

Aus dem Institut für Veterinär-Anatomie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Laboratorium Prof. Dr. K.-D. Budras

In Zusammenarbeit mit dem
Institut für Zoo- und Wildtierforschung (IZW)
im Forschungsverbund Berlin e.V.
Arbeitsgruppe "Raum und Zeit" unter der Leitung von
Dr. sc. K.-M. Scheibe

**SAISONALER EINFLUSS AUF HORNBIKDUNGSRATE,
HORNABRIEB UND HORNQUALITÄT IN DER HUFWAND VON
PRZEWALSKIPFERDEN (EQUUS FERUS PRZEWALSKII)**

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bianca Patan
Tierärztin aus Berlin

Berlin 2001
Journal-Nr. 2471

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

amtierender Dekan:	Univ.-Prof. Dr. G. Hildebrandt
erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. K.-D. Budras
zweiter Gutachter:	Prof. Dr. K. Dämmrich

Tag der Promotion:	28.02.2001
--------------------	------------

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	3
1. Bemerkungen zum Przewalskipferd (<i>Equus ferus przewalskii</i>)	3
2. Definition des Hufes	4
3. Hufunterhaut (<i>Tela subcutanea ungulae</i>) im Kronsegment	5
4. Huflederhaut (<i>Dermis ungulae</i>) im Kronsegment	5
5. Hufoberhaut (<i>Epidermis ungulae</i>) im Kronsegment	7
5.1 Architektonik des Hornzellverbandes im Stratum corneum der Kron-epidermis	8
5.2 Bau und Funktion der Hornröhrchen und des Zwischenröhrchenhornes	10
6. Epidermale Zelldifferenzierung	12
6.1 Keratinfilamente	12
6.2 Keratinfilament-assoziierte Proteine	17
6.3 Cornified cell envelope	18
6.4 Membrane coating granules und membrane coating material	20
7. Hornbildungsrate und Abnutzungsgrad des Kronhornes	23
7.1 Physiologische Faktoren mit Einfluss auf die Hornbildungsrate und den Hornabrieb	25
7.2 Alimentäre Faktoren mit Einfluss auf die Hornbildungsrate und den Hornabrieb	26
7.3 Jahreszeitlich bedingte Faktoren mit Einfluss auf die Hornbildungsrate und den Hornabrieb	27
7.4 Haltungsbedingte Faktoren mit Einfluss auf die Hornbildungsrate und den Hornabrieb	27
8. Hornqualität	28
8.1 Physiologische Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	30
8.2 Strukturelle Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	31
8.3 Ernährungsbedingte Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	33
8.4 Jahreszeitlich bedingte Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	35
8.5 Umweltbedingte Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	35

	<u>Seite</u>
III. MATERIAL UND METHODEN	36
1. Untersuchungsmaterial	36
1.1 Probeentnahmestellen	38
2. Ermittlung der Hornbildungsrate und des Hornverlustes des Kronhorns	39
3. Speichertelemetrische Messung der Bewegungsaktivität	40
4. Ermittlung des Körpergewichtes	40
5. Physikalische Materialprüfung	40
5.1 Bestimmung der Feuchtigkeitsparameter	41
5.2 Messung der Hornhärte	42
6. Methoden für die lichtmikroskopischen Untersuchungen	43
6.1 Histologische Übersichtsfärbungen	44
6.2 Histochemische Nachweisverfahren	44
6.2.1 Darstellung von Keratinen	44
6.2.2 Darstellung von Sulfhydrylgruppen und Disulfidbrücken	44
6.2.3 Nachweis von Glykogen sowie Zuckeranteilen in Lipiden und Proteinen	45
6.2.4 Darstellung von Lipiden	46
6.3 Histometrische Untersuchung	46
7. Methoden für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen	48
7.1 Trennung von Dermis und Epidermis	48
7.2 Gerichteter Gefrierbruch	48
7.3 Herstellung der Präparate für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung	48
8. Methoden für die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen	49
8.1 Immunhistochemische Untersuchung zur Darstellung von Keratinen	50
9. SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese	51
9.1 Extraktion der Proteine aus dem Hufhorn	51
9.2 Bestimmung der Proteinkonzentration	52
9.3 Herstellung der diskontinuierlichen Polyacrylamidgele	52
9.4 Auftrennung und Darstellung der Proteine	53

	<u>Seite</u>
10. Western Blotting	53
10.1 Proteintransfer	54
11. Differenzierung der Zytokeratine	54
12. Statistische Methoden	55
12.1 Methoden der beschreibenden Statistik	55
12.2 Methoden der schließenden Statistik	56
IV. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE	57
1. Hornbildungsrate des äußeren Kronhornes	57
1.1 Physiologische Einflussfaktoren der Hornproduktionsrate	59
1.2 Zusammenhang zwischen der Hornbildungsrate und der Bewegungsaktivität der Przewalskipferde	59
1.3 Zusammenhang zwischen der Hornbildungsrate und der Umgebungstemperatur	61
2. Monatlicher Hornverlust des äußeren Kronhornes	63
2.1 Physiologische Faktoren mit Einfluss auf den Hornabrieb	66
2.2 Zusammenhang zwischen dem Hornabrieb und dem Körpergewicht der Przewalskipferde	66
2.3 Zusammenhang zwischen dem Hornabrieb und der Bewegungsaktivität der Przewalskipferde	68
3. Zusammenhang zwischen der Hufhornproduktion und dem Hornverlust	69
4. Hornqualität	71
4.1 Ergebnisse der mechanisch-physikalischen Untersuchung	71
4.1.1 Feuchtigkeitsparameter des Hufhornes	71
4.1.2 Härteprüfung nach SHORE C	75
4.1.2.1 Härteprüfung nach SHORE C im Feldversuch	78
4.1.3 Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt und der Härte des Hufhornes	78
4.1.4 Einfluss von Alter, Geschlecht und Haltung der Przewalskipferde auf die mechanisch-physikalischen Horneigenschaften	79
4.1.5 Einfluss des Hornalters auf die mechanisch-physikalischen Eigenschaften des Hornes	79
4.1.6 Einfluss der Jahreszeit auf die mechanisch-physikalischen Horneigenschaften	80
4.1.7 Zusammenhang zwischen den mechanisch-physikalischen Horneigenschaften und der Entstehung von Tragrandausbrüchen	81

	<u>Seite</u>	
4.2	Strukturelle Parameter mit Einfluss auf die Hornqualität	82
4.2.1	Architektur des Zellverbandes in der Kronepidermis	82
4.2.1.1	Oberflächenrelief der Kronlederhaut	82
4.2.1.2	Architektur der basalen Epidermisgrenzfläche im Kronsegment	85
4.2.1.3	Gestalt und Anordnung der Zellen im Stratum basale und Stratum spinosum	86
4.2.1.4	Gestalt und Anordnung der Hornzellen im Stratum corneum der Kronepidermis	88
4.2.2	Interzelluläre Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	91
4.2.3	Intrazelluläre Faktoren mit Einfluss auf die Hornqualität	93
4.2.3.1	Lichtmikroskopische Untersuchung der intrazellulären Faktoren	93
4.2.3.2	Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung der intrazellulären Faktoren	96
4.2.3.3	Ultrastrukturelle immunhistochemische Untersuchung	99
4.2.3.4	Gelelektrophoretische Untersuchung der Proteine im Hufhorn	99
4.2.3.5	Immunologische Identifizierung der Keratinproteine	102
4.2.4	Beeinflussung der strukturellen Parameter durch Alter, Geschlecht und Haltung der Przewalskipferde	104
4.2.5	Einfluss des Hornalters auf die strukturellen Parameter	104
4.2.6	Beeinflussung der strukturellen Parameter durch die Jahreszeit	105
4.2.7	Zusammenhang zwischen den strukturellen Parametern des Hornes und der Entstehung von Tragrandausbrüchen	106
V.	DISKUSSION	108
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	136
VII.	SUMMARY	138
VIII.	ABBILDUNGEN	141
IX.	LITERATURVERZEICHNIS	178
X.	ANHANG	206

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

α	Irrtumswahrscheinlichkeit
C	Vernetzungsgrad
CE	cornified cell envelope
Ck	Zytokeratin / Cytokeratin
DDD-	Dihydroxy-Dinaphthyl-Disulfid-(Reaktion)
EGF	epidermaler Wachstumsfaktor / epidermal growth factor
H-Brücken	Wasserstoffbrückenbindungen
HE-	Hämalaun/Eosin-(Färbung)
HS-	high sulfur-(Proteine)
HT-	high tyrosin-(Proteine)
IFAP	Intermediärfilament-assoziierte Proteine
in Vorb.	in Vorbereitung
kDa	Kilodalton
LM	Lichtmikroskop(isches)
LMW-	Low Molecular Weight-(Marker)
MCGs	membrane coating granules
MCM	membrane coating material
Mw	arithmetischer Mittelwert
n	Stichprobenumfang
PAS-	Perjodsäure-Schiff-(Reaktion) / perjodic acid schiff-(reaction)
r	Pearsonscher Produkt-Moment-Korrelationskoeffizient
SD	Standardabweichung
SDS	Natriumdodecylsulfat / sodium dodecyl sulfate
SEM	Rasterelektronenmikroskop(isches) / scanning electron microscope
SH-	Sulfhydryl-(Gruppen)
SS-	Disulfid-(Gruppen)
T	Totalpolyacrylamidkonzentration
TBS(T)	Tris-gepufferte Kochsalzlösung / Tris buffered salt solution (mit 0,1 % Tween 20)
TEM-	Transmissionselektronenmikroskop(isches) / transmission electron microscope
TGF- α	transforming growth factor- α

Abkürzungen, die ausschließlich in Tabellen und Abbildungen zum Einsatz kommen, werden dort erklärt.

DANKSAGUNG

Meinem Lehrer und Doktorvater Professor Dr. K.-D. Budras gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas der Dissertation, für die zahlreichen Anregungen und seine jederzeit gewährte wissenschaftliche und persönliche Unterstützung.

Herrn Dr. sc. K.-M. Scheibe und Frau A. Scheibe vom Institut für Zoo- und Wildtierforschung in Berlin danke ich für die fruchtbare Zusammenarbeit bei der Untersuchung der im Semireservat Schorfheide gehaltenen Przewalskipferde sowie für die Überlassung der Messdaten zur Lufttemperatur und zum Körpergewicht der Pferde.

Frau Dr. A. Berger danke ich, dass sie mir die Daten zur Bewegungsaktivität der Przewalskipferde zur Verfügung gestellt hat.

Frau Chr. Schiel gilt mein herzlicher Dank für die Einweisung am Raster- und Transmissionselektronenmikroskop, für die Herstellung der Ultradünnschnitte sowie für ihr stets offenes Ohr bei fachlichen und persönlichen Problemen.

Bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe "Zehenendorgan" möchte ich mich für das gute Arbeitsklima und ihre ständige Hilfsbereitschaft bedanken.

Herrn Dr. Chr. Mülling und Herrn Priv.-Doz. Dr. H. Bragulla danke ich für die zahlreichen Anregungen und die konstruktive Kritik, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ein herzliches Dankeschön gilt Frau Dr. S. Buda für die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Lösung technischer Probleme am Computer.

Frau G. Schroer danke ich für das Besputtern der SEM-Präparate und Frau I. Küster-Krehan für die Beratung hinsichtlich der Durchführung der histochemischen Färbungen.

Frau Dr. W. Zimmermann vom Zoologischen Garten Köln, Koordinatorin des Europäischen Erhaltungszuchtprogramms für Przewalskipferde, bin ich sehr dankbar, dass sie die Beschaffung eines Großteils des Untersuchungsmaterials ermöglicht hat.

Weiterhin danke ich Frau Dr. Bachmann (Zoologischen Garten Leipzig), Frau Dr. G. von Hegel (Zoologischen Garten Karlsruhe), Herrn Dr. K. Schaller (Allwetterzoo Münster), Herrn K. Bleijenberg (Zoologischen Garten Rotterdam) sowie Frau Dr. J. Hector (Münchener Tierpark Hellabrunn) für die Unterstützung bei der Materialbeschaffung.

Bei Herrn Dr. F. Heyter (Wildpark Groß-Schönebeck), Herrn A. Broja (Semireservat Schorfheide-Liebenthal) und Herrn Dr. R. Göltenboth (Zoologischen Garten Berlin) möchte ich mich dafür bedanken, dass sie mir die Untersuchungen an den Przewalskipferden ermöglicht haben.

Frau Dr. G. Arndt vom Institut für Biometrie und Informationsverarbeitung des Fachbereichs Veterinärmedizin danke ich für die sorgfältige und geduldige Beratung bei der statistischen Auswertung der Daten.

Frau R. Hirschberg danke ich herzlich für die Übersetzung der Zusammenfassung.

Abschließend möchte ich mich bei all jenen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

LEBENS LAUF

Name: Bianca Patan
Geburtsdatum: 07.08.1970
Geburtsort: Berlin
Eltern: Konrad Patan
Christina Patan, geb. Hoffmann
Familienstand: ledig

Schulbildung:

1977 - 1984: Besuch der Clara-Zetkin-Oberschule in Berlin-Friedrichshain
1984 - 1990: Besuch des Gymnasiums der St.-Marien-Schule in Berlin-Neukölln
13.03.1990: Abitur

Beruflicher Werdegang:

WS 90/91 - WS 95/96: Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
12.04.1996: Approbation als Tierärztin
05.1996 -12.1996: Hospitantz / freie Mitarbeit an einer privaten Pferdeklunik bei Berlin
seit 12.1996: Doktorandin am Institut für Veterinär-Anatomie der Freien Universität Berlin
WS 97/98 - WS 99/00: Lehraufträge für die Präparier- und Histologieübungen am Institut für Veterinär-Anatomie der Freien Universität Berlin
01.04.1998 - 31.03.2000: NaFöG-Stipendiant

Die vorliegende Arbeit wurde durch ein Promotionsstipendium nach dem Gesetz zur Förderung des künstlerischen und wissenschaftlichen Nachwuchs (NaFöG) des Landes Berlin gefördert.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegenden Untersuchungen unter Zuhilfenahme der angegebenen Hilfsmittel und Literaturstellen selbständig durchgeführt habe.

Bianca Polan