stratum spinosum und granulosum.

Auch im **Stratum granulosum** lassen sich histologisch anhand der Anzahl der Zellschichten signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Haltungsformen feststellen. Präparate der Beton-Gruppe wiesen durchschnittlich mehr als doppelt so viele Granulosazellschichten auf als die beiden Gummispaltenbodenvarianten und die Strohgruppe. Die Präparate der lateralen Kontrollgruppe nicht druckbelasteter Haut zeigten nur eine häufig diskontinuierliche Granulosazellschicht. Dies ist der physiologische Befund der weiches Horn bildenden Epidermis der

behaarten Haut (Liebich et al., 2004). In der druckexponierten Haut z.B. des Ballens findet sich dagegen ein vielschichtiges Stratum granulosum. Da in den für diese Hautschicht typischen Keratohyalin granula die Filaggrine (auch als amorphe Keratine oder IFAPs oder keratinfilament-assoziierte Proteine bezeichnet) als Profilaggrine zwischengespeichert werden, kann die Zunahme der Zelllagen als Reaktion auf Druckbelastung interpretiert werden. Während der Kornifizierung werden die (Zyto-) Keratine mit den Filaggrinen, die einen hohen Gehalt an schwefelreichen Aminosäuren aufweisen, über Disulfidbrücken zu einer festen Masse verbacken, dem Filament-Matrix-Komplex (Fritsch, 2004; Liebich et al., 2004). Die für Druckbelastung typische Ausbildung eines dickeren Stratum corneum ist jedoch nur möglich, wenn genügend Zellen zur Kornifizierung zur Verfügung stehen, was in der Zelllagenzunahme des Stratum granulosum bzw. der Zunahme an Granulosazellen seinen Ausdruck findet.

Auf die absoluten Werte bezogen, trägt das **Stratum corneum** zu den unterschiedlichen Schickdicken druckbelasteter Haut am meisten bei. Diese nahmen in der Reihenfolge Beton – Gummi- – Strohaufstallung ab, zwischen den drei Gruppen bestanden signifikante Unterschiede. Die laterale Kontrollgruppe zeigte die niedrigsten Werte.

Die Schichtdicke des Stratum corneum war bei den Gummispaltenvarianten knapp doppelt so groß wie bei Strohaufstallung, bei Präparaten der Tiere der Betonaufstallungsgruppe lag dieser Wert um mehr als das 6fache höher. Durch die Gummispaltenbodenhaltung kommt es also bereits zu einer deutlichen Proliferation des Stratum corneum, die bei Betonaufstallung noch ausgeprägter ist und exponentiell zunimmt. Diese Befunde stimmen mit Beobachtungen von Habermehl (1996) und Moll (2005) überein, nach denen der Verhornungsgrad der Haut von der jeweiligen Druckbelastung abhängig ist.

Die Zählung der **Mitoseraten der Epidermis** erfolgte an Rhodamin/Toluidin-gefärbten Präparaten, da in diesen die Zellteilungen am besten zur Darstellung kamen. Das Stratum basale stellt die eigentliche Proliferationsschicht der Epidermis dar. Suprabasale Mitosen waren einzeln zu beobachten, während sehr hohe Mitoseraten in der Umgebung von Läsionen und Entzündungen angetroffen wurden. Dies deckt sich mit den Aussagen von Fritsch (2004).

Die höchste Mitoserate fand sich erwartungsgemäß in der Beton-Gruppe als weiterer Hinweis für die gesteigerten Proliferationsvorgänge innerhalb der Epidermis aufgrund erhöhten Dickenwachstums als Folge von Druckbelastung und / oder vermehrter Abnutzung durch Abrasivkräfte. Die Werte der Gummivarianten lagen signifikant niedriger. Somit konnte bei den

Spaltenbodenvarianten eine Korrelation zwischen Dickenwachstum und Mitoseraten beobachtet werden.

Auffallend dagegen war die gegenüber den Gummivarianten tendenziell ansteigende Mitoserate in der Strohhgruppe trotz signifikant niedrigerer Schichtdicken. Dieses Ergebnis war statistisch allerdings nicht abzusichern.

Die Mitoserate in den lateralen Hautproben war signifikant niedriger als bei den anderen Auswertungsgruppen. Sie betrug nur 14% der durchschnittlichen Mitoseraten aller Hautproben der dorsalen Karpalgelenke und nur 8% der Betonspaltenbodengruppe.

Es ist also davon auszugehen, dass die Abnutzungsrate der Epidermis am dorsalen Karpalgelenk auf Betonboden 13mal höher ist als an einer Hautprobe, die keiner unmittelbaren Scherbelastung und Reibungskräften ausgesetzt ist. Dies unterstreicht die enormen Anpassungsleistungen der Epidermis an die jeweilige mechanische Beanspruchung.

Der Nachweis von **Entzündungszellen** ergab aufgrund des begrenzten Probenmaterials aus der Strohhgruppe und der lateralen Kontrolle keine signifikanten Unterschiede. Trotzdem sollen sie mit Vorbehalt hier diskutiert werden, da sie wichtige Hinweise geben.

Auffallend war, dass bei der Strohhgruppe am häufigsten (bei 25% der Proben) Entzündungszellen zu finden waren, während sie, bezogen auf die Hautproben des dorsalen Karpalgelenks, in den beiden Gummispaltenbodenvarianten am seltensten vorkamen. Vom Verteilungsmuster her spielte sich das Entzündungsgeschehen bei diesen beiden Haltungsformen eher in den oberflächlichen Hautschichten ab. Die Betongruppe lag mit der Häufigkeit der Entzündungszellen zwischen den beiden anderen Aufstallungsformen. Hier scheint sich das Entzündungsgeschehen aber bis in die Dermis auszudehnen. Mikroskopisch fanden sich Hinweise dafür, dass das Auftreten von Entzündungszellen bei dieser Haltungsform oft mit mechanischen Hautläsionen assoziiert war, während bei der Strohhgruppe keine Verletzungen zu beobachten waren. In dieser Haltungsgruppe sind also andere Entzündungsursachen zu suchen.

Der Nachweis **kernhaltiger Zellen im Stratum corneum** ergab sowohl bei der Beton-, als auch bei der Strohhgruppe ein häufiges Vorkommen von Zellkernen im Stratum corneum und ein deutlich geringeres bei den Gummispaltenbodenvarianten. In der lateralen Kontrollgruppe waren Zellkerne im Stratum corneum nur vereinzelt zu beobachten.

Dieses als parakeratotische Hyperplasie (Moll, 2005; Wolff, 2005) bezeichnete Vorkommen kernhaltiger Zellen im Stratum corneum ist Zeichen eines sehr raschen Verhornungsprozesses und deutet auf einen extrem hohen Nachschubbedarfes an Hornzellen aufgrund von hohen

Verlustraten an der Hautoberfläche hin. Sie wird jedoch nicht einstimmig als pathologisch eingeschätzt (Korte, 1987).

Aber auch wenn man das Auftreten kernhaltiger Zellen im Stratum corneum nicht grundsätzlich als pathologisch auffassen will, so spricht doch die je nach Haltungsart unterschiedliche Häufigkeit des Auftretens von kernhaltigen Zellen im Stratum corneum zumindest für eine Anpassungsreaktion des Organismus an äußere Gegebenheiten. Die niedrigen Werte der lateralen Kontrollgruppe sowie die erhöhten Werte bei den Gummispaltenvarianten und die deutlich erhöhten Werte bei Betonspaltenhaltung lassen sich mit der Annahme einer vermehrten und überstürzten Kornifizierung als Reaktion auf erhöhte Reibungsverluste an der Oberfläche des Spaltenbodens durchaus in Einklang bringen. Die in der Strohhgruppe gegenüber den Gummispaltenbodengruppen erhöhten Werte passen jedoch nicht zu der weichen Stroheinstreu.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sowohl die erhöhte Mitoserate als auch das häufige Vorkommen parakeratotischer Hyperplasien in den Proben der Strohhgruppe weder mit dem Schichtdickenwachstum noch der anzunehmenden geringen mechanischen Abnutzung auf Stroheinstreu in Einklang zu bringen sind. Auch für das gehäufte Vorkommen von Entzündungszellen liegen keine Hautläsionen als Ursache vor.

Hinweise auf mögliche Ursachen für diese Phänomene sind in den Ergebnissen der makroskopischen Untersuchung der Tiere während des Haltungsversuches zu finden. Hier fiel auf, dass in der vorletzten Untersuchung, 4 Wochen vor dem Schlachten, die Haut an den Karpalgelenken noch praktisch ohne Befund war, während vier Wochen später, kurz vor dem Schlachten der Tiere, eine Untersuchung dieser Hautstellen nicht mehr möglich war, weil sie von einer dicken Kotkruste bedeckt waren. Dies lässt darauf schließen, dass in diesem Zeitraum eine Veränderung des Einstreumanagements stattfand, und die Tiere anstatt in trockener Stroheinstreu auf einem feuchten, von Kot und Urin durchtränkten Untergrund liegen mussten. Dieses „Güllegemisch“ hat offensichtlich durch Aufweichung und chemische Einwirkung die Schutzwirkung der Epidermis (Marks, 2004) dergestalt beeinträchtigt, dass es zum Eindringen von Noxen kam, welche zu den gefundenen Entzündungserscheinungen führten. Diese Annahmen werden gestützt durch die Erkenntnisse von Platz et al. (2007), die auch auf den (gegenüber Betonspaltenboden) stärker durch Kot und Urin feucht gehaltenen Gummispaltenböden eine erhöhte Prävalenz von Dermatitiden feststellten. Auch Kremer (2006) berichtet von einer Zunahme von Dermatitis digitalis und Ballenhornfäule im Zusammenhang mit einer Erweichung des Klauenhorns auf den feuchteren Böden des Gummispaltenbodens. In diesem Zusammenhang weist Zerbe (2008) auf die Anfälligkeit des durch Feuchtigkeit erweichten

Horns gegenüber pilzbedingten Zersetzungsprozessen hin. Diese Einschätzungen beziehen sich zwar weitgehend auf die Epidermis der Klauen, eine Übertragung auf die deutlich dünnere Epidermis der Haut, die außerdem mit einem weicherem Interzellularkit ausgestattet ist, scheint jedoch statthaft.

Mit dieser Annahme lassen sich auch das Auftreten einer erhöhten Mitoserate und das verstärkte Vorkommen von parakeratotischen Hyperplasien erklären. Sie sind einerseits als Folge einer erhöhten Ersatzleistung für die durch Entzündungen zugrunde gehenden Epidermiszellen zu sehen, was sich mit den Erkenntnissen von Yano et al. (2004) und Kirk et al. (1993) deckt, welche in der Nähe von Operationswunden in der Haut bei gesunden Hunden wie auch beim Menschen eine starke Erhöhung der epidermalen Mitoserate feststellten. Gleichzeitig kann davon ausgegangen werden, dass die durch Gülle erweichte Hornhaut an den Karpalgelenken nicht nur durchlässiger für Entzündungserreger wurde, sondern dass auch der natürliche Abschilferungsprozess durch die Aufweichung beschleunigt wurde und somit eine verstärkte Ersatzleistung erforderte, was nicht nur die Mitoserate zusätzlich erhöhte, sondern auch die Verhornungsleistung so weit beschleunigte, dass eine geregelte Verhornung mit vollständiger Auflösung der Zellkernbestandteile nicht mehr möglich war.

Zur Darstellung der **Verhornung** im Stratum corneum eignet sich die Rhodaminfärbung, wobei insbesondere die jungen Zellen dieser Schicht angefärbt werden. Mit zunehmender Schichtdicke zeigen die oberen Schichten des Stratum corneum wieder eine vermehrte Chromophobie.

Aufgrund der insgesamt dickeren Epidermis war die Zahl der Rhodamin-gefärbten Zelllagen bei der Beton-Gruppe am höchsten, während die anderen Haltungsgruppen untereinander keine gesicherten Unterschiede aufwiesen. Absolut am niedrigsten war die Zahl der Zelllagen bei der lateralen Kontrollgruppe.

Auch die Zahl der chromophoben Zelllagen war bei der Betongruppe am höchsten, hier färbten sich nur etwa 50% der Zelllagen, während bei den Gummispaltenbodenvarianten der Anteil an Rhodamin-gefärbten Zelllagen im Stratum corneum bei 70 bzw. 80% lag. Wegen der hohen Streuung der Werte ließen sich außer zwischen der Betongruppe und G2 bzw. der Strohgruppe keine weiteren signifikanten Unterschiede ermitteln.

Übereinstimmend hierzu stellte Karmann (2001) bei ihren Untersuchungen an der unbehaarten Epidermis des Ballens an der Katzenpfote, welche ebenfalls vom weichen Verhornungstyp ist, eine deutliche Anfärbung der Übergangszellen und unteren Lagen des Stratum cor-

neum fest, während sich die oberen Lagen desselben und das Stratum disjunctum chromophob verhielten. Sie führt diesen Befund auf die enge Vernetzung der Keratinfilamentbündel und der IFAPs zurück, wodurch keine Bindungsmöglichkeit für den Farbstoff mehr besteht.

Im Gegensatz hierzu stellte Mülling (1993) bei seinen Untersuchungen an der Epidermis der Rinderklaue mit dem harten Verhornungstyp eine zunehmende Rhodamin B-Färbung von den Übergangszellen über die jungen bis hin zu den alten Hornzellen fest. Nach seiner Ansicht lassen sich hierdurch nicht nur verhornte von unverhornten Epidermiszellen unterscheiden. Da die Färbung mit Rhodamin B nur die Keratine in den vollständig verhornten Zellen zuverlässig erfasst, geht er davon aus, dass mit ihr auch Synthesestörungen der Keratinproteine auf einfache Weise nachgewiesen werden können. Da jedoch die Untersuchungen von Karmann an der Katzenpfote die gleiche Chromophobie im äußeren Stratum corneum ergab wie an den Hautproben der Spaltenbodengruppen mit verdickter Epidermis, scheint sich diese Aussage nicht auf die Beurteilung der Verhornung der Haut übertragen zu lassen.

Das Vorkommen von **SH- und SS-Gruppen** wurde mittels DDD-Reaktion nach Barnett und Seligman (1954) überprüft. Dieses Verfahren des semiquantitativen Nachweises von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen wurde erstmals von Korte (1987) zum Keratinnachweis eingesetzt.

Die Synthese von Keratinproteinen lässt sich über den Gewebegehalt an Sulfhydrylgruppen (SH-Gruppen) semiquantitativ nachweisen. Während der Kornifizierung werden diese freien Schwefelwasserstoffgruppen zu Disulfidbrücken (SS-Gruppen) oxidiert. Der Gehalt an SH-Gruppen nimmt daher von der lebenden zur verhornten Zelle ab, mit den SS-Gruppen verhält es sich umgekehrt (Mülling, 1993).

Im Stratum basale, Stratum spinosum und Stratum granulosum ließen sich geringe bis geringste Konzentrationen an SH-Gruppen nachweisen und stiegen in der Übergangszone auf schwach bis mittelgradige Werte an. In unteren Stratum corneum fällt mit Ausnahme der Betongruppe die SH-Konzentration stark ab. In den oberen Schichten des Stratum corneum lassen sich SH-Gruppen mehrheitlich nicht mehr nachweisen.

SS-Gruppen waren erst ab der Übergangszone schwach bis mittelgradig nachweisbar und stiegen im Stratum corneum auf mittelgradige bis stark positive Werte mit einer tendenziell etwas niedrigeren Konzentration in der Betongruppe.

Bei der Beton-Gruppe war das Ansteigen der durchschnittlichen Konzentration an SH-Gruppen auf mittelgradig im unteren Stratum corneum zwar ohne statistische Signifikanz, im

Zusammenhang mit den bei dieser Haltungsform vermehrt auftretenden kernhaltigen Zellen im Stratum corneum ist dieser Befund jedoch von der Tendenz her möglicherweise als Hinweis auf eine verzögerte oder unzureichende Kornifizierung zu interpretieren.

In dieser Untersuchung konnte die derzeitige Lehrbuchmeinung zur Keratinisierung und Verhornung nachvollzogen werden und es lag eine weitestgehende Übereinstimmung mit anderen Arbeiten vor, die diese Färbung verwendeten (Mülling, 1993; Karmann, 2001; Tomlinson et al., 2004; Moll, 2005). Signifikante Unterschiede im Keratinisierungs- und Verhornungsprozess konnten zwischen den Auswertungsgruppen jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die Darstellung des Interzellularraumes bzw. des **Interzellularkitts** durch die PAS-Reaktion ergab mikroskopisch hinsichtlich Färbung und Weite des Interzellularraumes keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Haltungsformen.

Der Interzellularkitt setzt sich je nach Verhornungstyp überwiegend aus Lipoproteinen (weiche Verhornung) oder Glykoproteinen (harte Verhornung) zusammen. Somit reagiert der Interzellularkitt der harten Verhornung deutlich PAS positiv, während der Interzellularkitt der weichen Verhornung eine hohe Affinität zum Fettfarbstoff Sudanschwarz aufweist (Korte, 1987; Bollinger, 1991; Pellmann et al., 1993).

Die PAS-Färbung wurde im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführt, um den Fragen nachzugehen, ob die dickere Epidermis einen höheren Anteil an Glykoproteinen (wie bei der harten Verhornung) enthält und ob sich Unterschiede hinsichtlich der Quantität an Interzellularkitt ergeben.

In der Zusammenschau der Ergebnisse können folgende **Schlussfolgerungen** gezogen werden:

Die Ergebnisse aus den Untersuchungen des Ruhe-, Aufsteh- und Abliegeverhaltens legen die Vermutung nahe, dass der Positionswechsel für die Tiere auf Betonspaltenboden, insbesondere im Bereich der Karpalgelenke, unangenehmer, möglicherweise auch schmerzhafter ist als auf gummibeschichtetem Boden. Diese Interpretation wird in den histologischen Ergebnissen durch gehäuftes Auftreten von Entzündungserscheinungen in den Hautproben der Beton-Gruppe, die überwiegend bis in die Dermis reichen, bestätigt.

Die bindegewebige Schwellung findet ihre histologische Entsprechung in der Verdickung der Dermis und der Proliferation des subkutanen Gewebes zu elastischen Polstern, Vorgänge, die als Kompensationsreaktionen der Haut zu sehen sind, um Druck- und Stoßbelastungen beim Liegen und Positionswechsel abzdämpfen. Diese Reaktion fällt bei allen Spaltenbodenvari-

anten gleich stark aus. Ebenso kam es sowohl bei Beton-, als auch bei Gummispaltenboden zur Bildung von subkutanen Schleimbeuteln, welche ebenfalls als Reaktion auf die chronische Druckbelastung gesehen werden. Dies zeigt, dass der Gummispaltenboden hinsichtlich der dämpfenden Wirkung für die Gelenke keine nachweisbare Entlastung bringt. Der verstärkt ausgebildete Papillarkörper und die höhere Dichte an elastischen Fasern im Stratum papillare in den Proben der Betonspaltengruppe weisen allerdings auf deutlich höhere Scherkräfte aufgrund der größeren Rauigkeit des Bodens hin, die während des Positionswechsels bei dieser Aufstellungsart auf die Haut am dorsalen Karpalgelenk einwirken.

Bei den Spaltenbodengruppen fällt auf, dass das Auftreten haarloser Stellen von einer zunehmenden Epidermisproliferation begleitet ist. Als gemeinsame Ursache sind hier die Scher- und Abrasivkräfte des Spaltenbodens auszumachen, welche einerseits das schützende Haarkleid zerstören und gleichzeitig auf der nun ungeschützten Epidermis zu einer verstärkten Abnutzung führen, worauf diese mit einer verstärkten Proliferationsrate und Schichtdickenzunahme zum Schutz der darunter liegenden Strukturen reagiert.

Die bei der makroskopischen Inspektion festgestellten Krusten finden in der histologischen Untersuchung keine Entsprechung; es ist davon auszugehen, dass diese Strukturen, die als Granulationen und Sekrete interpretiert werden, während des Herstellens der Schnittpräparate verloren gegangen sind.

Die Ausbildung des Papillarkörpers, die Mitoserate sowie die Schichtdicken der Epidermis sind als Indikatoren der epidermalen Proliferationsaktivität zu betrachten. Ausgehend von der These, dass die Hautproben der lateralen Kontrolle ein repräsentatives Beispiel für behaarte Haut ohne Anpassungsreaktionen auf Druck, Scher- oder Abrasivkräfte, sozusagen eine Nullvariante darstellen, kann beobachtet werden, wie sich die Haut am dorsalen Karpalgelenk auf die entsprechenden Bedingungen je nach Haltungsform einstellt. Sowohl der Papillarkörper, als auch die Schichtdicken der Epidermis sprechen einheitlich für eine zunehmende mechanische Belastung der Epidermis von der Strohgruppe über die Gummispaltenbodenvarianten zur Betongruppe.

Die gesteigerte Proliferationsrate der Epidermis stellt also eine Anpassungsleistung dar, um die Haut und die darunter liegenden Strukturen vor den erhöhten mechanischen Belastungen zu schützen. Die Verhaltensparameter der Tiere auf Betonspaltenboden zeigen jedoch, dass die Tiere trotzdem die Karpalgelenke durch Hinauszögern und Vermeidung des arttypischen Bewegungsmusters schonen, und lassen darauf schließen, dass die Anpassungsleistung der Haut nicht ausreichte, um die verstärkte Belastung auszugleichen. In dieser Hinsicht wiesen

die Tiere auf Gummispaltenboden deutlich bessere Werte auf, woraus zu schließen ist, dass hier ein weitgehend ungestörter Bewegungsablauf möglich war.

Ein aussagekräftiges Kriterium für die Gesundheit der Haut ist das Auftreten von Entzündungserscheinungen. Hier zeigen die Betongruppe und die Strohgruppe erhöhte Werte, die jedoch statistisch aufgrund des begrenzten Probematerials nicht gesichert werden konnten. Für die Betongruppe lassen die histologischen Befunde darauf schließen, dass die Entzündungen Folge mechanischer Beschädigungen der Epidermis sind. Dies lässt die Annahme zu, dass die Anpassungsfähigkeit der Epidermis nicht ausreicht, um die Haut gegen die extremen Belastungen des Betonspaltenbodens zu schützen.

In der Strohgruppe sind die geringsten Anpassungsreaktionen auf eine mechanische Belastung zu erkennen, was darauf hinweist, dass diese Liegefläche die besten Dämpfungseigenschaften besitzt und mit den geringsten Scher- und Abrasivkräften auf die Haut einwirkt.

Während die Schichtdickenmessungen zunächst das Bild vermitteln, dass die eingestreute Liegefläche die geringste Belastung für die Haut bedeutet, so kann dies durch die vorliegenden Ergebnisse nur für die mechanische Belastung bestätigt werden, da sowohl die Schichtdicken als auch der Papillarkörper in der Strohgruppe nur gering ausgeprägt sind. Die Mitoserate und die Häufigkeit parakeratotischer Hyperplasien weisen jedoch auf eine stark erhöhte Proliferation und vorzeitigen Verlust von Hornzellen an der Oberfläche hin, während vermehrt auftretende Entzündungszellen zeigen, dass die Schutzbarriere der Epidermis infolge der Erweichung und chemisch-mikrobiellen Zersetzung des Horns durch das Liegen auf nasser, güllegetränkter Einstreu durchbrochen wurde, sodass Entzündungserreger eindringen konnten. Diese Ergebnisse, ungeplant durch einen Managementfehler gegen Ende der Versuchsphase entstanden, demonstrieren, wie schnell sich die Vorteile einer weichen Liegefläche ins Gegenteil verkehren können, wenn keine kontinuierliche Pflege der Einstreu stattfindet.

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen deutlich, wie sich die einzelnen Hautschichten an die unterschiedlichen Belastungen der 3 verschiedenen Haltungsformen Stroheinstreu, Gummi- oder Betonspaltenboden anpassen. Unterschiede zwischen den beiden Gummispaltenbodenhaltungsvarianten waren nicht festzustellen, woraus gefolgert werden kann, dass sich das Flächenangebot mit 2,5-3 m² für G1 bzw. 4,5-5 m² für G2 im Rahmen der untersuchten Varianten weder direkt noch indirekt auf die Entwicklung der Haut auswirkt.

Die am häufigsten festgestellten Veränderungen der Haut am dorsalen Karpalgelenk bestehen in einer Verstärkung der Schichtdicken zum Schutz gegen die erhöhte mechanische Belastung

und in einer erhöhten Proliferationsrate, um eine verstärkte Abnutzung zu kompensieren. Gehäuft auftretendes nicht-arttypisches Verhalten der Tiere auf Betonspaltenboden weist jedoch darauf hin, dass die Tiere bei arttypischen Bewegungsabläufen durch die Haltungsform beeinträchtigt sind. Ein eindeutiges pathologisches Kriterium, welches gefunden wurde, war das gehäufte Auftreten von Entzündungszellen in den Hautproben der Beton- und der Strohhgruppe. Dieses Ergebnis ließ eine starke Tendenz erkennen, sodass hier noch weiterer Forschungsbedarf zur Verifizierung der geäußerten Vermutungen besteht.

6 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war, am Beispiel unterschiedlich gehaltener Mastbullen die Auswirkung verschiedener Bodenoberflächen auf die Haut der dorsalen Karpalgelenke, die Hauptbelastungszonen beim Liegen und Aufstehen der Tiere, makroskopisch und mikroskopisch zu untersuchen. Es wurden die histologischen Befunde, die aus den unterschiedlichen Haltungsformen resultieren, beschrieben, um so Einschätzungen über mögliche haltungsbedingte Schäden und deren tierschutzrelevante Folgen treffen zu können. Zusätzlich wurde der für die Fragestellung wichtige Funktionskreis „Ruheverhalten“ mit seinen zugehörigen Bewegungsabläufen in die Studie mit einbezogen.

Mastbullen werden üblicherweise auf Betonspaltenboden gehalten, der ihnen als Lauf- und Liegeplatz dient. Haltungsbedingte Hautläsionen an den beim Abliegen und Aufstehen exponierten Gelenkregionen standen bisher nicht im Fokus des wissenschaftlichen Interesses, haben aber eine hohe Relevanz, nicht nur für die Beurteilung des Wohlbefindens der Tiere, sondern auch im Hinblick auf mögliche klinische Folgeerkrankungen und deren ökonomische Konsequenzen.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Tiere in vier Gruppen eingeteilt (Betonspaltenboden mit 2,5-3 m²/Tier= Betongruppe, 32 Tiere; gummimodifizierte Spaltenboden mit 2,5 - 3,0 m²/Tier = G1-Gruppe, 40 Tiere; gummimodifizierte Spaltenboden mit 4,5 - 5,0 m²/Tier = G2-Gruppe, 40 Tiere; Strohaufstallung, 6 Tiere = Strohgruppe). Das Ruhe-, Liege- und Aufstehverhalten der Tiere wurde dokumentiert (nur Spaltenbodengruppen) und das Integument im Bereich der dorsalen Karpalgelenke makroskopisch beurteilt. Nach Schlachtung wurden Proben der entsprechenden Hautareale jedes dorsalen Karpalgelenks histologisch untersucht. Zusätzlich wurden von den auf Stroh gehaltenen Tieren lateral am dorsalen Karpalgelenk Hautproben entnommen und als Vergleichsprobe für nicht-druckexponierte Haut untersucht und ausgewertet (laterale Kontrolle).

Die Untersuchungen des Ruhe-, Aufsteh- und Abliegeverhaltens zeigten, dass der Positionswechsel und insbesondere die Belastung der Karpalgelenke von den Tieren auf Betonspaltenboden hinausgezögert oder durch artuntypische Bewegungsmuster umgangen wird.

Die makroskopische Inspektion der Haut im Bereich der dorsalen Karpalgelenke ergab für die Untersuchungsparameter Krusten und bindegewebige Schwellungen in der Beton-Gruppe gegenüber G1 und G2 signifikant erhöhte Werte, die Karpalgelenke der Strohgruppe war zum relevanten Untersuchungszeitpunkt wegen zu hoher Verschmutzung nicht auswertbar.

Bei der histologischen Untersuchung der entsprechenden druckexponierten Hautareale fand sich bei allen Versuchsgruppen eine Dickenzunahme der Hautschichten im Vergleich zu den Ergebnissen der nicht-druckexponierten lateralen Kontrollgruppe. Von dieser Dickenzunahme waren alle Hautschichten betroffen, ihre Ausprägung nahm von der Stroh- über die Gummispaltenvarianten zur Betongruppe hin zu, während zwischen den beiden Gummispaltenvarianten keine Unterschiede nachgewiesen werden konnten. Im Bereich der Subkutis traten bei den Spaltenbodenvarianten sogenannte subkutane Schleimbeutel auf, welche als Anpassung an extreme chronische Druckbelastung zu werten sind. Als Reaktion auf die gesteigerte epidermale Proliferationsrate fand sich in der Dermis ein entsprechend ausgeprägter Papillarkörper, der in der Betongruppe vermehrt mit elastischen Fasern ausgestattet war, vermutlich infolge der erhöhten Scherkräfte des Betonspaltenbodens. Innerhalb der Epidermis fanden sich die größten morphometrischen Unterschiede, zu denen zahlenmäßig das Stratum corneum am meisten beitrug. Hier zeigten die Befunde der Betonspaltenengruppe extreme Werte, die im Vergleich zur Strohgruppe etwa 8fach erhöht waren.

Für die drei Spaltenbodenvarianten korrelierten die Mitoseraten und die Häufigkeit des Auftretens von parakeratotischen Hyperplasien (kernhaltige Zellen im Stratum corneum) als Zeichen beschleunigter Verhornung mit dem Schichtdickenwachstum der Epidermis. Abweichende Werte hiervon traten in der Strohgruppe auf.

Ein gehäuftes Auftreten von Entzündungszellen war bei der Betongruppe und der Strohgruppe zu beobachten, aber nicht statistisch signifikant. Während bei der Betongruppe die histologischen Befunde mechanisch bedingte Hautläsionen als Entzündungsursache nahe legten, wiesen bei der Strohgruppe verschiedene Indizien auf eine Schädigung der Integrität der epidermalen Barriere-Funktion hin, bedingt durch die chemisch-physikalische Einwirkung von feuchter, gülledurchtränkter Liegefläche in den letzten Lebenswochen.

Es wurden verschiedene histochemische Färbungen angefertigt, anhand derer die Keratinisierung und Verhornung der Epidermis beurteilt wurde. Signifikante Unterschiede zwischen den Untersuchungsgruppen konnten jedoch nicht festgestellt werden.

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben ein umfassendes Bild von den Adaptationsmöglichkeiten der Haut des dorsalen Karpalgelenks unter den Einflüssen verschiedener Haltungsformen und lieferten histologische Erklärungen für makroskopisch sichtbare Hautveränderungen. Die festgestellten Hautalterationen am dorsalen Karpalgelenk sind als Schutzreaktion auf die erhöhten mechanischen Belastungen zu sehen. Bei den auf Betonspaltenboden gehaltenen Tieren führt diese jedoch nicht zu der Konsequenz, dass ein bedarfsdeckendes und schadensvermeidendes Bewegungsmuster beim Aufsteh- und Abliegevorgang möglich ist. Dies lässt die hohe tierschutzrelevante Brisanz dieser Haltungsform deutlich werden.

6 Summary

Histological investigation of the dorsal carpal joint integument of differently housed fattening bulls

Aim of this trial was to investigate - both macro- and microscopically - the effects of various surfaces on the integument of dorsal carpal joints, the main stress zones when cattle rest and rise, using differently housed fattening bulls as samples. The histological differences, which result from the varying housing types, were described to assess possible postural deformities and their subsequent consequences for animal protection with the help of the respective results. Additionally the functional circle “rest behaviour” with its respective motion sequence, which is important to the question at hand, was also included in the trial.

Fattening bulls are usually held on concrete slatted floor, which serves as surface for moving and resting. Postural integument lesions at the joint regions exposed during the resting and rising process were previously not of scientific interest. They do, however, have a high relevance, not only for the assessment of the animals' well-being, but also regarding possible subsequent clinical illnesses and their economic consequences.

In this trial animals were divided in four groups (concrete slatted floor with 2,5-3 m² = concrete group, 32 animals; rubber topped slatted floor with 2,5 - 3.0 m²/animal = G1-group, 40 animals; rubber topped slatted floor with 4,5- 5.0 m²/animal = G2-group, 40 animals; straw housing, 6 animals = straw group). The resting, rising and lie down behaviour of the animals was documented (only slatted floor groups) and the integument in the dorsal carpal joint area was macroscopically examined. Samples of the respective integument areas of each carpal joint were histologically examined after slaughtering. In addition samples were laterally taken from the animals housed on straw at the carpal joint integument. These were examined and analyzed as reference specimen for non-pressure-exposed integument (lateral control).

The analysis of the resting, rising and lie down behaviour showed that the position change and in particular the stress on the carpal joints is delayed or avoided by animals using atypical motion patterns on concrete slatted floor.

The macroscopic inspection of the integument within the area of the dorsal carpal joints concerning the trial parameters scab and swelling of connective tissue showed significantly increased values in the concrete group in comparison to G1 and G2. The carpal joints of the straw group could not be examined at the relevant time of trial due to high defilement.

The histological investigation of the respective pressure-exposed integument areas showed a thickness increase in all experimental groups compared to the results of the lateral control group not exposed to pressure. All integument layers were affected by this increase in thickness, its effects increased from the straw over the rubber to the concrete group, while no differences could be accounted for between the two rubber groups. The so called bursae subcutis occurred in subcutaneous tissue areas with the slatted floor groups, which is to be regarded as adaption to extreme chronic pressure. As reaction to the increased epidermal proliferation rate an accordingly higher developed stratum papillare, which had an increased amount of elastic fibres in the dermis, was found in the concrete group, probably due to the increased shearing forces of the concrete slatted floor. Within the epidermis were the largest morphometric differences, to which the stratum corneum contributed the most in terms of numbers. Here the results of the concrete group displayed extreme values, which were about 8-times increased in comparison to the straw group.

For the three slatted floor types the mitosis rates and the frequency of occurring parakeratosis hyperplasia (nucleated cells in the stratum corneum) correlated as signs of accelerated hornification with the layer thickness growth of the epidermis. Deviating values were documented in the straw group.

An accumulated presence of inflammation cells could be observed in the concrete and the straw group; it was, however, not statistically significant. While the histological results suggested mechanically caused integument lesions as an inflammation cause in the concrete group, various findings pointed to a damage of the integrity of the epidermal barrier function, due to the chemical-physical influence of a wet, liquid manure-impregnated lie down area in the final weeks of life with the straw group.

Various histochemical colourings were prepared for the assessment of the keratinisation and hornification of the epidermis. Significant differences between the investigated groups could, however, not be determined.

The implemented investigations produced a comprehensive overview of the development of the dorsal carpal joint's integument under the effects of various housing types and led to a histological explanation of macroscopically visible integument changes. The determined integument changes at the dorsal carpal joint are to be regarded as an attempt of the integument to form a protection against increased mechanical stress. Nevertheless, in case of animals housed on concrete slatted floor, it does lead to the conclusion that a motion pattern which is covering demand and avoids damage is not possible with the rising and lying down process. This demonstrates the high animal-protection risk of this housing type.

7 Literaturverzeichnis

- Alibardi L, Toni M, Dalla Valle L (2007). Hard cornification in reptilian epidermis in comparison to cornification in mammalian epidermis. *Exp Dermatol* 16:961-976.
- Allen TD, Potten CS (1975). Desmosomal form, fate, and function in mammalian epidermis. *J Ultrastruc Res* 51:94-105.
- Anthauer K (1996). Der segmentspezifische Aufbau des Interzellularkittes in der Hufepidermis des Pferdes. Diss. med. vet. FU Berlin.
- Anthauer K, Mülling C, Budras KD (2005). Membrane-coating granules and the intercellular cementing substance (membrane-coating material) in the epidermis in different regions of the equine hoof. *Anat Histol Embryol* 34:298-306.
- Ballantine HT, Socha MT, Tomlinson DJ, Johnson AB, Fielding AS, Shearer JK, Van Amstel SR (2002). Effects of feeding complexed zinc, manganese, copper and cobalt to late gestation and lactating dairy cows on claw integrity, reproduction, and lactation performance. *Professional Animal Scientist* 18:211-218.
- Barnett RJ, Seligman AM (1952). Demonstration of protein-bound sulfhydryl and disulfide groups by two new histochemical methods. *J nat Cancer Inst* 13:215-216.
- Barnett RJ, Seligman AM (1954). Histochemical demonstration of sulfhydryl and disulfide groups of protein. *J nat Cancer Inst* 14:769-792.
- Benz B (2002). Elastische Beläge für Betonspaltenböden in Liegeboxenlaufställen. Diss. Fakultät für Agrarwissenschaften II Universität Hohenheim.
- Bertram JEA, Gosline JM (1987). Functional design of horse hoof keratin: The modulation of mechanical properties through hydration effects. *J Exp Biol* 130:121-136.
- Bildungs- und Wissenszentrum Aulendorf (2006). Einfluss von elastischen Bodenoberflächen in Vollspaltenbuchten auf Tiergesundheit, Mastleistung und Klauenwachstum bei Mastbullen. *Versuchsbericht 2-2006*: 1-23.
- Bollinger C (1991). The equine hoof: Morphological and histochemical findings. Diss. Veterinärmedizinische Fakultät Zürich.

- Bortz J, Lienert GA (2008). Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. Leitfaden für die verteilungsfreie Analyse kleiner Stichproben, 3. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg. ISBN 978-3-540-75737-5.
- Bragulla H (1996). Zur fetalen Entwicklung des Pferdehufes. Habil. med. vet. FU Berlin.
- Bragulla H, Budras KD, Mülling C, Reese S, König HE (2004). Allgemeine Körperdecke. In: König HE, Liebich HG (Hrsg. + Autoren): Anatomie der Haussäugetiere, 3. Auflage. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York. 605-656. ISBN 978-3-7945-2650-5.
- Bragulla H, Budras KD, Stede M (1991). Zum Aufbau der Epidermis an der Bauchhaut des Seehundes (*Phoca vitulina*). *Anat Histol Embryol* 20:267.
- Bragulla H, Ernsberger S, Budras KD (2001). On the development of the papillary body in the feline claw. *Anat Histol Embryol* 30:211-217.
- Bragulla H, Hirschberg, RM (2003). Horse hooves and bird feathers: Two model systems for studying the structure and development of highly adapted integumentary accessory organs – the role of the dermo-epidermal interface for the micro-architecture of complex epidermal structures. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 298:140-151.
- Brody I (1960). The ultrastructure of the tonofibrils in the keratinization process of the normal epidermis. *J Ultrastruc Res* 4:264-297.
- Brysk MM, Rajarman S (1992). Cohesion and desquamation of epidermal stratum corneum. *Prog Histochem Cytochem* 25:1-53.
- Budras KD, Bragulla H (1991). Besonderheiten des Membrane Coating Materials (MCM, Kittsubstanz zwischen den Keratinozyten) im harten Horn des Pferdehufes. *Anat Anz (Suppl.)* 170:435-436.
- Budras KD, Hullinger RL, Sack WO (1989). Light and electron microscopy of keratinization in the lamellar epidermis of the equine hoof with reference to laminitis. *Am J Vet Res* 50:1150-1160.
- Bühl A (2006). SPSS 14. Einführung in die moderne Datenanalyse. Pearson Studium, München. ISBN 3-8273-7203-8.
- Calhoun ML, Stinson AW (1981). Integument. In: Dellmann HD, Brown, EM (eds.): *Textbook of Veterinary History*. Lea and Febiger, Philadelphia, 404-411.
- Cheng X, Koch PJ (2004). In vivo function of desmosomes. *J Dermatol* 31:171-187.

- Cohen SM, Gorbsky G, Steinberg MS (1983). Immunohistochemical characterisation of related families of glycoproteins in desmosomes. *J Biol Chem* 258:2621-2627.
- Coulombe PA, Tong X, Mazzalupo S, Wang Z, Wong P (2004). Great promises yet to be fulfilled: Defining keratin intermediate filament function in vivo. *Eur J Cell Biol* 83:735-746.
- Cruickshank CND (2006). The microanatomy of the epidermis in relation to trauma. *J Tissue Viability* 16:16-19.
- Dale BA, Presland RB, Fleckman P, Kamu E, Resing KS (1993). Phenotypic expression and processing of filaggrin in epidermal differentiation. In: Darmon M, Blumenberg M (eds.): *Molecular biology of the skin: The keratinocyte*. Academic Press, San Diego, 76-106. ISBN 978-0-1220-3455-8.
- Elias PM (1981). Lipids and the epidermal permeability barrier. *Arch Derm Res* 270:95-117.
- Elias PM, Brown BE, Fritsch P, Goerke J, Gray GM, White RJ (1979). Localization and composition of lipids in neonatal mouse stratum granulosum and stratum corneum. *J Invest Dermatol* 73:339-348.
- Elias PM, Friend, DS (1975). The permeability barrier in mammalian epidermis. *J Cell Biol* 65:180-191.
- Elias PM, McNutt NS, Friend, DS (1977). Membrane alterations during cornification of mammalian squamous epithelia, a freeze-fracture, tracer, thin-section study. *Anat Rec* 189:577-594.
- Farbman AJ (1966). Plasma membrane changes during keratinization. *Anat Rec* 156:269-282.
- FAT-Berichte: Nr. 618/2004 (FAT Tänikon, CH-8356 Ettenhausen). Gummierte Betonspaltenböden für Rindviehmastställe, Vergleich mit eingestreuten Zweiflächenliegebuchten und Betonvollspaltenboden. Friedli K, Gygax L, Wechsler B, Schulze Westerath H, Mayer C, Thio T, Ossent P.
- Flower FC, de Passillé AM, Weary DM, Sanderson DJ, Rushen J (2007). Softer, higher-friction flooring improves gait of cows with and without sole ulcers. *J Dairy Sci* 90:1235-1242.
- Franck A, De Belie N (2006). Concrete floor-bovine claw contact pressures related to floor roughness and deformation of the claw. *J Dairy Sci* 89:2952-2964.

- Franck A, Verheghe B, De Belie N (2008). The effect of concrete floor roughness on bovine claws using finite element analysis. *J Dairy Sci* 91:182-192.
- Franke WW, Kartenbeck J (1993). Cytokeratins. In: Kreis T, Vale R (eds.): *Guidebook to the cytoskeletal and motor proteins*. Oxford Univ. Press, Oxford [u.a.], 145-148. ISBN 0-19-859931-5.
- Fraser RDB, MacRae TP (1980). Molecular structure and mechanical properties of keratins. In: Vincent JF, Currey D (eds.): *The mechanical properties of biological materials. Symposia of the society for experimental biology* 34. Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney. 211-246. ISBN 0-521-23478-6.
- Fraser RDB, MacRae TP, Rogers GE, Thomas CC (1972). *Keratins: Their composition, structure and biosynthesis*. Thomas Verlag, Springfield.
- Freinkel RK, Traczyk TN (1983). Acid hydrolases of the epidermis: Subcellular localization and relationship to cornification. *J Invest Dermatol* 80:441-446.
- Fritsch P (2004). *Aufbau und Funktionen der Haut*. In: *Dermatologie Venerologie*. 2. Auflage. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 4-42. ISBN 978-3-540-00332-8.
- Frohnes AK (1999). *Struktur, Verhornung und Hornqualität in Sohlen- und Ballen-Strahlsegment des Pferdehufes*. Diss. med. vet. FU Berlin.
- Getsios S, Huen AC, Green KJ (2004). Working out the strength and flexibility of desmosomes. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5:271-281.
- Giroud A, Leblond CP (1951). The keratinization of epidermis and its derivatives, especially the hair, as shown by x-ray diffraction and histochemical studies. *Ann NY Acad Sci* 53:613-626.
- Görmar FE, Bernd A, Bereiter-Hahn J, Holzmann H (1990). A new model of epidermal differentiation: Induction by mechanical stimulation. *Arch Dermatol Res* 282:22-32.
- Grayson S, Johnson-Winegar AG, Wintroub BU, Isseroff RR, Epstein EH, Elias PM (1985). Lamellar body-enriched fractions from neonatal mice: Preparative techniques and partial characterization. *J Invest Dermatol* 85:289-294.
- Green KJ, Simpson CL (2007). Desmosomes: New perspectives on a classic. *J Invest Dermatol* 127:2499-2515.

- Grosenbaugh DA, Hood DM (1992). Keratin and associated proteins of the equine hoof wall. *Am J Vet Res* 53:1859-1863.
- Gumbiner BM (2005). Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6:622-634.
- Guthrie SC, Gilula NB (1989). Gap junctional communications and development. *Trends Neurosci* 12:12-16.
- Habermehl KH (1996). Haut und Hautorgane. In: Nickel R, Schummer A, Seiferle E (Hrsg). *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Bd. III, 3. Auflage*. Verlag Parey, Berlin, 443-570. ISBN 3-8263-3053-6.
- Halata Z, Grim M, Bauman KI (2003). Friedrich Sigmund Merkel and his „Merkel cell“, morphology, development, and physiology: Review and new results. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*. 271:225-39.
- Hamrick MW (2001). Development and evolution of mammalian limb: Adaptive diversification of nails, hooves and claws. *Evol Dev* 3:355-363.
- Hashimoto K (1969). Cellular envelopes of keratinized cells of the human epidermis. *Arch Klin Exp Derm* 235:374-385.
- Hashimoto K (1971a). Ultrastructure of the human toenail: I. Cell migration, keratinization and formation of the intercellular cement. *Arch Dermatol Forsch* 240:1-22.
- Hashimoto K (1971b). Ultrastructure of the human toenail: II. Keratinization and formation of the marginal band. *J Ultrastruc Res* 36:391-410.
- Hashimoto K (1971c). Cementosome, a new interpretation of the membrane-coating granule. *Arch Dermatol Forsch* 240:349-364.
- Hashimoto Y, Reese S, Bragulla H, Budras KD (1992). Eine lectinhistochemische Untersuchung der Epidermis von Haut und Huf des Pferdes. *Anat Histol Embryol* 21:238-245.
- Hayward AF (1978): Ultrastructural changes in contents of membrane-coating granules after extrusion from epithelial cells of hamster cheek pouch. *Cell Tiss Res* 187:323-331.
- Hayward AF (1979). Membrane-coating granules. *Int Rev Cytol* 59:97-127.
- Hayward AF, Hackemann M (1973). Electron microscopy of membrane-coating granules and a cell surface coat in keratinized and nonkeratinized human oral epithelium. *J Ultrastruc Res* 43:205-219.

- Hayward AF, Kent AP (1983). Gap junctions in the epidermis of fetal rats studied by transmission electron microscopy. *J Ultrastruct Res* 84:182-193.
- Hendry KAK, MacCallum AJ, Knight CH, Wilde CJ (1997). Laminitis in the dairy cow: A cell biological approach. *J Dairy Res* 64: 475-486.
- Hengge U (2006). Das System Haut. In: Hengge U, Ruzicka T (Hrsg): *Lehrbuch der Dermatologie und Venerologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 3-7. ISBN 978-3-8047-2178-4, ISBN 3-8047-2178-8.
- Hinterhofer C, Ferguson JC, Apprich V, Haider H, Stanek C (2006). Slatted floors and solid floors: Stress and strain on the bovine hoof capsule analyzed in finite element analysis. *J Dairy Sci* 89:155-162.
- Hirschberg RM, Mülling C, Budras KD (2001). Pododermal angioarchitecture of the bovine claw in relation to form and function of the papillary body: A scanning electron microscopic study. *Microsc Res Tech* 54:375-385.
- Hirschberg RM, Plendl J (2005). Pododermal angiogenesis and angioadaptation in the bovine claw. *Microsc Res Tech* 66:145-155.
- Hultgren J, Bergsten C (2001). Effects of a rubber-slatted flooring system on cleanliness and foot health in tied dairy cows. *Prev Vet Med* 52:75-89.
- Irie K, Shimizu K, Sakisaka T, Ikeda W, Takai Y (2004). Roles and models of action of nectins in cell-cell adhesion. *Semin Cell Dev Biol* 15:643-656.
- Karmann A (2001). Die peri- und postnatale Entwicklung der Epidermis des Katzenballens. Diss. vet. med. FU Berlin.
- Kelly DE, Shienvold FL (1976). The desmosome: Fine structural studies with freeze-fracture replication and tannic acid staining of sectioned epidermis. *Cell Tiss Res* 172:309-323.
- Kempson SA, Logue DN (1993). Ultrastructural observations of hoof horn from dairy cows: The structure of the white line. *Vet Rec* 132:524-527.
- Kirk RW, Muller GH, Scott DW (1993). Aufbau und Funktionen der Haut. In: Koch HJ (Hrsg.). *Kleintier- Dermatologie*. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, 1-39. ISBN 3-437-30668-5.
- Korte B (1987). Ein Beitrag zur Entwicklung der Klaue des Schafes mit besonderer Berücksichtigung der Hornbildung. Diss. med. vet. FU Berlin.

- Kremer P (2006). Vergleich von Klauengesundheit, Milchleistung und Aktivität bei Kühen auf Betonspaltenboden und auf Spaltenboden mit elastischen Auflagen. Diss. med. vet. Ludwig-Maximillan-Universität München.
- Kremer P, Nüske S, Scholz AM, Förster M (2006). Einfluss von elastischem Bodenbelag auf Milchmenge, Fett, Eiweiß und Zellgehalt bei Kühen in Laufstallhaltung. Arch Tierz, Dummerstorf 49:250-258.
- Kremer PV, Nueske S, Scholz AM, Foerster M (2007). Comparison of claw health and milk yield in dairy cows on elastic and concrete flooring. J Dairy Sci 90:4603-4611.
- Kühnel W (2008). Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie für Studium und Praxis, 12. Auflage, 58-61. ISBN 9783133486125.
- Künzel E (1990). Haut (Integumentum commune). In: Mosimann W, Kohler T (Hrsg.): Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere. Verlag Paul Parey, Berlin, 259-287. ISBN 3-489-51616-8.
- Landmann L (1980). Lamellar granules in mammalian, avian, and reptilian epidermis. J Ultrastruc Res 72:245-263.
- Landmann L (1986). Epidermal permeability barrier: Transformation of lamellar granule-disks into intercellular sheets by a membrane-fusion process, a freeze-fracture study. J Invest Dermatol 87:202-209.
- Lavker RM (1976). Membrane coating granules: The fate of the discharged lamellae. J Ultrastruc Res 55:79-86.
- Leach DH (1993). Structural changes in intercellular junctions during keratinization of the stratum medium of the equine hoof wall. Acta Anat 147:44-55.
- Leach DH, Oliphant LW (1984). Degradation of annular gap junctions of the equine hoof wall. Acta anat 120:214-219.
- Liebich HG, Reese S, Budras KD (2004). Allgemeine Körperdecke (Integumentum commune). In: Liebich HG. (Hrsg.): Funktionelle Histologie der Haussäugetiere, 4. Auflage. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 311-330. ISBN 3-7945-2311-3.
- Liisberg MF (1968). Rhodamine B as an extremely specific stain for cornification. Acta Anat (Basel) 69:52-57.

- Lowe DE, Steen RW, Beattie VE, Moss BW (2001). The effects of floor type systems on the performance, cleanliness, carcass composition and meat quality of housed finishing beef cattle. *Livest Pod Sci* 69:33-42.
- Lundström A, Egelrud T (1988). Cell shedding from human plantar skin in vitro: evidence of its dependence on endogenous proteolysis. *J Invest Dermatol* 91:340-343.
- Lundström A, Egelrud T (1990). Evidence that cell shedding from plantar stratum corneum in vitro involves endogeneous proteolysis of the desmosomal protein desmoglein I. *J Invest Dermatol* 94:216-220.
- Marks R (2004). The stratum corneum barrier: The final frontier. *J Nutr* 134 (Suppl. 8): 2017S-2021S. ISSN: 0022-3166/04.
- Marquart-Elbaz C, Varnaison E, Sick H, Grosshans E, Cribier B (2001). Le tissu cellulaire sous-cutané. Observations anatomiques. *Ann Dermatol Venereol* 128:1207-1213.
- Matoltsy AG (1975). Desmosomes, filaments, and keratohyaline granules: Their role in the stabilization and keratinization of the epidermis. *J Invest Dermatol* 65:127-142.
- Matoltsy AG, Parakkal PF (1967). Keratinization. In: Zelikson AS (ed.): *Ultrastructure of normal and abnormal skin*. Verlag Henry Kimpton, London, 76-104.
- Mayer C, Thio T, Schulze Westerath H, Ossent P, Gygax L, Wechsler B, Friedli K (2007). Vergleich von Betonspaltenböden, gummimodifizierten Spaltenböden und Buchten mit Einstreu in der Bullenmast unter dem Gesichtspunkt der Tiergerechtigkeit. *Landbau-forschung Völkenrode FAL Agricultural Research, Sonderheft 303*. Braunschweig. ISBN 978-3-86576-027-2, ISSN 0376-0723.
- McKinley-Grant LJ, Idler WW, Bernstein IA, Parry DAD, Cannizzaro L, Croce CM, Huebner K, Lessin SR, Steinert PM (1989). Characterization of a cDNA clone encoding human filaggrin and localization of the gene to chromosome region 1q21. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 4848-4852.
- Meşe G, Richard G, White TW (2007). Gap junctions: Basic structure and function. *J Invest Dermatol* 127:2516-2524.
- Moll I (2005). Mikroskopische Struktur und Differenzierung der Haut. In: Moll I, Jung E (Hrsg.): *Dermatologie*, 6. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart, 1-14. ISBN 3-13-126686-4.

- Moll R, Franke WW, Schiller, DL, Geiger B, Krepler R (1982). The catalog of human cytoke-ratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 31:11-24.
- Müller M, Platz S, Ehrlein J, Ewringmann T, Mölle G, Weber A (2005). Bakteriell bedingte Thrombembolie bei Milchkühen – eine retrospektive Auswertung von 31 Sektionsfäl-len unter besonderer Berücksichtigung des Ursachenkomplexes. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 118:121-127.
- Mülling C (1993). Struktur, Verhornung und Hornqualität in Ballen, Sohle und weißer Linie der Rinderklaue und ihre Bedeutung für Klauenerkrankungen. Diss. med. vet. FU Ber-
lin.
- Mülling C (1998). Anatomy and structure of the hoof horn. In: Lischer CJ (ed.): Proc. 10th Int. Symp. on Lameness in Ruminats, Lucerne, 176-188.
- Mülling C (2000). Three-dimensional appearance of bovine epidermal keratinocytes in diffe-rent stages of differentiation revealed by cell maceration and scanning electron mic-roscopic investigation. *Folia Morphol* 59:239-246.
- Mülling C, Bragulla H, Budras KD, Reese S (1994). Strukturelle Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität und Prädilektionsstellen für Erkrankungen an der Fussungsfläche der Rinderklaue. *Schweiz Arch Tierheilk* 136:49-57.
- Mülling C, Budras KD (1998). Der Interzellularkitt (Membrane coating material, MCM) in der Epidermis der Rinderklaue. *Wien Tierärztl Msch* 85:216-223.
- Mülling CKW, Bragulla HH, Reese S., Budras KD, Steinberg W (1999). How structures in bovine hoof epidermis are influenced by nutritional factors. *Anat Hist Embryol* 28:103-108.
- Nakano S, Fukuyama K, Epstein WL (1987). The highly modified membrane of cornified cells in stratified squamous epithelia: A comparison of heterogenous deposits in kera-tinized and nonkeratinized epithelia. *Cell Tiss Res* 249:331-336.
- Niessen CM (2007). Tight junctions / adherens junctions: Basic structure and function. *J In-vest Dermatol* 127:2525-2532.
- Odland GF, Reed TH (1967). Epidermis. In: Zelickson AS (ed.): *Ultrastructure of normal and abnormal skin*. Verlag Henry Kimpton, London, 54-75.
- Overton J (1974). Cell junctions and their development. *Progr Surf Membr Sci* 8:161-208.

- Pang YYS, Schermer A, Yu J, Sun TT (1993). Suprabasal change and subsequent formation of disulfide-stabilized homo- and hetero-dimers of keratins during esophageal epithelial differentiation. *J Cell Sci* 104:727-740.
- Parry DAD, Steinert PM (1995). Intermediate filament structure (Molecular biology intelligence unit). Springer Verlag, Heidelberg, 9-144. ISBN 3-540-59080-3.
- Pellmann R, Reese S, Bragulla H (1993). Wechselwirkungen zwischen Hornstruktur und Hornqualität am Pferdehuf als Grundlage für das Verständnis von Verhornungsstörungen. *Mh Vet Med* 48:619-626.
- Petry G, Overbeck L, Vogell W (1961). Sind Desmosomen statische oder temporäre Zellverbindungen? *Naturwissenschaften* 6:166-167.
- Platt S (2004). Die reticulate scales an den Fußballen schwerer Mastputen und deren Beeinflussung durch unterschiedliche Biotindosierungen unter Feldbedingungen. Diss. med. vet. FU Berlin.
- Platz S, Ahrens F, Bahrs E, Nüske S, Erhard MH (2007). Association between floor type and behaviour, skin lesions, and claw dimensions in group-housed fattening bulls. *Prev Vet Med* 80:209-221.
- Platz S, Ahrens F, Bendel J, Meyer HHD, Erhard MH (2008). What happens with cow behaviour when replacing concrete slatted floor by rubber coating: a case study. *J Dairy Sci* 91:999-1004.
- Reichelt J (2007). Mechanotransduction of keratinocytes in culture and in the epidermis. *Eur J Cell Biol* 86:807-816.
- Rogers MA, Winter H, Langbein L, Wolf C, Schweizer J (2000). Characterization of a 300 kbp region of human DNA containing the type II hair keratin gene domain. *J Invest Dermatol* 114:464-472.
- Romeis B (1989). *Mikroskopische Technik*, 17. Auflage. Verlag Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore. ISBN 978-3-8274-1676-6.
- Rushen J, de Passillé AM (2006). Effects of roughness and compressibility of flooring on cow locomotion. *J Dairy Sci* 89:2965-2972.
- Rushen J, Haley D, de Passillé AM (2007). Effect of softer flooring in tie stalls on resting behavior and leg injuries of lactating cows. *J Dairy Sci* 90:3647-3651.

- Samel M (2005). Gummibeschichtete Laufflächen für Milchkühe und deren Einfluss auf Klauenwachstum und Klauengesundheit im Vergleich zu betonierten Laufflächen. Diss. Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Schlüter H, Wepf R, Moll I, Franke WW. (2004). Sealing the live part of the skin: The integrated meshwork of desmosomes, tight junctions and curvilinear ridge structures in the cells of the uppermost granular layer of the human epidermis. *Eur J Cell Biol* 83:655-665.
- Schulze Westerath H, Gygax L, Mayer C (2004). Liegeverhalten von Mastbullen in Liegeboxenlaufställen mit weichen Matten. *Aktuelle Arbeiten zur artgemäßen Tierhaltung. KTBL-Schrift 437: 42-50.* Darmstadt. ISBN 3-7843-2183-6.
- Schweizer J, Bowden PE, Coulombe PA, Langbein L, Lane EB, Magin TM, Maltais L, Omary MB, Parry DAD, Rogers MA, Wright MW (2006). New consensus nomenclature for mammalian keratins. *J Cell Biol* 174:169-174.
- Seidel M (1992). Makroskopische, Licht- und Elektronenmikroskopische Untersuchung an der Krallen des Hundes. Diss. med. vet. FU Berlin.
- Sogstad ÅM, Østerås O, Fjeldaas T (2006). Bovine claw and limb disorders related to reproductive performance and production diseases. *J. Dairy Sci* 89:2519-2528.
- Somers JG CJ, Frankena K, Noordhuizen-Stassen EN, Metz JHM (2003). Prevalence of claw disorders in Dutch dairy cows exposed to several floor systems. *J Dairy Sci* 86:2082-2093.
- Somers JG CJ, Schouten WGP, Frankena K, Noordhuizen-Stassen EN, Metz JHM (2005). Development of claw traits and claw lesions in dairy cows kept on different floor systems. *J Dairy Sci* 88:110-120.
- Stæhelin LA (1974). Structure and function of intercellular junctions. *Int Rev Cytol* 39:191-283.
- Steigleder GK (1992). *Dermatologie und Venerologie. Für Ärzte und Studenten, 6. Auflage.* Thieme Verlag, Stuttgart, New York. ISBN 3-13-487306-0.
- Steinert PM, Jones JCR, Goldman RD (1984). Intermediate filaments. *J Cell Biol* 99: 22-27.
- Stenn KS (1988). The skin. In: Weiss L (ed.): *Cell and tissue biology: A textbook of histology, 6th ed.* Urban und Schwarzenberg, Baltimore, 541-572. ISBN 0-8067-2176-6.

- Süsskind-Schwendi M. (2005). Die prae- und perinatale Entwicklung der Hundekralle. Diss. med. vet. FU Berlin.
- Swensson O, Langbein L, McMillan JR, Stevens HP, Leigh IM, McLean WH, Lane EB, Eady RA (1998). Specialized keratin expression pattern in human ridged skin as an adaptation to high physical stress. *Br J Dermatol* 139:767-775.
- Telezhenko E, Bergsten C (2005). Influence of floor type on the locomotion of dairy cows. *Appl Anim Behav Sci* 93:183-197.
- Teleszhenko E, Bergsten C, Magnusson M, Ventorp M, Nilsson C (2008). Effect of different flooring systems on weight and pressure distribution on claws of dairy cows. *J Dairy Sci* 91:1874-1884.
- Telezhenko E, Lidfors L, Bergsten C (2007). Dairy cow preferences for soft or hard flooring while standing or walking. *J Dairy Sci* 90:3716-3724.
- Thio T, Gygax L, Friedli K, Mayer C, Ossent P (2005). Einfluss von gummimodifizierten Spaltenböden auf die Klauengesundheit von Mastbullen. *Tierärztl Praxis* 33:77-84.
- Tomlinson DJ, Mülling CH, Fakler TM (2004). Invited review: Formation of keratins in the bovine claw: Roles of hormones, minerals, and vitamins in functional claw integrity. *J Dairy Sci* 87:797-809.
- Van der Tol PPJ, Metz JHM, Noordhuizen-Stassen EN, Back W, Braam CR, Weijs WA (2002). The pressure distribution under the bovine claw during square standing on a flat substrate. *J Dairy Sci* 85:1476-1481.
- Van der Tol PPJ, Metz JHM, Noordhuizen-Stassen EN, Back W, Braam CR, Weijs WA (2003). The vertical ground reaction force and the distribution on the claws of dairy cows while walking on a flat substrate. *J Dairy Sci* 86:2875-2883.
- Venegas J, Overton M, Berry SL, Sisco WM (2006). Effect of rubber flooring on claw health in lactating dairy cows housed in free-stall barns. *J Dairy Sci* 89:4251-4258.
- Vinken M, Vanhaecke T, Papeleu P, Snykers S, Henkens T, Rogiers V (2006). Connexins and their channels in cell growth and cell death. *Cell Signal* 18:592-600.
- Vokey FJ, Guard CL, Erb HN, Galton DM (2001). Effects of alley and stall surfaces on indices of claw and leg health in dairy cattle housed in a free-stall barn. *J Dairy Sci* 84:2686-2699.

- Watkinson A, Smith C, Coan P, Wiedon O (2000). The role of pro-SCCE and SCCE in desquamation. *IFSCC magazine* 3:45-49.
- Wheater PR, Burkitt HG, Daniels VG (1987). *Funktionelle Histologie*, 2. Auflage. Urban & Schwarzenberg, München, Berlin, Wien. ISBN 3-541-09032-4.
- White TW, Paul DL (1999). Genetic diseases and gene knockouts reveal diverse connexin functions. *Annu Rev Physiol* 61:283-310.
- Wolff HH (2005). Einführung. In: Braun-Falco O, Plewig G, Wolff HH, Burgdorf WHC, Landthaler M (Hrsg.). *Dermatologie und Venerologie*, 5. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg, 1-21. ISBN 3-540-40525-9.
- Yano S, Komine M, Fujimoto M, Okochi H, Tamaki K (2004). Mechanical stretching In Vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol* 122:783-790.
- Zerbe F, Niemann G, Scheithauer E (2008). Mastbullenhaltung – Alternativen in der Spaltenbodenhaltung. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 115:118-122.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Entnahmestelle der Hautproben am dorsalen Karpalgelenk	37
Abb. 2	Liegedauer in min. / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	49
Abb. 3	Anzahl der Liegeperioden / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	49
Abb. 4	Anzahl der Aufstehvorgänge mit arttypischem Bewegungsmuster / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	50
Abb. 5	Anzahl der Aufstehvorgänge mit nicht-arttypischem Bewegungsmuster / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	50
Abb. 6	Anzahl der Abliegevorgänge mit arttypischem Bewegungsmuster / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	51
Abb. 7	Anzahl der Abliegevorgänge mit artfremdem Bewegungsmuster / 24h in Abhängigkeit von der Haltung	51
Abb. 8	Anzahl der kurzen Stehphasen < 3min./24h in Abhängigkeit von der Haltung	52
Abb. 9	Anzahl der kurzen Stehphasen < 5 min./24h in Abhängigkeit von der Haltung	52
Abb. 10	Durchschnittliche tägliche Zunahmen (g) in Abhängigkeit von der Haltung	53
Abb. 11	dorsales Karpalgelenk, haarlose Stellen, offene Wunde	55
Abb. 12	dorsales Karpalgelenk, haarlose Stelle, Krusten	55
Abb. 13	dorsales Karpalgelenk, Krusten	56
Abb. 14	dorsales Karpalgelenk, haarlos, kleine Kruste	56
Abb. 15	dorsales Karpalgelenk, haarlos, weiche Schwellung	57
Abb. 16	dorsales Karpalgelenk, haarlos, weiche Schwellung	57
Abb. 17	dorsales Karpalgelenk, schmutzverkrustet bei „Einstreuhaltung“	58
Abb. 18	laterale Hautprobe, Epidermis und Subkutis ohne Anpassung an erhöhte Druckbelastung, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung	59
Abb. 19	Epidermis und Subkutis mit geringen Anpassungserscheinungen an die Druckbelastung, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung	59
Abb. 20	Beton-Gruppe, verdickte Epidermis und Subkutis, von links nach rechts in TC-, R/T- und HE-Färbung; Lupenvergrößerung (Extremvariante, nicht repräsentativ für die Betongruppe)	60
Abb. 21	Bild 1-4 zeigen neben einem Präparat mit normaler Subkutis verschiedene Extremvarianten für eine modifizierte Subkutis; Lupenvergrößerung	61
Abb. 22	Dicke der Subkutis in Abhängigkeit von der Haltung	62
Abb. 23	G1, Haut mit Haarwurzelscheiden, Talgdrüsen, TC; 50x	63

Abb. 24	Beton-Gruppe, verdickte Epidermis, Haarwurzelscheiden u. Talgdrüsen atresiert, TC; 50x	63
Abb. 25	Dermisdicke in mm in Abhängigkeit von der Haltung	64
Abb. 26	Anzahl Papillen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung	65
Abb. 27	Beton-Gruppe, sehr hoher Papillarkörper, TC; 50x	65
Abb. 28	G1, hoher Papillarkörper, TC; 50x	65
Abb. 29	Stroh-Gruppe, Papillarkörper mittlerer Höhe, TC; 50x	66
Abb. 30	laterale Kontrolle, niedriger Papillarkörper, TC; 50x	66
Abb. 31	Beton-Gruppe, stark zergliederter Papillarkörper, R/T; 50x	66
Abb. 32	Gefäße und Nerven im Stratum reticulare profundum, HE; 200x	66
Abb. 33	Stratum papillare, Messzahl 5; Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x	68
Abb. 34	Stratum papillare, Messzahl 4; Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x	68
Abb. 35	Stratum papillare, elastische Fasern ziehen in die Papille; Resorcin / fuchsin / Kern-echtrot; 400x	68
Abb. 36	Arterie im Stratum reticulare profundum; Resorcin/fuchsin/Kernechtrot; 400x	68
Abb. 37	Epidermisdicke in Abhängigkeit von der Haltung	69
Abb. 38	Epidermis auf Betonspalten, TC; 200x	69
Abb. 39	Epidermis auf Gummispalten, TC; 200x	69
Abb. 40	Epidermis auf Strohhaltung, TC; 200x	70
Abb. 41	Epidermis der lateralen Kontrolle, TC; 200x	70
Abb. 42	Stratum basale und unteres Stratum spinosum, HE; 400x	70
Abb. 43	oberes Stratum spinosum und Stratum granulosum, HE; 400x	70
Abb. 44	Dicke des Stratum spinosum in Abhängigkeit von der Haltung	71
Abb. 45	Beton-Gruppe, Granulosazelllagen, HE; 400x	72
Abb. 46	G1, Granulosazelllagen, HE; 400x	72
Abb. 47	Stroh-Gruppe, Granulosazelllagen, HE; 400x	72
Abb. 48	laterale Kontrolle, diskontinuierliche Granulosazelllage, HE; 400x	72
Abb. 49	Durchschnittliche Anzahl der Granulosazelllagen in Abhängigkeit von der Haltung	73
Abb. 50	Färbeverhalten von Epidermis mit HE; 200x	74
Abb. 51	Färbeverhalten von Epidermis mit R/T; 200x	74
Abb. 52	Färbeverhalten von Epidermis in TC; 200x	74
Abb. 53	Färbeverhalten von Epidermis mit HE; 100x	74
Abb. 54	Färbeverhalten von Epidermis mit R/T; 100x	74
Abb. 55	Färbeverhalten von Epidermis in TC; 100x	74
Abb. 56	Durchschnittliche Dicke des Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung	75

Abb. 57	Anaphase und Telophase, R/T; 400x	76
Abb. 58	Metaphase, Anaphase und Telophase, R/T; 400x	76
Abb. 59	Anaphase und beginnende Telophase, R/T; 800x	76
Abb. 60	Zytokinese, R/T; 800x	76
Abb. 61	Suprabasale Mitose, R/T; 400x	77
Abb. 62	Stroh-Gruppe, Zellkerne im Stratum corneum, Entzündungszellen, erhöhte Mitoserate, R/T; 200x	77
Abb. 63	Durchschnittliche Anzahl an Mitosen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung	77
Abb. 64	G1, starke Entzündung im Stratum corneum, R/T; 200x	78
Abb. 65	Stroh-Gruppe, Entzündungszellen im Stratum corneum, beidseits davon Hornzellen mit Zellkernen, R/T; 400x	78
Abb. 66	Beton-Gruppe, Epidermisdecke zerstört, starke Entzündung im Stratum corneum und -spinosum, R/T; 50x	79
Abb. 67	Beton-Gruppe, Entzündung hat die Basalmembran zerstört und ist in die Dermis vorgedrungen, R/T; 50x	79
Abb. 68	Stroh-Gruppe, Zellkerne und Entzündungszellen im Stratum corneum, R/T; 400x	80
Abb. 69	Stroh-Gruppe, erhöhte Mitoserate, R/T; 400x	80
Abb. 70	Stroh-Gruppe, Entzündungszellen in Dermis, R/T; 400x	80
Abb. 71	Beton-Gruppe, Zellkerne im Stratum corneum, R/T; 200x	81
Abb. 72	Beton-Gruppe, Zellkerne im Stratum corneum, R/T; 200x	81
Abb. 73	Durchschnittliche Häufigkeit von Zellkernen im Stratum corneum (Messzahl 0-5)	81
Abb. 74	Beton-Gruppe, Rhodaminfärbung des Stratum corneum, chromophobe obere Lagen, R/T; 100x	82
Abb. 75	G1, Rhodaminfärbung des Stratum corneum, R/T; 200x	82
Abb. 76	Anzahl Rhodamin-gefärbter Zelllagen in Abhängigkeit von der Haltung	83
Abb. 77	Anteil der Rhodamin-gefärbten Zelllagen an der Gesamtdicke im Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung,	83
Abb. 78	Beton-Gruppe, SH-Gruppen-Nachweis mit DDD-Reaktion; 100x	86
Abb. 79	Beton-Gruppe, SS-Gruppen-Nachweis mit DDD-Reaktion; 100x	86
Abb. 80	G1, R/T Färbung der Epidermis; 200x	86
Abb. 81	G1, SH-Gruppen-Färbung in der Epidermis; 200x	86
Abb. 82	G1, SS-Gruppen-Färbung in der Epidermis; 200x	86
Abb. 83	Stroh-Gruppe, R/T-Färbung der Epidermis; 200x	87
Abb. 84	Stroh-Gruppe, SH-Gruppen-Färbung der Epidermis; 200x	87
Abb. 85	Stroh-Gruppe, SS-Gruppen-Färbung der Epidermis; 200x	87
Abb. 86	laterale Kontrolle, R/T-Färbung der Epidermis; 200x	87

Abb. 87	laterale Kontrolle, SH-Gruppen-Färbung der Epidermis; 200x	87
Abb. 88	laterale Kontrolle, SS-Gruppen-Färbung der Epidermis; 200x	87
Abb. 89	G1, Färbung des IZK durch PAS-Reaktion; 400x	88
Abb. 90	Beton-Gruppe, Färbung des IZK durch PAS-Reaktion; 400x	88

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Anzahl der Tiere, die den Versuchsdurchlauf beendet haben, für die jeweiligen Buchtentypen	33
Tab. 2	Bewertungsschlüssel der FLI Celle für die Untersuchung der Karpalgelenke	36
Tab. 3	Einteilung der Hautproben in 4 verschiedene Auswertungsgruppen entsprechend ihrer Haltungsbedingungen (Bodenbeschaffenheit und Fläche/Tier) und eine Kontrollgruppe, bestehend aus den lateral entnommenen Hautproben	38
Tab. 4	Bezeichnung der Färbung und der daraus gefolgerten Konzentration an SS-/SH-Gruppen	42
Tab. 5	Bewertung der Dichte der elastischen Fasern mit Messzahlen 1-5	43
Tab. 6	Einteilung der Konzentration von kernhaltigen Zellen des Stratum corneum mit Messzahlen 0-5	45
Tab. 7	Durchschnittliche tägliche Zunahmen (g) in Abhängigkeit von der Haltung	53
Tab. 8	Anzahl der makroskopisch erhobenen Veränderungen der Haut am dorsalen Karpalgelenk und ihre prozentuale Häufigkeit in Abhängigkeit von der Haltung	54
Tab. 9	Dicke der Subkutis in Abhängigkeit von der Haltung	62
Tab. 10	Dichte der elastischen Fasern in der Subkutis in Abhängigkeit von der Haltung	62
Tab. 11	Dermisdicke in mm in Abhängigkeit von der Haltung.	64
Tab. 12	Anzahl Papillen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung.	65
Tab. 13	Dichte der elastischen Fasern im Stratum papillare in Abhängigkeit von der Haltung	67
Tab. 14	Dichte der elastischen Fasern im Stratum reticulare profundum in Abhängigkeit von der Haltung	67
Tab. 15	Epidermisdicke in Abhängigkeit von der Haltung	69
Tab. 16	Dicke des Stratum spinosum in Abhängigkeit von der Haltung	71
Tab. 17	Durchschnittliche Anzahl der Granulosazelllagen in Abhängigkeit von der Haltung	73
Tab. 18	Durchschnittliche Dicke des Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung	75
Tab. 19	Durchschnittliche Anzahl an Mitosen/mm Hautschnitt in Abhängigkeit von der Haltung	77
Tab. 20	Anzahl und Häufigkeit des Vorkommens von Entzündungszellen in den Hauptproben und deren Lokalisation in Abhängigkeit von der Haltung	79

Tab. 21	Durchschnittliche Häufigkeit von Zellkernen im Stratum corneum	82
Tab. 22	Anzahl Rhodamin-gefärbter Zellschichten und deren Anteil an der Gesamtdicke im Stratum corneum in Abhängigkeit von der Haltung	84
Tab. 23	Ergebnisse des SH-Gruppennachweises in den einzelnen Schichten der Epidermis	85
Tab. 24	Ergebnisse des SS-Gruppennachweises in den einzelnen Schichten der Epidermis	85

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Erhard für die Überlassung des Themas bedanken. Mein besonderer Dank gilt außerdem Herrn Dr. Platz, der meine Arbeit zuverlässig betreut hat und jederzeit als hilfreicher Ansprechpartner zur Verfügung stand.

Mein außerordentlicher Dank gebührt Herrn Dr. Reese, durch dessen fachliche Betreuung und kompetenten Rat in allen histologischen Fragen diese Arbeit überhaupt erst möglich geworden ist.

Bedanken möchte ich mich auch beim Institut für Tierschutz und Tierhaltung (FLI Celle) für die Überlassung der Hautproben und des Bildmaterials, sowie der Ergebnisse zum Aufsteh- und Liegeverhalten und der Ergebnisse der Hautuntersuchungen aus dem Bullenhaltungsversuch und deren Gastfreundschaft bei meinem Aufenthalt in Celle, insbesondere bei Herrn Dr. Zerbe für die Einführung in den Haltungsveruch.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei den technischen Assistentinnen des Instituts für Tierschutz, Verhaltenskunde und Tierhygiene und dem Institut für Tieranatomie I, Frau Katrin Schuster, Frau Nicole Zobel und Frau Sylvia Mitterer und allen anderen Angestellten dieser Institute, welche mir durch die viele, nicht aufzählbare Hilfestellungen die Durchführung der Arbeit ermöglichten.

Zuletzt will ich mich auch bei meinen Tierarztkollegen der Praxis Gerster in Ochsenhausen bedanken, die mir nach besten Kräften den Rücken frei gehalten haben, wodurch die Fertigstellung dieser Arbeit möglich wurde.

Lebenslauf

Martin Kneer

Geboren: 25.05.1968 in Ehingen/Donau
 Beruf der Eltern: Landwirtschaft mit Milchviehhaltung
 4 Geschwister

1985 Mittlere Reife

1988 Landwirtschaftliche Gesellenprüfung

1989 Fachhochschulreife

1992 Abschlussprüfung zum Dipl.Ing.FH Landwirtschaft in
 Nürtingen

1993-2001 Betriebsleiter eines Milchviehbetriebes

07.03.2001-03.03.2002 Farmmanager für Savid in der Dominikanischen Repu-
 blik, Schwerpunkt: Milchviehhaltung und Management

seit 11.03.2002 Berater für Milchviehhaltung in Deutschland

14.10.2002-12.2007 Tiermedizinstudium in München

01.02.2003-31.12.2006 Fachberater für Tiergesundheit und Management im
 Milchviehbetrieb bei Bioland Bayern, mit einer halben
 Stelle während des Tiermedizinstudiums

Seit April 2007 Doktorand im Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde
 und Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät der Lud-
 wig-Maximilians-Universität München

10.01.2008 Approbation

Seit Januar 2008 Assistenztierarzt in der Tierarztpraxis Alois Gerster in
 Ochsenhausen-Mittelbuch

Familienstand: Seit 07.02.2008 verheiratet mit Jen-Li Marianne Kneer,
 geb. Bieg; Tierärztin. Drei Kinder aus 1. Ehe