

## D UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

### 1 Die Untersuchungsergebnisse der weiblichen Putenelterniere

#### 1.1 Die Biotinanalysewerte des Putenhennenfutters

**Tabelle 4:** Ergebnisse des mikrobiologischen Analyseverfahrens des Putenhennenfutters in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad und dem Termin

Biotinanalysewerte des Putenhennenfutters in $\mu\text{g}/\text{kg}$		
Termin I (4. Legewoche)		
Soll	Standard (400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Futter <sup>1</sup> )	Test (2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Futter <sup>1</sup> )
Ist	610	1500
	440	1400
	620	1900
Termin II (20. Legewoche)		
Ist	580	1800
	290	1600
	300	1700

<sup>1</sup> Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Futters

#### 1.2 Die Biotinanalysewerte der Bruteier

**Tabelle 5:** Biotingehalte in Dotter und Eiklar in  $\text{ng}/\text{g}$  in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und dem Legezeitpunkt

Biotingehalt der Putenbruteier in $\text{ng}/\text{g}$			
Biotingehalt des Putenhennenfutters pro $\text{kg}$ <sup>1</sup>	Probenmaterial	Termin I (4. Legewoche)	Termin II (20. Legewoche)
Standard 400 $\mu\text{g}$	Dotter	654	518
	Eiklar	240	168
Gesamtbiotingehalt		894	686
Test 2000 $\mu\text{g}$	Dotter	588	402
	Eiklar	616	510
Gesamtbiotingehalt		1204	912

<sup>1</sup> Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Futters

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich, wird in den Bruteiern von Testputen durchschnittlich 34 % mehr Biotin nachgewiesen als in Eiern von Standardhennen. Auch in der Verteilung des Gesamtbiotingehaltes auf die beiden Kompartimente Dotter und Eiklar unterscheiden sich die Fütterungsgruppen. Während bei Standardhennen vom Gesamtbiotingehalt durchschnittlich 75 % im Dotter und nur 25 % ins Eiklar eingelagert wird, übertragen die weiblichen Elterntiere bei Testfütterung dagegen im Mittel nur 46 % des Gesamtbiotins in den Dotter aber 54 % ins Eiklar.

Am ersten Termin (4. Legewoche) wird im Dotter der Testeier 10 % und am zweiten Termin (20. Legewoche) sogar 22 % weniger Biotin als im Eidotter der Standard Eier nachgewiesen. Dafür lagern die Testhennen am ersten Termin mit 157 % und am zweiten Termin mit 204 % deutlich mehr Biotin ins Eiklar ein als die Standardhennen.

Zum Ende der Legesaison kommt es zu einem Einbruch in der Biotinübertragung von der Putenhennne ins Brutei. In der 20. Legewoche wird im Mittel nur noch 76 % des ursprünglich übertragenen Biotins in den Bruteiern nachgewiesen. Während bei Standardfütterung 21 % weniger Biotin im Dotter und 30 % weniger im Eiklar analysiert wird, lagern die Testhennen 32 % weniger Biotin in den Dotter und 17 % weniger in das Eiklar ein.

### 1.3 Die Befruchtungs- und Schlupfrate

**Tabelle 6:** Befruchtungs- und Schlupfrate in Prozent in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und dem Legezeitpunkt

<b>Befruchtungs- und Schlupfrate in %</b>				
	<b>Termin I. (4. Legewoche)</b>		<b>Termin II. (20. Legewoche)</b>	
<b>Biotingehalt des Putenhennenfutters pro kg<sup>1</sup></b>	Standard 400 µg	Test 2000 µg	Standard 400 µg	Test 2000 µg
<b>Befruchtungsrate<sup>2</sup></b>	92,31	93,14	89,61	90,39
<b>Schlupfrate<sup>3</sup></b>	93,89	93,16	91,81	91,95

<sup>1</sup> Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Futters

<sup>2</sup> Befruchtungsrate in % bezogen auf die Eieinlage

<sup>3</sup> Schlupfrate in % bezogen auf die Befruchtungsrate

n = 19700 Bruteier

Tabelle 6 ist zu entnehmen, dass die Befruchtungsrate der Testeier an beiden Terminen mit 0,8 % über der der Standard Eier liegt. Dagegen ist die Schlupfrate der Testküken am ersten

Termin um 0,8 % niedriger als die der Standardküken. Am zweiten Termin liegt die Schlupfrate der Testküken mit 0,1 % über der der Standardküken.

Zwischen den beiden Terminen kommt es sowohl bei der Befruchtungs- als auch bei der Schlupfrate zu einer Verschlechterung der Ergebnisse in der 20. Legewoche. Unabhängig von der Putenhennenfütterung sinkt die Befruchtungsrate um 2,7 %. Der Abfall der Schlupfrate scheint dagegen durch den Biotingehalt des Hennenfutters beeinflusst zu werden. Bei Standardfütterung liegt die Schlupfrate des zweiten Termins um 2 % unter der des ersten Termins, während die Schlupfrate bei Testfütterung nur um 1,2 % im Vergleich zum ersten Termin sinkt.

## 2 Die Untersuchungsergebnisse der Nachkommen

### 2.1 Die makroskopischen Befunde und Biotinanalysedaten der Kükenlebern

Die Effektivität der Biotinübertragung vom weiblichen Puteneltern-tier bzw. dem Brutei auf das Küken wird anhand der Lebern von Foeten kurz vor dem Schlupf und am Schlupftag untersucht. Im Gegensatz zu den geschlüpften Küken, deren Lebern eine braunrote Farbe aufweisen, sind die Organe der Foeten durch die Pigmente der Dotterlipide eher gelblich-lehmfarben. Aufgrund der geringen Größe der Organe können die Lebern nicht einzeln sondern nur im „gepoolten“ Zustand auf ihren Biotingehalt hin analysiert werden.

**Tabelle 7:** Leberbiotingehalt der Nachkommen am 27. und 28. Bebrütungstag in mg/kg in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und dem Legezeitpunkt

		Leberbiotingehalt der Nachkommen in mg/kg			
		Termin I. (4. Legewoche)		Termin II. (20. Legewoche)	
Biotingehalt des Putenhennenfutters pro kg <sup>1</sup>		Standard 400 µg	Test 2000 µg	Standard 400 µg	Test 2000 µg
Bebrütungs-tag	27.	4.14	4.32	4.01	4.20
	28.	4.14	4.49	4.09	3.89

<sup>1</sup> Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Futters

In Tabelle 7 sind die analysierten Leberbiotingehalte der Küken am 27. und 28. Bebrütungstag aufgeführt. Bis auf die Lebern der frischgeschlüpften Küken des zweiten Termins

übertrifft der Leberbiotingehalt der Testküken den der Standardküken. Am ersten Termin lassen sich 4 % und 8 % mehr Biotin in den Lebern der Testküken des 27. bzw. 28. Inkubationstages nachweisen. Auch am 27. Bebrütungstag des zweiten Termins ist der Leberbiotingehalt der Testküken um 5 % höher als der der Standardküken. Am Schlupftag liegt jedoch der Leberbiotingehalt der Testküken um 5 % unter dem gleichaltriger Standardküken.

Zwischen dem ersten und zweiten Termin kommt es zu einer herabgesetzten Biotinübertragung. Am 27. Bebrütungstag wird sowohl bei den Standard- als auch bei den Testküken 3 % weniger Biotin in den Lebern nachgewiesen. Am Schlupftag ist zwischen dem Leberbiotingehalt der Standardküken des ersten und zweiten Termins eine Differenz von 1 %, während am zweiten Termin der Leberbiotingehalt der Testküken um 13 % unter dem des ersten Termins liegt.

## **2.2 Die makroskopische Beurteilung des Allgemeinzustandes der Küken und erste Symptome einer pathologischen Fußballenveränderung**

Die Nachkommen beider Elterntierfütterungsgruppen und Termine zeigen einen sehr guten Allgemeinzustand. Die Tiere sind aufmerksam und im Gegensatz zu Hühnerküken sehr zutraulich. Da es sich ausschließlich um männliche Putenküken handelt, beginnen diese sehr früh mit dem tierartspezifischen Imponiergehabe und den die ganze Gruppe erfassenden, wellenartig fortgeleiteten Lautäußerungen. Die Tiere weisen einen der Rasse und dem Alter entsprechenden Entwicklungszustand auf und sind gut genährt. Das Federkleid ist mit Ausnahme eines Kükens, das am Flügel bepickt wird, weiß, sauber und anliegend. Während der gesamten Haltungsperiode treten außer an den Fußballen keine weiteren krankhaften Veränderungen auf. Unabhängig von der Biotinfütterungsgruppe der Hennen kann bei einzelnen Nachkommen aus der 20. Produktionswoche (Termin II) schon ab dem vierten Lebenstag eine Rötung der Fußballen beobachtet werden (Abbildung 2a). Dabei ist vor allem die Basis der Schuppen betroffen, so dass die Kuppen der reticulate scales als farblich unveränderte, runde Areale in den hyperämischen Bezirken erscheinen. Am fünften Lebenstag erstreckt sich die Hyperämie zumeist über die gesamte Länge der betroffenen reticulate scales (Abbildung 2b). Zunehmend sind nun nicht nur die Sohlen- sondern auch die Zehenballen betroffen, und Schwellungen treten auf.

## **2.3 Die makroskopische Beurteilung und Klassifikation der Fußballengesundheit von Putenküken im Alter von 7, 14 und 21 Lebenstagen**

Am ersten und zweiten Termin (4. und 20. Legewoche) werden je fünf zufällig ausgewählte Nachkommen aus beiden Biotinfütterungsgruppen der Legehennen im Alter von 7, 14 und 21 Lebenstagen makroskopisch untersucht. Ziel der Untersuchung ist es herauszufinden, ob

der Biotinsupplementierungsgrad des Legehennenfutters oder der Reproduktionszeitpunkt bzw. das Alter der weiblichen Puten einen Einfluss auf die Fußballengesundheit der Nachkommen hat. Anhand der sichtbaren Befunde wird die Beurteilung der Fußballengesundheit mit Hilfe des in Kapitel 2.2 (Material und Methoden) ausführlich beschriebenen Bewertungsschlüssels vorgenommen.

**Tabelle 8:** Ergebnisse der Beurteilung und Klassifikation der makroskopisch sichtbaren Befunde an den Metatarsalballen der Nachkommen

Fußballenveränderungen: Einteilung in Klassen und Grade																	
Standard (400 µg/kg Futter) <sup>1</sup>									Test (2000 µg/kg Futter) <sup>1</sup>								
Termin	I. (4. Legewoche)				II. (20. Legewoche)				I. (4. Legewoche)				II. (20. Legewoche)				
Klasse	A		B		A		B		A		B		A		B		
Grad	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	3	
Kükenalter in Tagen	7	4	1	-	-	2	-	3	-	3	1	1	-	1	2	2	-
	14	4	-	1	-	-	1	4	-	2	1	1	1	-	1	3	1
	21	3	-	2	-	1	-	1	3	4	-	1	-	1	1	1	2
Σ	11	1	3	-	3	1	8	3	9	2	3	1	2	4	6	3	
		4				12				6				13			

<sup>1</sup> Menge des supplementierten, bioverfügbaren Biotins ohne Berücksichtigung des nativen Biotingehaltes des Elterntierfutters

n = 5

Klasse A: keine Veränderungen

Grad 0: regelmäßige, kuppelartige Form der reticulate scales, gleichmäßige Höhe, zartrosa bis hellgelbe Farbe

Klasse B: Veränderungen (Verlängerung der reticulate scales und Farbabweichungen)

Grad 1: Rötung

Grad 2: bräunliche Verfärbung

Grad 3: bräunliche Verfärbung, Verlängerung und plattenartige Verbindung mehrerer reticulate scales

## 2.4 Die statistische Auswertung der Beurteilung und Klassifikation der Fußballengesundheit

Weder bei Nachkommen der 4. noch der 20. Legewoche kann eine signifikante Wirkung des Biotingehaltes des Legehennenfutters auf die Ballengesundheit nachgewiesen werden. Während die Fußballenveränderungen bei Küken im Alter von einer Woche keinen signifikanten Einfluss des Termins (4. bzw. 20. Legewoche) zeigen, ist bei Küken der zweiten und dritten Lebenswoche ein statistisch bedeutsamer Termineffekt feststellbar.

Am ersten Termin weisen von insgesamt 30 Tieren 10 Küken krankhafte Sohlenballenveränderungen auf. Eine Unterscheidung nach Ausprägungsgraden ergibt, dass am ersten Termin 3 Küken Hautirritationen ersten Grades, 6 Tiere Veränderungen zweiten und 1 Pute Veränderungen dritten Grades zeigen.

Am zweiten Termin werden bereits bei insgesamt 25 Tieren Symptome einer Fußballendermatitis beobachtet, wovon 5 Küken krankhafte Befunde ersten Grades, 14 Puten Befunde zweiten Grades und 6 Nachkommen Befunde dritten Grades aufweisen. Anhand dieser Ergebnisse ist festzustellen, dass Küken des ersten Termins vor allem pathologische Veränderungen ersten und zweiten Grades aufweisen, wobei mit zunehmendem Alter eine Tendenz zu Dermatitissymptomen des zweiten Grades feststellbar ist. Am zweiten Termin setzen sich insgesamt 80 % der beobachteten Hautirritationen des Metatarsalballens aus krankhaften Veränderungen zweiten und dritten Grades zusammen, wobei diese Küken, im Gegensatz zum ersten Termin, mit steigendem Alter zunehmend pathologische Befunde dritten Grades zeigen. Generell weisen die untersuchten Putenküken des zweiten Termins eine schlechtere Fußballengesundheit auf und neigen im gleichen Alter wie Tiere des ersten Termins zu schwereren krankhaften Fußballenveränderungen.

Die Lokalisation der Irritationen kann sich mit steigendem Kükenalter ändern. Durch das große subkutane Fettpolster ist die Haut des Metatarsalballens plateauartig geformt. Die beobachteten Hautveränderungen lassen sich vor allem auf der Plateaufläche beobachten, wobei bei jüngeren Tieren häufig, aber nicht immer, das Zentrum betroffen ist. Bei Küken der dritten Lebenswoche, deren Ballenbereich viel breiter ist, befinden sich die Hautirritationen verstärkt am Übergang des Ballenplateaus in den kaudalen „Hangbereich“, mit der Tendenz zur halbmondförmigen Ausbreitung, unter Aussparung der Ballenmitte (Abbildung 3c). Die makroskopisch sichtbaren Hautirritationen treten in den meisten Fällen an den Sohlenballen beider Füße gleichermaßen auf, während unterschiedlich betroffene Metatarsalballen selten sind. Nur bei 10 % bzw. 20 % der Küken der 4. bzw. 20. Legewoche sind die Fußungsflächen in unterschiedlicher Weise verändert. Obwohl das Hauptkriterium der Beurteilung der Fußballengesundheit auf der makroskopisch erkennbaren Beschaffenheit der Metatarsalballen liegt, darf nicht außer Acht gelassen werden, dass neben den Sohlenballen auch die Haut der Digitalballen zu den mechanisch stark belasteten Arealen zählt. Sie weisen

ebenfalls pathologische Veränderungen auf, die den klinischen Erscheinungen an den Metatarsalballen gleichen. Betroffen sind vor allem die zweite und dritte Zehe (Ossa digitorum pedis II et III), wobei an der zweiten Zehe vor allem die Haut des proximalen Digitalballen und an der dritten Zehe beider proximal gelegener Digitalballen punktförmige Verfärbungen zeigt. Der Übergang der Zehenballen (Pulvini digitales) zu den Zwischenballenbereichen (Areae interpulvinares) weist dagegen eher rissartige Zusammenhangstrennungen und bräunliche Verkrustungen auf (Abbildung 3b). Vor allem am ersten Termin kann beobachtet werden, dass an den Digitalballen bereits Zeichen einer Pododermatitis in Form von Schuppung, Rötung oder bräunlicher Verfärbung vorliegen, bevor die Metatarsalballen betroffen sind.

## **2.5 Die allgemeine statistische Beurteilung der an Bruteiern bzw. Küken und an den reticulate scales erhobenen Parameter**

Bei der statistischen Überprüfung auf Gleichheit der Varianzen der Zielvariablen wurde festgestellt, dass abgesehen von der Körperlänge und dem Schalengewicht am 23. Bebrütungstag, dem lebenden Anteil der Epidermis an der Papillenspitze des 7. Lebensstages und des interpapillären Stratum corneum der zweiten Lebenswoche, von einer Varianzhomogenität ausgegangen werden kann (Signifikanzniveau  $p < 0,01$ ). Da sich die festgestellte Varianzheterogenität nur auf einzelne Bebrütungs- oder Lebensstage der Puten bezieht, wurde der Vollständigkeit halber auch für diese Fälle eine Varianzanalyse durchgeführt (Signifikanzniveau  $p < 0,05$ ). Bei der Varianzanalyse konnte, mit Ausnahme des Eigewichtes des 20. Bebrütungstages, des Lebergewichtes am Schlupftag und des Stratum corneum am Papillengrund und der Papillenspitze des 7. Lebensstages, keine Wechselwirkung zwischen dem Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und dem Termin beobachtet werden. Es ist davon auszugehen, dass es sich in diesen Fällen um einen Fehler des statistischen Tests handelt, der die Möglichkeit beinhaltet, dass die Hypothese bzw. die Alternative angenommen wird, obwohl sie falsch ist.

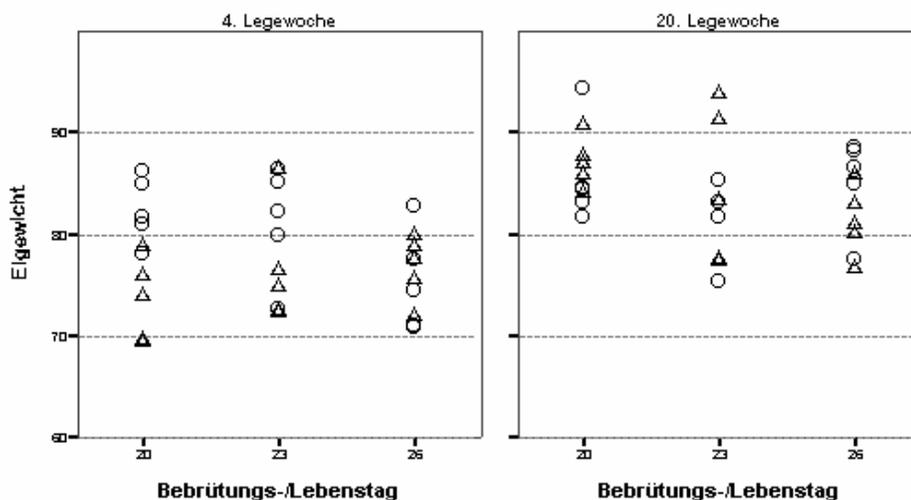
Bei der Beschreibung der erhobenen Gewichts- und Längenparameter wird grundsätzlich so verfahren, dass zuerst die Ergebnisse der statistischen Tests ausgeführt werden und danach die ausführliche Beschreibung der statistisch signifikanten Ergebnisse anhand der ermittelten Durchschnittswerte erfolgt. Die Durchschnittswerte aller untersuchten Parameter sind im Anhang (Tabelle 1-18) zusammengestellt und können dort nachgelesen werden.

## 2.6 Die statistische Auswertung und allgemeine Beurteilung der an Bruteiern bzw. Küken erhobenen Parameter

Abgesehen vom Lebergewicht des 26. Bebrütungstages hat der Biotingehalt des Putenhennenfutters keinen signifikanten Einfluss auf das Brutei-, Dotter- und Körpergewicht sowie die Körperlänge der Nachkommen.

### 2.6.1 Die statistische Auswertung der Bruteigewichte

Der Termin zeigt mit Ausnahme des 23. Bebrütungstages eine signifikante Wirkung auf das Gewicht der Bruteier. Die Eier der 20. Legewoche wiegen im Mittel 83,5 g und sind damit um durchschnittlich 6,8 g (8,9 %) schwerer als die der 4. Legewoche, die im Mittel 76,7 g wiegen. Kurz vor dem Schlupf sind die Bruteier durch Verdunstungsprozesse etwas leichter als zum Legezeitpunkt. In Textabbildung 3 sind die Einzelgewichte der Bruteier und ihre Streubreite aufgeführt.



n = 5

Δ = Standard: 400 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

O = Test: 2000 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

**Textabbildung 3:** Streudiagramm der Bruteigewichte in g in Abhängigkeit vom Bebrütungstag, der Biotinsupplementierung des Putenhennenfutters und des Legezeitpunktes

### 2.6.2 Die statistische Auswertung der Dottergewichte

Nur bis zum 23. Bebrütungstag ist der vollständige Dottersack der Untersuchung von außen zugänglich. Mit fortschreitender Entwicklung und zunehmender Verstoffwechslung des Dotters schrumpft der Dottersack und wird allmählich durch die offene Nabelpforte in die Bauchhöhle eingezogen.

Der Termin hat einen durchgehend signifikanten Effekt auf das Dottergewicht von Foeten des 20. und 23. Inkubationstages. Ein Vergleich des Dottergewichtes der 4. und 20. Legewoche zeigt, dass die Dottergewichte des zweiten Termins im Durchschnitt um 4,6 g (23,7 %) über denen des ersten Termins liegen. Bei den untersuchten Küken sinkt das Dottergewicht vom 20. bis zum 23. Bebrütungstag im Durchschnitt um 2,8 g bzw. 3,8 g (13,6 % bzw. 14,7 %) (4./20. Legeweche). Das Dottergewicht nimmt bis zum Schlupfzeitpunkt kontinuierlich ab, da der Dotter als Nährstoffreserve des Foeten und des Kükens in den ersten Lebenstagen dient. Bei den älteren Küken kann der zurückgebildete Dottersack als kleines Meckelsches Divertikel (Diverticulum vitellinum) am Dünndarm nachgewiesen werden.

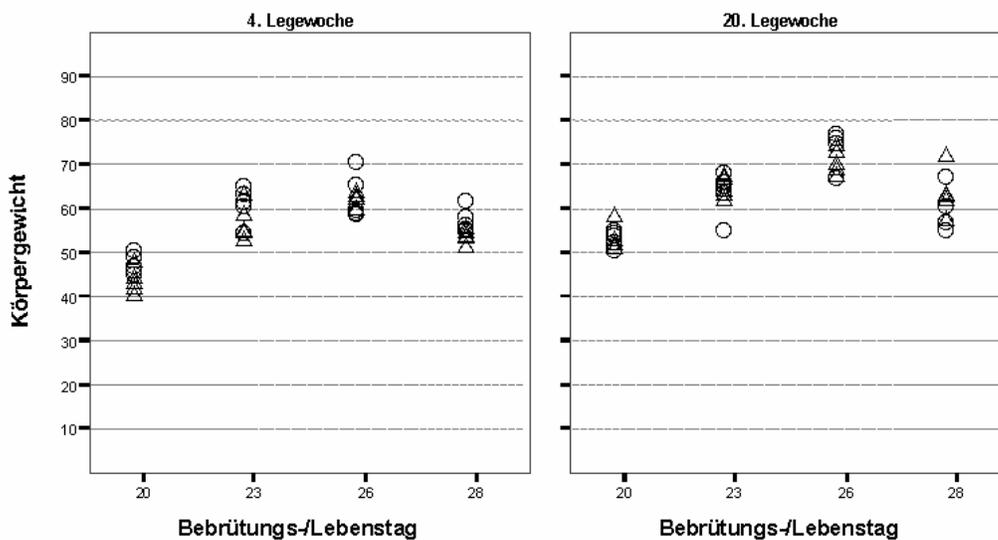
### **2.6.3 Die statistische Auswertung der Körpergewichte**

Bis zum 7. Lebenstag lässt sich ein signifikanter Effekt des Entnahmeterrins auf das Foeten- und Kükengewicht nachweisen. Dagegen zeigen Küken im Alter von 14 und 21 Tagen keine statistisch bedeutende Wirkung des Termins auf das Körpergewicht.

Wie aus Textabbildung 4 ersichtlich, ist beim Vergleich der beiden Termine festzustellen, dass bis zum Schlupf die untersuchten Nachkommen des zweiten Termins mit durchschnittlich 7,3 g (12,9 %) schwerer als die des ersten Termins sind. Nach dem Schlupf, d.h. am 7. Lebenstag sind ebenfalls die Küken des zweiten Termins um durchschnittlich 31,3 g (19,9 %) schwerer als die des ersten Termins. Der statistische Test zeigt für das mittlere Gewicht der Küken im Alter von zwei und drei Lebenswochen keinen signifikanten Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Termin. Anhand der Betrachtung der Einzelwerte aus Textabbildung 5 kann jedoch geschlossen werden, dass sich die Körpergewichte der bisher im Durchschnitt leichteren Nachkommen des ersten Termins, ab der ersten Lebenswoche unabhängig vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters, an das Gewicht der anfangs schwereren Nachkommen des zweiten Termins angleichen (Aufholeffekt).

Generell nehmen die untersuchten Foeten in Abhängigkeit von der Legeweche vom 20. bis 27. Bebrütungstag im Durchschnitt 37 % bzw. 30 % (4./20. Legeweche) an Körpergewicht zu. Am 28. Bebrütungstag wiegen die Küken im Mittel weniger als am 27. Bebrütungstag, da durch den Schlupf, die Umstellung der Stoffwechselfunktionen und die beginnende Mobilität (Nestflüchter) Flüssigkeit und Körperreserven verloren gehen. In der ersten Lebenswoche erhöhen die Küken ihr durchschnittliches Schlupfgewicht um das 2,9- bzw. 3,1-fache (4./20. Legeweche), während diese rasante Entwicklung bis zur zweiten Lebenswoche von einer 2,8- bzw. 2,4-fachen Gewichtszunahme (4./20. Legeweche) auf eine 1,8-fache Zunahme des Körpergewichtes zwischen zweiter und dritter Lebenswoche sinkt. Am Schlupftag sind die Küken im Mittel 55 g bzw. 61 g schwer (4./20. Legeweche) und nehmen bis zur dritten

Lebenswoche, in der sie durchschnittlich 796 g bzw. 812 g (4./20. Legewoche) wiegen, im Schnitt das 14- bzw. 13-fache ihres durchschnittlichen Schlupfgewichtes zu. Die Putenhähne der schweren Mastrasse Herkunft BUT Big 6 zeigen hierbei ihr enormes Wachstumspotential.

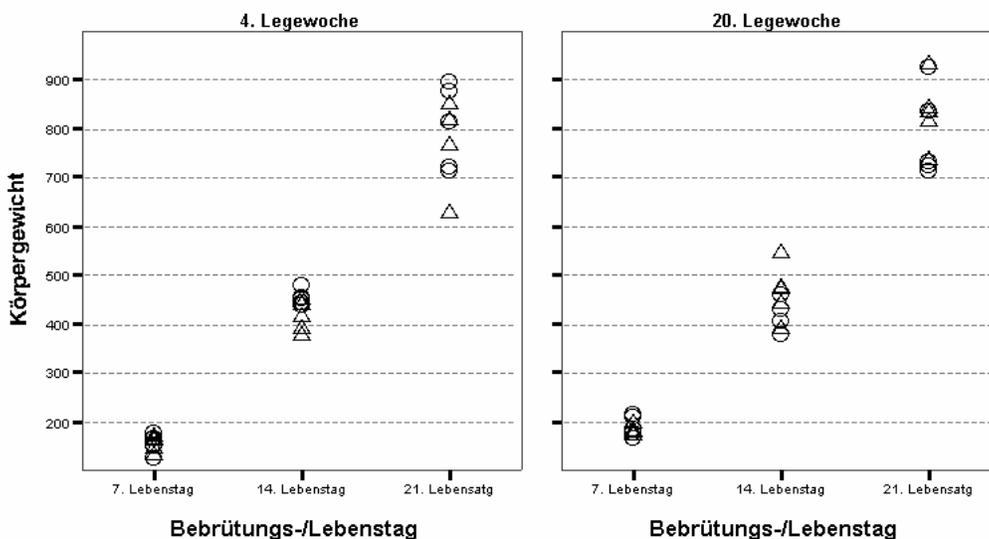


n = 5

Δ = Standard: 400 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

O = Test: 2000 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

**Textabbildung 4:** Streudiagramm der Körpergewichte der Putenfoeten (20., 23., 26. Bebrütungstag) und Frischgeschlüpften in g in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und des Legezeitpunktes



n = 5

△ = Standard: 400 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

○ = Test: 2000 µg Biotin/kg Putenhennenfutter

**Textabbildung 5:** Streudiagramm der Körpergewichte der Putenküken im Alter von 7, 14 und 21 Tagen in g in Abhängigkeit vom Biotinsupplementierungsgrad des Putenhennenfutters und des Legezeitpunktes

#### 2.6.4 Die statistische Auswertung der Körperlängen

Die Puten zeigen außer am 20. und 26. Bebrütungstag sowie am 21. Lebenstag einen signifikanten Einfluss des Termins auf die Körpergröße. Mit Ausnahme dieser Fälle sind die Küken des zweiten Termins bis zum 27. Bebrütungstag im Mittel um 0,8 cm (7,1 %) länger als die des ersten Termins. Am Schlupftag sind jedoch die Küken des ersten Termins um durchschnittlich 0,75 cm (5,1 %) größer als die des zweiten Termins, während nach dem Schlupf die Küken des zweiten Termins im Durchschnitt wieder um 2,1 cm (6 %) größer sind als die des ersten Termins.

#### 2.6.5 Die statistische Auswertung der Schalengewichte

Das Gewicht der Eischale zeigt keinen signifikanten Effekt des Termins. Die Schalen der Bruteier wiegen im Durchschnitt 8,4 g.

#### 2.6.6 Die statistische Auswertung der Lebergewichte

Das Lebergewicht wird außer am 26. Bebrütungstag nicht signifikant durch den Biotingehalt des Legehennenfutters beeinflusst. Bis auf den 26. und 28. Bebrütungstag zeigen die Lebergewichte der Puten auch keine statistisch bedeutende Wirkung des Termins.

Am 26. Bebrütungstag sind die Lebern der Testfoeten des ersten Termins um durchschnittlich 134 mg (16,5 %) und die des zweiten Termins im Mittel um 59 mg (6,3 %)

schwerer als die Organe der Standardfoeten. Außerdem liegen am 26. Bebrütungstag die durchschnittlichen Lebergewichte von Testfoeten des zweiten Termins im Mittel um 121 mg (15 %) und die der Standardküken um durchschnittlich 46 mg (4,9 %) über denen des ersten Termins. Am Schlupftag liegen die durchschnittlichen Lebergewichte von Küken des zweiten Termins im Mittel um 167 g ( 11,9 %) über denen des ersten Termins.

### **3 Die Befunde der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen der reticulate scales der Nachkommen**

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung erfolgt an der Oberfläche der reticulate scales bzw. an Hautquerschnitten und wird unter folgenden Zielsetzungen durchgeführt:

- Nachweis struktureller Unterschiede im Hautaufbau der Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen.
- Beschreibung der rasterelektronenmikroskopischen Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken.
- Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der krankhaften Veränderungen der Metatarsalballen.

#### **3.1 Nachweis struktureller Unterschiede im Hautaufbau der Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen**

Die untersuchten Proben zeigen keine strukturellen Unterschiede im Hautaufbau oder der Art der krankhaft veränderten Fußballen der Nachkommen. Es wird daher angenommen, dass keine Abhängigkeit der Hautstruktur und der Art der Fußballenirritationen zum Biotingehalt des Futters oder des Legezeitpunktes (Termin) der Putenhennen besteht. Der Termin wirkt sich aber auf die Häufigkeit des Auftretens der krankhaften Hautveränderungen am Fußballen aus. Nachkommen, die aus der 20. Legewoche der Putenhennen stammen, weisen Fußballenirritationen in verstärktem Maße auf. Im Folgenden wird daher die prae- und postnatale Struktur bzw. die Entwicklung der gesunden Haut und die krankhaften Fußballenveränderungen dem Alter der Nachkommen entsprechend aufgeführt. Dabei bleiben der Biotinsupplementierungsgrad des Futters und der Reproduktionszeitpunkt (Termin) der Putenhennen unberücksichtigt.

#### **3.2 Beschreibung der rasterelektronenmikroskopischen Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken**

Bei der Beschreibung der rasterelektronenmikroskopischen Befunde der Hautentwicklung wird der 20. Bebrütungstag sehr ausführlich behandelt. Die Darstellung der sich anschließenden Entwicklungsstufen erfolgt weniger detailliert, nur abweichende Beobachtungen werden genannt.

Am 20. Bebrütungstag (Abbildung 4a) sind die foetalen reticulate scales als gleichmäßige, noppenartige Modifikationen der Haut des Metatarsalballens erkennbar. Die Hautoberfläche wird von stark wasserhaltigen Peridermzellen gebildet, die aufgrund verarbeitungsbedingter Trocknung der Proben eine starke Faltenbildung zeigen (Artefakt). Die Dermis stellt sich als netzartige Struktur dar, in der blutgefüllte Kapillaren bis unter die Epidermis ziehen. Als helles, leicht gewelltes Band ist die Basalmembran zwischen Dermis und Epidermis sichtbar. Auf die hochprismatischen Zellen des Stratum basale folgen die zunächst polygonalen Zellen des Stratum intermedium, die sich mit zunehmender Reife stark verbreitern und abflachen. Zwischen den Zellen des lebenden Anteils der Epidermis sind die Interzellularspalten weit, verengen sich aber zur Epidermisoberfläche hin stetig (Abbildung 4b). Das Periderm bildet die Grenzschicht zwischen der foetalen Epidermis und dem Amnion, das den Foetus umgibt. Die Oberfläche der peridermalen Zellen wird von leisten- und fingerförmigen Zellausläufern gebildet, deren Formation dem Oberflächenrelief der Fingerbeere des Menschen und der Primaten ähnelt (Abbildung 4d und e).

Am 23. Bebrütungstag hat sich unter dem Periderm ein dünnes foetales Stratum corneum entwickelt, wodurch das Periderm seine nutritive und schützende Funktion verliert und langsam in großen Fetzen abgeschilfert wird (Abbildung 4c).

Vom 26. Bebrütungstag bis zum Schlupf am 28. Bebrütungstag (Abbildung 5a) verbreitert sich das Stratum corneum stark. In seiner oberflächlichen Abschilferungszone werden die Hornzellen einzeln oder in kleinen Verbänden abgestoßen. Die Zellen des stoffwechselaktiven Anteils der Epidermis besitzen im Gegensatz zu den Zellen des Stratum corneum viele Zellausläufer, die den Kontakt zu den Nachbarzellen herstellen (Abbildung 5e und f). Diese Zellverbindungen reduzieren sich im Zuge der Zelldifferenzierung stetig. An den jüngeren Hornzellen finden sich vor allem an den Zellrändern noch Verzahnungen, während die Zellober- und Unterseite kaum noch Erhebungen aufweist (Abbildung 5d). Den reifen Hornzellen gehen die Zellverbindungen vollständig verloren, was den Abschilferungsprozess erleichtert (Abbildung 5c). Innerhalb der Epidermis sind in Höhe des Übergangs vom Stratum basale zum Stratum intermedium Zusammenhangstrennungen zu finden, bei denen es sich um trockenungsbedingte Artefakte handelt (Abbildung 5b).

Ab dem 7. Lebenstag (Abbildung 6a) verändert sich die Oberflächenbeschaffenheit der reticulate scales. Unveränderte Schuppen zeigen eine schröpfkopfförmige Form mit einer oberflächlichen ringförmigen Einziehung, bei der es sich wahrscheinlich um ein Schrumpfungsfakt handelt. Im Gegensatz zu den foetalen reticulate scales stehen die Schuppen sehr dicht beieinander, nur im oberen Drittel bilden sich breitere interpapilläre Bereiche. Die oberflächlichen reifen Hornzellen zerfallen nun teilweise noch vor der Abschilferung auf der Oberfläche der reticulate scales (Abbildung 6b und c). Dadurch werden nicht nur intakte reife Hornzellen abgestoßen, sondern auch Zelltrümmer der aufgebrochenen Sebokeratinozyten

nehmen an diesem Vorgang teil. Durch den Zerfaserungsprozess der Sebokorneozyten wird auch deren fetthaltiger Inhalt an die Hautoberfläche abgegeben.

Die Entwicklungsabschnitte der gesunden Metatarsalballenhaut des 14. und 21. Lebensstages entsprechen den unter dem 7. Lebensstag beschriebenen Verhältnissen.

### **3.3 Rasterelektronenmikroskopische Darstellung der krankhaften Veränderungen der Metatarsalballen**

Ab einem Alter von einer Woche können die makroskopisch sichtbaren Fußballenveränderungen teilweise auch rasterelektronenmikroskopisch dargestellt werden. Die zu beobachtende entzündliche Hyperämie, die wahrscheinlich am Beginn der pathologischen Ballenveränderungen steht, sich aber in der Dermis abspielt, lässt sich mit dieser Methode leider nicht abbilden. Auf diese inflammatorischen Prozesse wird in der Besprechung der licht- und transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse näher eingegangen. Nur stärkere Hautirritationen, wie sie vor allem in der dritten Lebenswoche auftreten, können rasterelektronenmikroskopisch dargestellt werden.

In den lokal veränderten Hautarealen sind die reticulate scales stark verlängert. Sie laufen spitz zu und werden mit dem Erreichen einer bestimmten kritischen Länge durch die Belastung beim Fußenscheitelartig auseinander gedrückt (Abbildung 7a und 8a). Vom Scheitel ausgehend liegen die elongierten reticulate scales in Richtung des Randes der Hautveränderung schindelartig übereinander. Die verlängerten Schuppen werden beim allmählichen Übergang in klinisch unauffällige Hautareale niedriger und gehen in ihre unveränderte Form über. Der am Grund des Scheitels liegende, durch die Laufbewegung mechanisch stark belastete Interpapillärbereich weist teilweise eine Zusammenhangstrennung der Epidermis auf (Abbildung 7a und c), die sich bis in die darunterliegende Dermis fortsetzen kann. Im Gegensatz zu den unveränderten Schuppen besitzen die verlängerten reticulate scales durch ihre seitliche Neigung eine Unterseite und eine Oberseite, auf der die Pute zum Teil fußt. Vor allem in der Nähe des Scheitels zeigt das Stratum corneum der Schuppenoberseite breite Auflagerungen unstrukturierter und rissiger Detritusmassen (Abbildung 7b). Diese bilden sich durch Wundsekret, das im zerstörten Interpapillärbereich austritt und an den umstehenden reticulate scales der Schwerkraft folgend heruntersickert. Da die Schuppen ab der ersten Lebenswoche sehr dicht stehen, fließt das Exsudat vor allem an der Schuppenoberseite ab. Mit Einsetzen der Gerinnung kommt es, vor allem im Irritationsbereich, zu einer plattenartigen Verbindung der Außenseite mehrerer reticulate scales (Abbildung 8a). Da sich die Läsionen durch die ständige Bewegungsbelastung oft nicht schließen, sickert das Sekret ständig nach und erreicht auch entferntere reticulate scales, die in den Veränderungsprozess mit einbezogen werden. Die Oberflächenbeschaffenheit der geschädigten Schuppen gleicht einem erkalteten Lavastrom (Abbildung 8b).

Sie zeigt nicht mehr die sich abschilfernden oder zerfallenden Hornzellen, sondern eher ungeordnete Massen, in denen sich Zelltrümmer, Fibrinfäden, Mikroorganismen und Einstreuteile miteinander vermischen (Abbildung 8c).

#### **4 Die Befunde der lichtmikroskopischen Untersuchungen der reticulate scales der Nachkommen**

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen werden unter folgenden Zielsetzungen durchgeführt:

- Allgemeine Beschreibung der Verhornungsprozesse der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken.
- Nachweis morphologischer Unterschiede im Hautaufbau der Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen.
- Spezielle lichtmikroskopische und morphometrische Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken.
- Lichtmikroskopische Darstellung der pathologischen Veränderungen der Metatarsalballen.

##### **4.1 Allgemeine Beschreibung der Verhornungsprozesse der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken**

Die Fußungsfläche des Laufes wird von kuppelartigen Schuppen, den reticulate scales, bedeckt. Zwischen den Schuppen senken sich interpapilläre Furchen ein, die im Laufe der Entwicklung vom Foeten zum Küken immer niedriger werden. Die Haut der reticulate scales setzt sich aus drei Anteilen zusammen, der Subkutis (Unterhaut), der Dermis (gefäßführende Lederhaut) und der Epidermis (Oberhaut), die eine an die mechanischen Belastungen des Fußes angepasste Struktur besitzen. Die größtenteils aus Bindegewebe bestehende Dermis weist an den Metatarsalballen einen deutlichen Papillarkörper auf. Der Umstand, dass sich die Dermis zur Epidermis wie eine Matritze zur Patritze verhält, zeigt sich an der noppenartigen Ausbildung der reticulate scales. Ihre spezielle Form führt zu einer Vergrößerung der Oberfläche der Haut, durch die der Fuß flexibel und sicher auf unterschiedlichen Bodenstrukturen Halt findet. Schon am 20. Bebrütungstag bilden die dermalen Primärpapillen kleinere Sekundärpapillen aus, die sich als fingerförmige Ausläufer der Lederhaut weit in die Epidermis vorschieben. Sie dienen durch die Oberflächenvergrößerung der Verankerung beider Hautanteile sowie der Nährstoffversorgung der Epidermis. Da der zwischen den Sekundärpapillen gebildete Anteil der stoffwechselaktiven Oberhaut breiter als der über den Sekundärpapillen gebildete lebende Epidermisanteil ist, kommt es zu einer Begradigung der Oberfläche, so dass über beiden Hautarealen das Stratum corneum annähernd gleich breit ist. Die Dermis enthält Blutgefäße, die bis unter die

Basalmembran der Epidermis reichen können. In ihrem Lumen sind die auch für adulte Vögel typischen, kernhaltigen Erythrozyten und Serum zu erkennen (Abbildung 10b). Größere Nerven sind nur unterhalb des Papillarkörpers nachweisbar.

Die Oberhaut, ein mehrschichtiges, verhornendes Plattenepithel, besteht aus Epidermiszellen, die im Zuge der kontinuierlichen Hauterneuerung vom Stratum basale ausgehend zur Hautoberfläche geschoben werden, sich dabei differenzieren und als tote Hornzellen abschilfern. Wegen ihres hohen Fettgehaltes werden sie auch als Sebokeratinozyten bzw. -keratinozyten bezeichnet. Die auftretenden Unterschiede in der Zellmorphologie und im Zellstoffwechsel lassen während des Zellturnovers zwei große Differenzierungsstufen erkennen: Das Stratum corneum, das aus toten Hornzellen besteht, und der stoffwechselaktive Anteil der Epidermis, der sich aus lebenden Zellen zusammensetzt. Der stoffwechselaktive Anteil der Epidermis wiederum lässt sich aufgrund von unterschiedlichen Differenzierungsgraden, die sich in der Zellstruktur niederschlagen, in zwei Schichten aufteilen. Das Stratum intermedium und das durch seine Teilungsfähigkeit gekennzeichnete Stratum basale (Stratum germinativum). Ein durchgehendes Stratum transitivum konnte nicht beobachtet werden.

Während der Entwicklung im Ei scheinen die untersuchten Basalzellen, unabhängig vom Alter der Puten, eine annähernd konstante Größe zu haben, wobei die Basalzellen an der Sekundärpapillenspitze und im interpapillären Bereich etwas kürzer sind als die am Sekundärpapillengrund. Nach dem Schlupf sind die Basalzellen des Sekundärpapillengrundes und des Interpapillärbereiches im Durchschnitt fast gleich groß, während sie an der Sekundärpapillenspitze immer noch etwas kürzer sind. In der dritten Lebenswoche sind die interpapillären Basalzellen sogar länger als die nun gleich langen Basalzellen der Sekundärpapillenspitze und -spitze. Das Stratum intermedium des Sekundärpapillengrundes ist bis zum 28. Bebrütungstag breiter als das interpapilläre Stratum intermedium. Diese Verhältnisse kehren sich nach dem Schlupf um. Anders verhält es sich mit der Hornschicht. Das papilläre Stratum corneum über dem Sekundärpapillengrund und der Sekundärpapillenspitze ist etwa gleich breit, doch das interpapilläre Stratum corneum ist außer am 23. Bebrütungstag immer dicker als das papilläre Stratum corneum. Das papilläre Stratum corneum verbreitert sich vom 23. Bebrütungstag bis zum Schlupfzeitpunkt etwa um das 8fache, während das interpapilläre Stratum corneum sogar um das 46fache anwächst. Von der ersten bis zur dritten Lebenswoche wächst das papilläre Stratum corneum um das 2fache, während sich das interpapilläre Stratum corneum nur um das 1,5fache verbreitert. Die interpapilläre Epidermis ist während der foetalen Entwicklung dünner als die papilläre Epidermis. Ab dem Schlupfzeitpunkt ändern sich diese Situation, wodurch die interpapilläre Epidermis dicker als die papilläre wird.

#### **4.2 Nachweis morphologischer Unterschiede im Hautaufbau der Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen**

Bei den untersuchten Proben der Nachkommen war kein Unterschied in der Hautstruktur oder der Art der beobachteten krankhaften Fußballenveränderungen zu erkennen. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass keine Abhängigkeit dieser Merkmale vom Biotingehalt des Futters oder des Reproduktionszeitpunktes der Putenhennen besteht. Im Weiteren werden daher die foetale Entwicklung bzw. der Aufbau der gesunden Haut und die krankhaften Fußballenveränderungen gemäß des Alters der Nachkommen, aber ohne Rücksicht auf den Biotinsupplementierungsgrad des Futters und die Legewoche der Putenhennen, besprochen.

#### **4.3 Spezielle lichtmikroskopische und morphometrische Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken**

Bei der Beschreibung der lichtmikroskopischen Befunde zur Hautentwicklung wird der 20. Bebrütungstag sehr detailliert ausgeführt, während bei folgenden Entwicklungsstufen nur abweichende Beobachtungen geschildert werden.

Am 20. Bebrütungstag sind die reticulate scales durchschnittlich 215 µm lang und ihre interpapilläre Furchentiefe beträgt im Mittel 173 µm. Die foetale Dermis zeigt eine locker gefügte, bindegewebige Struktur, in die Gefäße verschiedenen Kalibers eingebettet sind. Schon zu diesem Entwicklungszeitpunkt ist ein kräftiger Papillarkörper ausgebildet, dessen Primärpapillen im Proximalbereich niedrige fingerförmige Sekundärpapillen zeigen. Die Epidermisdicke am Sekundärpapillengrund beträgt durchschnittlich 38 µm und misst an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 32 µm. Zu diesem frühen Entwicklungstermin ist noch kein Stratum corneum ausgebildet. Die epidermale Oberfläche wird durch peridermale Zellen gebildet, die vor allem zwischen den reticulate scales als große, polymorphe, meist scheinbar kernlose Zellen erkennbar sind und zur Papille der Schuppe hin stark abflachen. In den Peridermzellen sind viele acidophile Granula nachweisbar, die nur transmissionselektronenmikroskopisch deutlicher dargestellt werden können (Abbildung 13a). Das Stratum basale besteht aus einer Schicht hochprismatischer Zellen mit großen hochovalen Kernen und dunklerem Nukleolus. Die Zellen der Basalschicht messen am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 11 µm und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 9 µm. Aus drei bis fünf Reihen großer polygonaler Zellen setzt sich das Stratum intermedium zusammen, dessen Zellen und Kerne zur Hautoberfläche hin stark abflachen. Es hat am Sekundärpapillengrund eine durchschnittliche Dicke von 27 µm und an der Sekundärpapillenspitze von durchschnittlich 23 µm. Optisch helle, weite Interzellularräume reichen bis kurz unter die epidermale Oberfläche. Die interpapilläre Epidermis ist im Durchschnitt 27 µm dick, wovon

im Mittel 9  $\mu\text{m}$  durch das interpapilläre Stratum basale und 18  $\mu\text{m}$  durch das interpapilläre Stratum intermedium gebildet werden.

Am 23. Bebrütungstag (Abbildung 9a) erreichen die reticulate scales nun eine durchschnittliche Länge von 325  $\mu\text{m}$ , dies entspricht einem Schuppenwachstum zwischen dem 20. und 23. Bebrütungstag um etwa 50 %. Die Furchentiefe zwischen den untersuchten reticulate scales beträgt im Durchschnitt 279  $\mu\text{m}$ . Die am 20. Bebrütungstag beobachteten Sekundärpapillen sind im Proximalbereich der Primärpapille jetzt deutlicher ausgebildet und reichen bis auf die Höhe des unteren Stratum intermedium. Die Epidermis am Sekundärpapillengrund ist durchschnittlich 106  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Durchschnitt 69  $\mu\text{m}$  dick. Das einschichtige Stratum basale misst am Sekundärpapillengrund im Mittel 11  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 8  $\mu\text{m}$ . Das Stratum intermedium ist nun etwa doppelt so breit wie am 20. Bebrütungstag und besteht aus etwa zehn Zellreihen. Ab der Mitte des Stratum intermedium zeigen sich nun vereinzelte intrazellulär gelegene kleine runde Aufhellungen, deren Anzahl in Richtung des Stratum corneum zunimmt. Diese hellen Vakuolen entstehen durch das Herauslösen von Neutralfetten aus der Haut während der histologischen Prozedur und sind die Äquivalente kleiner Fetttropfen. Das Stratum intermedium misst am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 85  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 55  $\mu\text{m}$ . Die weiten Interzellularräume reichen nur noch bis in den unteren Teil des Stratum intermedium. Unter dem sich abschilfernden Periderm, das fast nur noch in den interpapillären Furchen zu finden ist, hat sich nun ein dünnes kompaktes Stratum corneum gebildet, das am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 6  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 7  $\mu\text{m}$  dick ist. Die Zellen des Stratum corneum sind kernlos, langgezogen, abgeflacht und weisen keine Struktur auf. Da die Nachbarzellen vor allem in den Polbereichen miteinander verzahnt sind, bilden sie als dünne, schichtweise übereinander gestapelte Lamellen die foetale Hornschicht. Die interpapilläre Epidermis misst durchschnittlich 37  $\mu\text{m}$ , wovon das interpapilläre Stratum basale durchschnittlich 7  $\mu\text{m}$ , das interpapilläre Stratum intermedium durchschnittlich 26  $\mu\text{m}$  und das interpapilläre Stratum corneum im Mittel 2  $\mu\text{m}$  ausmachen.

Zwischen dem 23. und 26. Bebrütungstag (Abbildung 9b) sind die reticulate scales um etwa 28 % auf durchschnittlich 415  $\mu\text{m}$  gewachsen. Zu diesem Entwicklungszeitpunkt beträgt die interpapilläre Furchentiefe im Mittel 286  $\mu\text{m}$ . Die etwa 60  $\mu\text{m}$  langen Sekundärpapillen reichen bis auf das Niveau des mittleren Stratum intermedium und sind etwa 10-15  $\mu\text{m}$  breit. Im Lateralbereich der dermalen Primärpapillen zeigen sich nun zunehmend niedrige Sekundärpapillen. Die Epidermisdicke am Sekundärpapillengrund misst im Durchschnitt 148  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 89  $\mu\text{m}$ . Die Basalzellen weisen am Sekundärpapillengrund eine mittlere Höhe von 10  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze von durchschnittlich 6  $\mu\text{m}$  auf. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 10 bis 12 Zell-

schichten. In den Intermediärzellen zeigen sich nun deutlich dunkelblau gefärbte Keratinfilamentbündel, die sich vor allem in der Zellperipherie ansammeln. Ihre Zahl steigt mit dem Differenzierungsgrad der Intermediärzellen an. Das Stratum intermedium misst am Sekundärpapillengrund im Mittel 100  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 47  $\mu\text{m}$ . Das Stratum corneum hat sich innerhalb von drei Tagen stark entwickelt und ist am Sekundärpapillengrund und der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 35  $\mu\text{m}$  stark. Dies entspricht einem mittleren Dickenzuwachs zwischen dem 20. und 23. Inkubationstag von 28,5  $\mu\text{m}$  (438 %). Zwischen den dunklen kompakten Hornmassen zeigen sich nun hellere, zumeist parallel zur Hautoberfläche orientierte, dünne intrazelluläre Spalten, bei denen es sich wahrscheinlich um Fetteinschlüsse handelt. Im unteren Bereich des Stratum corneum sind diese etwas breiter als im oberen. Im histologischen Schnitt hat an manchen reticulate scales eine netzförmige Ablösung des papillären Stratum corneums im Bereich der jungen Hornzellen stattgefunden, bei der es sich wahrscheinlich um ein präparationsbedingtes Artefakt handelt. Das Periderm scheint nun fast vollständig verloren gegangen zu sein. Die Epidermisabschnitte zwischen den reticulate scales sind im Durchschnitt 116  $\mu\text{m}$  dick. Davon nimmt das interpapilläre Stratum basale durchschnittlich 10  $\mu\text{m}$ , das interpapilläre Stratum intermedium im Mittel 54  $\mu\text{m}$  und das interpapilläre Stratum corneum durchschnittlich 50  $\mu\text{m}$  ein.

Die reticulate scales sind am 28. Bebrütungstag (Abbildung 9c) im Mittel 383  $\mu\text{m}$  lang. Am Tag des Schlupfes sind die Schuppen im Durchschnitt nun um 7,7 % kürzer als am 27. Bebrütungstag. Diese Verkürzung ist wahrscheinlich auf Schrumpfungsprozesse zurückzuführen, die physiologischerweise nach dem Schlupf einsetzen. Die interpapilläre Furchentiefe beträgt durchschnittlich 239  $\mu\text{m}$ . Die etwa 46-80  $\mu\text{m}$  langen Sekundärpapillen reichen bis in das mittlere Stratum intermedium vor und sind etwa 20  $\mu\text{m}$  breit. Durch den gestiegenen Zellgehalt färbt sich die Dermis nun dunkler an. Vereinzelt sind Zellen frei im Bindegewebe nachweisbar, die kleine, rundliche, dunkel gefärbte Granula beinhalten, bei denen es sich wahrscheinlich um Phagozyten handelt (Abbildung 11a und 20a). Die Epidermisdicke am Sekundärpapillengrund beträgt durchschnittlich 137  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 91  $\mu\text{m}$ . Das Stratum basale färbt sich aufgrund des geringeren Keratinfilamentgehaltes etwas heller an als das folgende Stratum intermedium. Die Basalzellen am Sekundärpapillengrund sind durchschnittlich 9  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 7  $\mu\text{m}$  stark. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 15 Zellreihen, in deren Intrazellulärraum sich viele kleine runde Fettvakuolen sowie punkt- und fadenförmig dunkelblau gefärbte Keratinfilamentbündelanschnitte nachweisen lassen. Es misst am Sekundärpapillengrund im Mittel 76  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 40  $\mu\text{m}$ . Die Interzellularräume sind nun lichtmikroskopisch nicht mehr erkennbar. Das Stratum corneum hat sich verbreitert und besitzt am

Sekundärpapillengrund im Mittel eine Höhe von 52  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze von durchschnittlich 51  $\mu\text{m}$ . Das entspricht einem durchschnittlichen Dickenzuwachs zwischen dem 26. und 28. Inkubationstag von 16,5  $\mu\text{m}$  (47 %). Der untere bis mittlere Bereich des papillären Stratum corneum kann sich bei manchen Zellen netzförmig ablösen und färbt sich teilweise schwächer an. Die interpapilläre Epidermis misst im Durchschnitt 142  $\mu\text{m}$  und ist damit erstmals im Verlauf der Entwicklung dicker als die papilläre Epidermis am Sekundärpapillengrund. Das interpapilläre Stratum basale ist im Mittel 8  $\mu\text{m}$ , das interpapilläre Stratum intermedium durchschnittlich 40  $\mu\text{m}$  und das interpapilläre Stratum corneum ist im Mittel 93  $\mu\text{m}$  dick.

Die Furchentiefe zwischen den ausgemessenen reticulate scales beträgt am 7. Lebenstag (Abbildung 10a) im Durchschnitt 131  $\mu\text{m}$  und ist damit niedriger als am 28. Bebrütungstag. Die Variationsbreite der gemessenen Einzelwerte kann nun stärker um den Durchschnittswert streuen. Die Schuppen stehen dichter als am Schlupftag, denn die interpapillären Furchen reichen nun nur noch bis zum oberen bzw. mittleren Drittel der Schuppen, während sie am 28. Bebrütungstag noch bis in das untere Drittel zu verfolgen waren. Die reticulate scales sind innerhalb der ersten Lebenswoche um etwa 60 % auf durchschnittlich 611  $\mu\text{m}$  gewachsen. Im oberen Papillenbereich zeigen die Schuppen eine ringförmige Einziehung, die den schon rastermikroskopisch beschriebenen Eindruck der schröpfkopfförmigen Form vermittelt (Abbildung 6a). Die Einziehung geht wahrscheinlich auf artifizielle Schrumpfungsprozesse zurück. An diesen Stellen fasert das Stratum corneum auf, während es sich auf der Fußungsfläche relativ glatt mit kleineren Einbuchtungen darstellt. Die etwa 64-95  $\mu\text{m}$  langen Sekundärpapillen reichen bis auf die Höhe des mittleren Stratum intermedium und sind etwa 15  $\mu\text{m}$  breit. Die Epidermisdicke misst am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 256  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Schnitt 192  $\mu\text{m}$ . Der apikale Zellpol der Basalzellen ist durch dunkle Keratinfilamentbündel deutlich gekennzeichnet, die büschel- bzw. fingerförmig in Richtung der darüberliegenden Intermediärzellen weisen (Abbildung 10b). Die Basalzellen am Sekundärpapillengrund sind im Mittel 13  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 12  $\mu\text{m}$  dick. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 13 bis 15 Zellreihen. Der Keratinfilamentgehalt der Intermediärzellen und die Zahl der im Intrazellulärraum beobachteten rundlichen Fettvakuolen ist weiter angestiegen. Im oberen Stratum intermedium konfluieren sie zu größeren Fettansammlungen, die sich deutlich vom dunkleren Zellhintergrund abheben (Abbildung 10b). Das Stratum intermedium misst am Sekundärpapillengrund im Mittel 149  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 89  $\mu\text{m}$ . Das Stratum corneum besitzt am Sekundärpapillengrund im Durchschnitt eine Höhe von 91  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel von 89  $\mu\text{m}$ . Dies entspricht einem durchschnittlichen Dickenzuwachs zwischen dem 28. Bebrütungs- und 7. Lebenstag von 38,5  $\mu\text{m}$  (75 %). Während am Schlupftag die Korneozyten parallel zur Hautoberfläche

ausgerichtet sind, zeigen sie nun im oberen Stratum corneum einen seichten wellenförmigen Verlauf. Die interpapilläre Epidermis ist im Durchschnitt 443  $\mu\text{m}$  dick. Davon nimmt das interpapilläre Stratum basale durchschnittlich 13  $\mu\text{m}$  und das interpapilläre Stratum intermedium durchschnittlich 189  $\mu\text{m}$  ein. Mit durchschnittlich 236  $\mu\text{m}$  macht das Stratum corneum über die Hälfte der Höhe der interpapillären Epidermis aus.

Am 14. Lebenstag zeigen die reticulate scales im Mittel eine Länge von 812  $\mu\text{m}$  und sind damit innerhalb der zweiten Lebenswoche um durchschnittlich 33 % gewachsen. Die interpapilläre Furchentiefe beträgt im Durchschnitt 364  $\mu\text{m}$  und reicht bis auf die Höhe des oberen bzw. mittleren Drittels der Schuppen. Die etwa 76-85  $\mu\text{m}$  langen Sekundärpapillen sind etwa 24-27  $\mu\text{m}$  breit. Die Epidermis misst am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 295  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 219  $\mu\text{m}$ . Das Stratum basale besitzt am Sekundärpapillengrund eine mittlere Höhe von 14  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze von durchschnittlich 11  $\mu\text{m}$ . Das Stratum intermedium besteht aus etwa 17 bis 19 Zellreihen. Es misst am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 160  $\mu\text{m}$  ( $s = 62$ ) und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 94  $\mu\text{m}$ . Das Stratum corneum ist am Sekundärpapillengrund im Durchschnitt 114  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Mittel 112  $\mu\text{m}$  hoch. Das entspricht einem durchschnittlichen Dickenzuwachs zwischen dem 7. und 14. Lebenstag von nur 23  $\mu\text{m}$  (25 %). Die interpapilläre Epidermis misst im Mittel 512  $\mu\text{m}$ , wovon das interpapilläre Stratum basale durchschnittlich 14  $\mu\text{m}$ , das interpapilläre Stratum intermedium im Mittel 215  $\mu\text{m}$  und das Stratum corneum im Durchschnitt 279  $\mu\text{m}$  ausmachen.

Am 21. Lebenstag besitzen die reticulate scales im Mittel eine Länge von 994  $\mu\text{m}$  und sind damit innerhalb der dritten Lebenswoche um durchschnittlich 22 % gewachsen. Die interpapilläre Furchentiefe beträgt im Durchschnitt 422  $\mu\text{m}$ . Die etwa 100  $\mu\text{m}$  langen Sekundärpapillen sind etwa 30  $\mu\text{m}$  breit. Die Epidermis am Sekundärpapillengrund misst durchschnittlich 438  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Durchschnitt 331  $\mu\text{m}$ . Das Stratum basale ist am Sekundärpapillengrund und ebenso an der Sekundärpapillenspitze durchschnittlich 17  $\mu\text{m}$  dick. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 10 bis 20 Zellreihen. Es misst am Sekundärpapillengrund durchschnittlich 222  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Durchschnitt 125  $\mu\text{m}$ . Das Stratum corneum besitzt am Sekundärpapillengrund im Mittel eine Höhe von 189  $\mu\text{m}$  und an der Sekundärpapillenspitze im Durchschnitt von 183  $\mu\text{m}$ . Das entspricht einem mittleren Dickenzunahme zwischen dem 14. und 21. Lebenstag von 73  $\mu\text{m}$  (65 %). Die interpapilläre Epidermis misst im Durchschnitt 663  $\mu\text{m}$ . Davon entfallen auf das interpapilläre Stratum basale im Durchschnitt 19  $\mu\text{m}$ , auf das interpapilläre Stratum intermedium durchschnittlich 304  $\mu\text{m}$  und auf das Stratum corneum im Mittel 375  $\mu\text{m}$ .

#### 4.4 Lichtmikroskopische Darstellung der pathologischen Veränderungen der Metatarsalballen

Ab dem siebten Lebenstag können die makroskopisch wahrgenommenen Veränderungen der reticulate scales auch lichtmikroskopisch dokumentiert werden. Die am vierten Lebenstag beobachtete Rötung im Metatarsalballenbereich weist darauf hin, dass die Hautschädigung ihren Ausgang von einer lokalen, entzündlichen Reaktion der Dermis nimmt, die zu einer Dilatation der Kapillaren führt. Dieser Zusammenhang lässt sich auch lichtmikroskopisch darstellen. In geröteten Hautarealen sind die Kapillaranschnitte unterhalb der Epidermis stark geweitet und mit kernhaltigen Erythrozyten angefüllt (Abbildung 11b). Ab der ersten Lebenswoche sind in der Dermis direkt unterhalb der Basalmembran vereinzelt helle vakuoläre Auftreibungen zu beobachten, die in makroskopisch veränderten Bereichen so dicht zusammenliegen, dass sie die Epidermis von der Dermis abheben (Abbildung 10c, 11b, 11c und 11d). Die Interpapillärbereiche sind von diesem Prozess zuerst betroffen (Abbildung 10c), der sich mit dem Fortschreiten der Hautirritation auch auf den papillären Bereich ausdehnt. Im Zytoplasma der darüberliegenden Basalzellen sind häufig Vakuolen anzutreffen, die sich bis in die Mitte des lebenden Anteils der Epidermis nachweisen lassen. Sie können so raumgreifend sein, dass sie die Zellkerne und restlichen Zellorganellen stark komprimieren (Abbildung 11c). Die Zellen des stoffwechselaktiven Epidermisanteils können aber auch insgesamt so extrem geschwollen und ödematös sein, dass ihre Organellen größtenteils zerstört sind und sie sich nur noch sehr schwach anfärben (Abbildung 11d). Zwischen diesen stark geschädigten Epidermiszellen liegen wenige Zellen, die sich deutlicher färben und sich besser darstellen lassen (Abbildung 11b).

Solange die lebenden Epidermisschichten der verlängerten reticulate scales noch durch das Stratum corneum bedeckt sind, kommen die am 28. Bebrütungstag selten beobachteten vermutlichen Phagozyten nur in mäßiger Zahl in der Dermis vor (Abbildung 11a). Sobald die Hornschicht jedoch weitgehend durch von außen aufgelagerte Detritusmassen verdrängt wird und die schützende Oberfläche den lebenden Epidermisanteilen fehlt, sind die Fresszellen in großer Zahl in der Dermis zu finden (Abbildung 11d). Die Phagozyten treten nun in die Epidermis über (Abbildung 11d) und bilden zwischen den noch lebenden Epidermisanteilen und den Detritusmassen eine dünne Schutzlinie, um die darunterliegenden Hautbereiche zu demarkieren (Abbildung 12a und b). An der den Zerfallsmassen zugewandten Seite des Demarkationswalles gehen die Phagozyten in großer Zahl zugrunde. Ihre Zelltrümmer sind massenhaft in den gesamten Hautauflagerungen nachweisbar (Abbildung 12a). Der durch die Phagozyten gebildete Demarkationswall kann so effektiv sein, dass es möglich ist, dass die darunter gebildeten Hornzellen ein neues intaktes Stratum corneum bilden (Abbildung 12f).

Durch die Lichtmikroskopie kann nachgewiesen werden, dass die Hornzellen, wie bereits in Kapitel 3.3 beschrieben, aufgrund der in die Hornschicht eindringenden Wundflüssigkeit verkleben und zusätzlich durch die im Serum enthaltenen proteolytischen Enzyme geschädigt werden. Der physiologische Abschilferungsprozess der Haut wird gestört oder kommt ganz zum Erliegen. Deshalb zeigt das Stratum corneum der Schuppenoberseite vor allem in der Nähe der Hautläsionen breite Auflagerungen unstrukturierter und zergliederter Detritusmassen, die sich dunkel anfärben (Abbildung 10c). Teilweise wird die Hornschicht sogar vollständig durch die Detritusmassen verdrängt (Abbildung 12a). Bis zum 21. Lebens- tag bleibt das Stratum corneum der Innenseite der reticulate scales weitgehend unverändert, da durch die rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesene plattenartige Verbindung der dem Scheitelpunkt am nächsten stehenden Schuppen (Abbildung 8a) kaum Wundsekret auf deren Unterseite gelangt. Der eben beschriebene Vorgang setzt deshalb dort noch nicht ein. Zunehmend lagern sich nun Verunreinigungen (Einstreuteile, Kot etc.) auf der zerklüfteten Oberfläche der Schuppen ab (Abbildung 12c). Am 21. Lebenstag sind Lymphozyten unterschiedlicher Reifestadien in vermehrter Zahl im Papillarkörper nachweisbar (Abbildung 12d und e).

#### **4.5 Die statistische Auswertung der an den reticulate scales durchgeführten morphometrischen Untersuchungen**

Neben der Länge der reticulate scales und der interpapillären Furchentiefe und -breite werden zur besseren Beurteilung des Hautaufbaus der Schuppen drei verschiedene Vermessungsareale unterschieden:

- Dicke der Epidermisschichten am Sekundärpapillengrund
  - Dicke der Epidermisschichten an der Sekundärpapillenspitze
  - Dicke der Epidermisschichten im Interpapillärbereich
- } Papillärbereich

Generell lässt sich weder ein durchgehend signifikanter Einfluss des Biotingehaltes des Futters noch des Reproduktionszeitpunktes der Putenhennen (Termin) auf die untersuchten Hautparameter zeigen. Die festgestellten statistisch bedeutenden Unterschiede beziehen sich nur auf einzelne Bebrütungs- oder Lebenstage der Puten, so dass nur sie in der folgenden Beschreibung weiter ausgeführt werden.

##### **4.5.1 Die statistische Auswertung der Länge der reticulate scales**

Der Termin hat keinen signifikanten Einfluss auf die Länge der reticulate scales. Auch der Biotingehalt des Putenhennenfutters hat mit Ausnahme des 23. Bebrütungstages keine statistisch bemerkenswerte Wirkung auf die Schuppenlänge. Nur am 23. Bebrütungstag sind die reticulate scales der Testfoeten im Durchschnitt um 60,53  $\mu\text{m}$  (20,4 %) bzw. 26,12  $\mu\text{m}$  (8,5 %) (4. bzw. 20. Legewoche) länger als die der Standardküken.

#### **4.5.2 Die statistische Auswertung der interpapillären Furchentiefe und -breite**

Die Furchentiefe und -breite zwischen den untersuchten reticulate scales wird weder durch den Biotingehalt noch durch den Reproduktionszeitpunkt der Putenhennen signifikant beeinflusst.

#### **Der Papillärbereich**

#### **4.5.3 Die allgemeinen statistischen Befunde der Haut am Sekundärpapillengrund**

Keiner der untersuchten Hautparameter am Sekundärpapillengrund wird durch den Biotingehalt des Putenhennenfutters signifikant beeinflusst, während der Termin in Einzelfällen eine statistisch auffällige Wirkung hat, die im Folgenden ausgeführt wird.

##### Die statistische Auswertung der Epidermisdicke am Sekundärpapillengrund

Mit Ausnahme des 20. Bebrütungstages ist kein signifikanter Einfluss des Termins zu beobachten. Am 20. Bebrütungstag ist die Epidermis am Sekundärpapillengrund von Nachkommen der 20. Legewoche um durchschnittlich 4,49 µm (12,6 %) dicker als die der Foeten der 4. Legewoche.

##### Die statistische Auswertung der Dicke des lebenden Anteils der Epidermis am Sekundärpapillengrund

Da zum 20. Bebrütungstag noch kein Stratum corneum ausgebildet ist, entspricht die Epidermisdicke am Sekundärpapillengrund des 20. Bebrütungstages der des lebenden Anteils der Epidermis. Nur am 20. Bebrütungstag tritt ein statistisch bedeutsamer Effekt des Termins auf.

##### Die statistische Auswertung der Dicke des Stratum corneum am Sekundärpapillengrund

Erst ab dem 23. Bebrütungstag können Messungen vorgenommen werden, da am 20. Bebrütungstag noch kein Stratum corneum ausgebildet ist. Die statistische Auswertung ergibt, dass der Termin außer in der dritten Lebenswoche der Küken keinen signifikanten Einfluss auf die Dicke des Stratum corneum am Sekundärpapillengrund hat. Im Alter von drei Wochen ist das Stratum corneum des Sekundärpapillengrundes von Nachkommen des zweiten Termins um 75,70 µm (50,2 %) dicker als das gleichaltriger Nachkommen der 4. Legewoche.

#### **4.5.4 Die allgemeinen statistischen Befunde der Haut an der Sekundärpapillenspitze**

Keiner der untersuchten Hautparameter an der Sekundärpapillenspitze wird durch den Biotingehalt des Putenhennenfutters signifikant beeinflusst, während der Termin in Einzelfällen eine statistisch auffällige Wirkung hat.

##### Die statistische Auswertung der Epidermisdicke an der Sekundärpapillenspitze

Bis auf den 20. Bebrütungs- und den 21. Lebenstag zeigt auch der Termin keine statistisch bedeutende Wirkung auf die Dicke der Epidermis am Grund der Sekundärpapille. Am

20. Bebrütungs- und 21. Lebenstag ist die Epidermis der Sekundärpapillenspitze von Nachkommen des zweiten Termins um durchschnittlich 2,68  $\mu\text{m}$  (8,5 %) bzw. 129,77  $\mu\text{m}$  (48,8 %) dicker als die des ersten Termins.

#### Die statistische Auswertung der Dicke des lebenden Anteils der Epidermis an der Sekundärpapillenspitze

Da zum 20. Bebrütungstag noch kein Stratum corneum ausgebildet ist, entspricht die Epidermisdicke der Sekundärpapillenspitze des 20. Bebrütungstages der des lebenden Anteils der Epidermis. Hier tritt am 20. Bebrütungs- und am 21. Lebenstag ein signifikanter Effekt des Termins auf.

#### Die statistische Auswertung der Dicke des Stratum corneum an der Sekundärpapillenspitze

Bis auf den 7. Lebenstag zeigt der Termin keine statistisch bemerkenswerte Wirkung auf die Dicke des Stratum corneum. Im Alter von einer Woche ist das Stratum corneum der Sekundärpapillenspitze von Küken des zweiten Termins um durchschnittlich 26,187  $\mu\text{m}$  (34,4 %) dicker als das gleichaltriger Küken des ersten Termins.

### **4.5.5 Die allgemeinen statistischen Befunde der Haut im Interpapillärbereich**

#### Die statistische Auswertung der interpapillären Epidermisdicke

Die Dicke der interpapillären Epidermis wird weder durch den Biotingehalt des Elterntierfutters noch durch den Reproduktionszeitpunkt der Putenhennen signifikant beeinflusst.

#### Die statistische Auswertung der Dicke des interpapillären lebenden Anteils der Epidermis

Die Dicke des interpapillären lebenden Anteils der Epidermis wird außer am 28. Bebrütungstag weder durch den Biotingehalt des Putenhennenfutters noch durch den Termin statistisch auffällig beeinflusst. Am 28. Bebrütungstag ist der interpapilläre lebende Anteil der Epidermis der Testküken sowohl am ersten Termin mit durchschnittlich 6,05  $\mu\text{m}$  (16,3 %) als auch am zweiten Termin mit durchschnittlich 26,36  $\mu\text{m}$  (60,6 %) dicker als der der Standardküken.

Außerdem ist der interpapilläre lebende Anteil der Epidermis der Testküken des zweiten Termins um durchschnittlich 26,61  $\mu\text{m}$  (61,6 %) und der der Standardküken um durchschnittlich 6,30  $\mu\text{m}$  (17 %) dicker als der des ersten Termins.

#### Die statistische Auswertung der Dicke des interpapillären Stratum corneum

Das interpapilläre Stratum corneum ist ebenfalls erst ab dem 23. Bebrütungstag ausgebildet. Der Biotingehalt des Putenhennenfutters und der Reproduktionstermin zeigen mit Ausnahme des 23. Bebrütungstages keine signifikante Wirkung auf die Dicke des interpapillären Stratum corneum. Am 23. Bebrütungstag ist das interpapilläre Stratum corneum von Testfoeten des ersten Termins um durchschnittlich 3,00  $\mu\text{m}$  (181,9 %) und das des zweiten Termins um durchschnittlich 0,91  $\mu\text{m}$  (80,5 %) dicker als das der Standardküken.

## **5 Die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse der reticulate scales der Nachkommen**

Da mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie nur sehr kleine, ausgewählte Bereiche der lichtmikroskopischen Schnitte untersucht werden können, liegt der Schwerpunkt der Beschreibung vor allem auf der Ultrastruktur des Gewebes. Die lichtmikroskopischen Befunde sollen überprüft und ergänzt werden, um auch solche Dimensionen zu berücksichtigen, die nur der transmissionselektronenmikroskopischen Methode zugänglich sind. Die Ziele der Untersuchung sind :

- Allgemeine transmissionselektronenmikroskopische Darstellung der Verhornungsprozesse der reticulate scales bei Puten.
- Nachweis ultrastruktureller Unterschiede im Hautaufbau zwischen den Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen.
- Spezielle Beschreibung der transmissionselektronenmikroskopischen Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken.
- Ultrastrukturelle Darstellung der pathologischen Veränderungen der Metatarsalballen.

### **5.1 Allgemeine transmissionselektronenmikroskopische Darstellung der Verhornungsprozesse der reticulate scales bei Puten**

Grundsätzlich lassen sich erst unter dem Transmissionselektronenmikroskop die lebenden Schichten der Epidermis aus Stratum basale und Stratum intermedium und der tote Anteil der Oberhaut (Stratum corneum) anhand ihrer ultrastrukturellen Merkmale sicher voneinander unterscheiden.

Das Stratum basale der reticulate scales des Metatarsalballens besteht aus einer Schicht großer, mitotisch aktiver, hochprismatischer Zellen, die der Basalmembran aufsitzen (Abbildung 13b). Die großen hochovalen, euchromatischen Kerne weisen einen deutlichen Nucleolus auf und nehmen einen Großteil des zytoplasmatischen Raumes ein. Im Zuge der Zelldifferenzierung flachen die Zellen und Kerne ab und erscheinen im histologischen Schnitt spindelförmig. Während sich ihr Keratin- und Fettgehalt erhöht bildet sich ein mehrschichtiges Stratum intermedium (Zwischenschicht). Abhängig vom Lebensalter können in den Zellen des stoffwechselaktiven Anteils der Oberhaut multigranular bodies (MGBs) in verschiedenen Stadien der Reife nachgewiesen werden, oft stellen sie sich allerdings nur sehr undeutlich dar. Ein durchgehendes Stratum transitivum, wie beim Huhn, konnte auch transmissionselektronenmikroskopisch nicht beobachtet werden. Bei den untersuchten Tieren treten die Transitivzellen nur vereinzelt oder in kleinen Gruppen auf. Der Übergang zwischen Stratum intermedium und corneum ist meist sehr abrupt. Das Stratum corneum besteht aus mehreren Schichten stark abgeflachter, breiter Hornzellen, deren Intrazellular-

raum fast vollständig mit Keratinmassen angefüllt ist. In den jüngeren Hornzellen lassen sich freie lamelläre Strukturen und vereinzelt größere Fettansammlungen erkennen.

## **5.2 Nachweis ultrastruktureller Unterschiede im Hautaufbau zwischen den Nachkommen der beiden Putenhennen-Fütterungsgruppen**

Auch die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen haben ergeben, dass keine strukturellen Unterschiede des Hautaufbaus sowie der Art der aufgetretenen pathologischen Fußballenveränderungen nachweisbar sind. Daher wird angenommen, dass keine Abhängigkeit dieser Merkmale zum Biotingehalt des Futters oder dem Reproduktionszeitpunkt der Legehennen besteht. Wie bei den lichtmikroskopischen Befunden erfolgt deshalb zuerst eine Darstellung der Abläufe im gesunden Gewebe, an die sich die Darstellung der Vorgänge in krankhaft veränderten Hautabschnitten anschließt. Die beiden unterschiedlichen Biotinfütterungsgruppen und die Legewoche der Putenhennen bleiben dabei unberücksichtigt.

## **5.3 Spezielle Beschreibung der transmissionselektronenmikroskopischen Befunde der reticulate scales zu verschiedenen Entwicklungsphasen der Foeten und Küken**

Zur transmissionselektronenmikroskopischen Darstellung der Hautentwicklung der Nachkommen wird der 20. Bebrütungstag ausführlich beschrieben, während bei den späteren Entwicklungsstufen nur abweichende Befunde aufgeführt werden.

Am 20. Bebrütungstag (Abbildung 13b und 14b) zeigt die foetale Dermis einen sehr lockeren retikulären Aufbau mit verstreut liegenden Fibroblasten bzw. Fibrozyten. Die Verbindung des Epithels mit der darunterliegenden Dermis erfolgt über eine etwa 50-125 nm breite Basalmembran, deren Aufbau am foetalen Gewebe gut darstellbar ist (Abbildung 14b). Von der etwa 25-50 nm breiten Basalmembran ziehen in regelmäßigen Abständen Ankerfilamente in das darunterliegende dermale Gewebe. Auf der epidermalen Seite sind die Basalzellen auf gleicher Höhe über Hemidesmosomen (Halbdesmosomen) mit der Basalmembran verhaftet, wodurch der Zusammenhalt von Epidermis und Dermis vermittelt wird. Die Lamina rara ist als etwa 50-88 nm breites, elektronendurchlässiges Band zwischen der elektronendichten Lamina densa und der basalen Zellmembran des Stratum basale erkennbar und hat direkten Kontakt zu dem sich flaschenhalsartig erweiternden, breiten Interzellularräumen der Basalzellen. Hier können bis zu 380 nm große Desmosomen auftreten, deren breiter Filamentbesatz nach kurzer Spanne strahlenartig im Zytoplasma ausläuft. Häufig schnüren sich an der basalen Zellmembran kleine optisch leere Pinozytosevesikel mit einem Durchmesser von etwa 160 nm ab, die ihren Inhalt aus der Lamina rara aufnehmen und als helle membranumhüllte Vesikel in die Basalzelle aufsteigen. Sie dienen dem Nährstofftransport in die

Basalzellen. Das Stratum basale besteht aus einer Schicht hochprismatischer Zellen, die große, hochovale, euchromatinreiche Kerne besitzen. Falls die Zellkerne nicht alternierend angeordnet sind, liegen sie zumeist im oberen Drittel der Zellen und nehmen etwa die Hälfte des zytoplasmatischen Raumes ein. Oft zeigen sie einen deutlichen elektronendichten Nukleolus. Der durch die innere und äußere Kernmembran begrenzte perinukleäre Raum ist etwa 50-160 nm weit. Die äußere Kernmembran ist, abhängig ob sich Zisternen des agranulären oder granulären endoplasmatischen Retikulums abfalten, glatt oder mit Ribosomen besetzt. Die etwa 80-180 nm weiten membranumhüllten Schläuche des glatten und rauhen endoplasmatischen Retikulums (smooth endoplasmatic reticulum, sER; rough endoplasmatic reticulum, rER) durchziehen die gesamte Zelle und können mit einem feinkörnigen Material mittlerer Elektronendichte gefüllt sein. In Kernnähe sind gelegentlich die Zisternen des Golgi-Apparates erkennbar, an deren Enden multiple Vesikel abgeschnürt werden. Vor allem im basalen Teil der Zelle, aber auch in den apikal gelegenen schmalen Zytoplasmastreifen zwischen Kern und Plasmamembran, finden sich multiple polymorphe Anschnitte von Mitochondrien des Cristae-Typs, die anhand ihrer faltenartig in die Mitochondrien-Matrix eingestülpten inneren Membran identifiziert werden können. An runden Anschnitten kann ein Durchmesser von bis zu 480 nm gemessen werden. Im gesamten Zytoplasma finden sich etwa 20-27 nm große Ribosomen in freier Form und großer Menge verstreut. Vereinzelt können Fetttröpfchen ausgemacht werden, deren Inhalt herausgelöst wurde (Artefakt). Die im Stratum basale auftretenden dünnen Keratinfilamente sind nur in sehr geringer Zahl zu finden. Sie richten sich meist senkrecht zur Basalmembran aus und konzentrieren sich vor allem auf die Seiten und den apikalen Rand der Zellen. Die Basalzellen werden durch weite Interzellularräume getrennt, die eine Breite von bis zu 1,26 µm aufweisen können. Zwischen den Nachbarzellen stülpen sich lange, fingerförmige Membranfortsätze in großer Anzahl aus, die den Interzellularraum überspannen und an deren Enden Desmosomen den Zellkontakt vermitteln. Der Interzellularraum stellt sich bei der Untersuchung optisch leer dar. Das Stratum intermedium besteht aus zwei bis fünf Reihen großer polygonaler Zellen mit prominenten euchromatinreichen Kernen, die einen deutlichen Nukleolus aufweisen. Die sternförmigen Zellen mit ihren zahlreichen langen Zytoplasmaausläufern durchlaufen zur Epidermisoberfläche hin eine Formänderung und werden zu spindelförmig flachen Zellen mit niedriger Zellmembranverzahnung. Vor allem die Zellen des oberen Stratum intermedium (Abbildung 14a) weisen Keratinfilamentbündel in mäßiger Quantität auf, die bis zu 160 nm dick sein können. Sie liegen verstreut im Zytoplasma, verankern sich an angrenzenden Desmosomen oder verbinden sich unterhalb des Periderms an der apikalen Zellgrenze zu größeren Keratinfilamentbündeln. Die Intermediärzellen sind reich an verschiedenen Organellen. Viele Mitochondrien unterschiedlicher Form und Größe füllen das Zytoplasma. Ribosomen kommen in großer

Menge, entweder in freier Form oder, gebunden an die Membranen des rauen endoplasmatischen Retikulums (rER), vor. Die langen und weiten Zisternen des ERs und des Golgi-Apparates weisen auf eine rege Stoffwechselaktivität der Zellen hin. Vereinzelt können optisch leere Fettvakuolen mit einem Durchmesser von bis zu 567 nm erkannt werden. In mäßiger Anzahl können multigranular bodies (MGBs) vor allem an den spitzen Polen der Zellkerne beobachtet werden. Ihre Identifizierung kann Schwierigkeiten bereiten, da sich ihre charakteristische lamelläre Struktur nicht immer eindeutig abzeichnet und auch Vorläuferstadien vorhanden sind, die noch nicht den charakteristischen lamellären Aufbau der MGBs zeigen. Sehr selten lassen sich die multigranular bodies (MGBs) als membranbegrenzte Zellorganellen erkennen, in deren Inneren mehrere ovoide Granula in einem elektronendichteren Medium eingebettet liegen (Abbildung 16a). Häufiger lagern die beobachteten MGBs nestartig zusammen (Abbildung 15d). In 40.000facher Vergrößerung kann man sie am ehesten an ihrem spiegeleiartigen Aufbau erkennen. Bedingt durch die Überlagerung oder Verschmelzung verschiedener MGBs variiert ihre Form von rundlich bis traubenartig. Einzelne MGBs haben eine Größe von 125-200 nm, während die Konglomerate eine Ausdehnung von 250 x 425 nm einnehmen können. Die äußere Membran ist als elektronendichte Struktur nachweisbar. Das Organelleninnere weist ein feingranuläres Erscheinungsbild mittlerer Elektronendichte auf, während das Zentrum sich elektronendichter abzeichnet. In diesem Bereich können auch lamelläre Strukturen erkennbar sein. Die einzelnen Granula zeigen keine umhüllende Membran und bestehen aus lamellär angeordneten Membranstapeln, die teilweise fusionieren. Sehr selten lassen sich MGBs nachweisen, deren Inneres schon zum größten Teil zu homogen erscheinendem Neutralfett umgewandelt ist (Abbildung 16b und c). Die Hautoberfläche wird durch das foetale Periderm begrenzt (Abbildung 14a), das, abhängig von seiner Lokalisation, aus mehreren Schichten von Zellen unterschiedlichen Typs besteht. Sie werden unter dem Begriff Periderm zusammengefasst, da sie in ihrer Zellstruktur und -funktion keiner der bei geschlüpften Küken auftretenden Zellschichten entsprechen. Die weiten Interzellularräume verengen sich zur Hautoberfläche, sind aber bis ins Periderm deutlich zu erkennen (Abbildung 14a). Die an das Stratum intermedium anschließende Schicht des Periderms besteht aus flachen kernhaltigen Zellen, die außer einigen Mitochondrien und ER, vielen freien Ribosomen sowie wenigen Keratinfilamentbündeln, rundliche peridermale Granula beinhalten (Abbildung 14a). Diese können eine beträchtliche Größe von bis zu 1 µm im Durchmesser und 3,4 µm Länge erreichen. Die Granula weisen hirnwindungsartig wechselnde, optisch leere und dichte Bereiche auf und scheinen eine Hüllmembran zu besitzen. Es schließt sich eine äußere Schicht kernhaltiger Zellen an, die eine höhere Elektronendichte zeigen als die bisher beschriebenen Zellen und ähnlich den Peridermzellen menschlicher Foeten, einen Mikrovillibesatz aufweisen (Abbildung 15a). Die apikale Oberfläche dieser Zellen wird durch

Protuberanzen vergrößert, die wahrscheinlich dem Stoffaustausch mit dem umgebenden Amnion dienen und nur elektronenmikroskopisch nachweisbar sind. Die Mikrovilli sind besonders in den Furchen zwischen den Schuppen (Interpapillärbereich) in großer Zahl und Länge (etwa 400-480 nm) vorhanden, während ihre Menge und Höhe zur Papillenoberfläche hin stark abnimmt (nur noch circa 140-200 nm lang). Auch die Zellen selbst und die enthaltenen Kerne flachen zur Papillenoberfläche hin stark ab. Ein Stratum corneum ist zu diesem frühen Entwicklungszeitpunkt noch nicht ausgebildet.

Das Stratum basale des 23. Bebrütungstages entspricht in seinem Aufbau und dem Zellorganellenbesatz weitestgehend dem des 20. Bebrütungstages, nur die Zahl und Länge der an den Desmosomen vorhandenen Keratinfilamente steigt. Das Stratum intermedium ist nun breiter und besteht aus etwa zehn Zellreihen. Im Zuge der Zellreifung wird das Zytoskelett zur Epidermisoberfläche hin dichter. Die Zahl der Keratinfilamente steigt und durch Aggregation lagern sich die Filamente zu größeren Bündeln zusammen. Ab dem oberen Stratum intermedium lassen sich Hornschollen von mittlerer bis starker Elektronendichte nachweisen, die in unterschiedlichen Größen verstreut im Zytoplasma liegen (Abbildung 15b). In den Intermediärzellen sind nun optisch leere, im Durchmesser bis zu 440 nm große Fettvakuolen zu erkennen (Abbildung 15c). Ihre Zahl steigt mit dem Differenzierungsgrad der Intermediärzelle an, wobei sie sich in Kernnähe teilweise kettenartig zusammen lagern. Die Fettvakuolen können im unteren Bereich des Stratum intermedium leicht mit Interzellularräumen verwechselt werden, da ihr fettreicher Inhalt fertigungsbedingt größtenteils herausgelöst wurde. Im Zuge der Zelldifferenzierung sinkt die Häufigkeit der Anschnitte des endoplasmatischen Retikulums und der Mitochondrien, während die Zahl der freien Ribosomen unverändert hoch ist. Die Weite der Interzellularräume nimmt vom Stratum basale bis zum Stratum corneum kontinuierlich ab. Der Interzellularbereich ist in den Schichten des oberen Stratum intermedium nur noch an den Desmosomen erkennbar, da sich hier die Keratinfilamente stark verdichten. Zwischen dem Stratum intermedium und dem Periderm hat sich ein dünnes Stratum corneum gebildet (Abbildung 15b). Der Übergang zwischen den lebenden Sebokeratinozyten des Stratum intermedium und den verhornten Zellen des Stratum corneum ist sehr abrupt. Die Hornzellen sind stark abgeflacht, ihre Zellgrenzen sind im Gegensatz zum Stratum intermedium begradigt und nur an den Polen verzahnt. Zu diesem Entwicklungszeitpunkt weisen noch alle Zellen des Stratum corneum ein schmales, stark elektronendichtes, marginales Band auf, das sich von innen der Zellmembran anschmiegt. Die Hornzellen zeigen eine leicht marmorierte intrazelluläre Struktur, die durch die unterschiedlich großen, elektronendichten Hornschollen hervorgerufen wird, zwischen denen optisch hellere Areale liegen. In den jungen Hornzellen lassen sich große, optisch leere Bereiche nachweisen, bei denen es sich wahrscheinlich um konfluierende herausgelöste Fettmassen handelt. Vor allem in ihrer Nähe

können zwischen den Hornschollen feine lamelläre Strukturen ohne begrenzende Membran beobachtet werden, die teilweise kontinuierlich in die großen Fettvakuolen der jungen Hornzellen übergehen (Abbildung 16d). Durch Zusammenlagerung können sie eine Breite von bis zu 160 nm erreichen und sind damit ähnlich breit wie die Hornschollen. Zwischen den jungen Hornzellen sind die Interzellularräume eng (etwa 15 nm) und nur an den Desmosomen etwas breiter. Sie sind mit einer feingranulären Masse mittlerer Elektronendichte gefüllt (Interzellularkitt). Zur Hautoberfläche hin mehren sich die Bereiche, an denen die Interzellularräume breiter und optisch leer erscheinen. Während das Periderm an der Papillenoberfläche oft schon abgeschilfert ist, kann es in den Furchen zwischen den reticulate scales noch nachgewiesen werden (Abbildung 15a). Die oberflächlichen peridermalen Zellen zeigen deutliche Verhornungserscheinungen, die sich vor allem an den Zellgrenzen manifestieren. Neben der teils bandartigen Kondensation homogener Hornmassen in der Zellperipherie kann die Bildung eines marginalen Bandes beobachtet werden, das nur durch Desmosomen unterbrochen wird.

Am 26. Bebrütungstag besteht das Stratum intermedium nun aus etwa 10-12 Zellreihen. Mit fortschreitender Reifung weisen die Zellen eine zunehmende Aggregation der Keratinfilamentbündel auf. Dies zeigt sich vor allem in der Peripherie der Zelle, aber auch in der zunehmenden Hornschollenbildung im Zellzentrum. Auch die Zahl der angeschnittenen Fettvakuolen steigt. Teile des Periderms sind nur noch selten nachweisbar. Die mäßig bis stark kontrastgebenden Keratinmassen des Stratum corneum werden durch hellere Spalten unterbrochen, die der Hornschicht bei mittlerer Vergrößerung das Aussehen eines ausgetrockneten und rissigen Flussbettes verleihen.

Am 28. Bebrütungstag/Schlupftag ist der Zell- und Fasergehalt der Dermis merklich gestiegen. Die Sekundärpapillen der Dermis, mit enthaltenen Gefäßen, reichen nun etwa bis zur Mitte des Stratum intermedium in die Epidermis vor. Zusätzlich bilden die Basalzellen bis zu 1,9 µm lange basale Zellausläufer aus, die der Basalmembran einen leicht gewellten Verlauf geben (Abbildung 17a). Im gesamten Zytoplasma der Basalzellen liegen Ribosomen, die sich teilweise zu größeren Polyribosomen zusammenlagern. Die Mitochondrien und die optisch leeren Fetttröpfchen kommen in mäßiger Anzahl vor. Die Fettvakuolen besitzen eine Größe von durchschnittlich 640 nm Durchmesser und sind vor allem im basalen Teil der Zellen in Kernnähe zu finden. Im gesamten Stratum basale nimmt die Größe und Zahl der Keratinfilamente zu. Besonders im Lateralbereich der Zellen kondensieren die Keratinfilamente zu größeren Bündeln, die sich senkrecht zur Basalmembran ausrichten. Die Interzellularräume der Basalzellen sind mit durchschnittlich 40 nm enger geworden. Im Gegensatz zu den Foetalzellen haben sich die Zellmembranen der Basalzellen begradigt. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 15 Reihen polygonaler Zellen. Deren Interzellularräume sind etwa 15-30 nm breit und erweitern sich an den zahlreichen

Desmosomen auf 50 nm. Die Zellen des unteren Stratum intermedium weisen ein gut entwickeltes Zytoskelett auf. In Kernnähe sind viele Hornschollen im Durchmesser von 250 nm anzutreffen, die in Ausnahmefällen auch bis zu 500 nm groß sein können. In den Zellen des oberen Stratum intermedium verschmelzen die peripheren Keratinfilamentbündel zunehmend zu einem immer dichteren Flechtwerk. Zwischen diesen sich ausbreitenden Keratinmassen werden die restlichen Organellen eingeschlossen. Während die Fetttröpfchen in den Basalzellen noch in mäßiger Zahl und geringerer Größe vorkommen, steigt ihre Menge im Stratum intermedium stark an. Durch Verschmelzung kleinerer, im Durchschnitt etwa 0,9-1,5 µm messender Fetttröpfchen des unteren Stratum intermedium (Abbildung 17b) entstehen im oberen Stratum intermedium größere, zusammenhängende Fettansammlungen, die nicht mehr nur in Kernnähe lokalisiert sind (Abbildung 18a). Während im Stratum basale keine multigranular bodies zu finden sind, kommen sie im gesamten Stratum intermedium in mäßiger Zahl vor. Bei einigen sind die typischen Granula mit streifigen Strukturen zu erkennen, während andere nur aus einer Ansammlung lamellärer Strukturen zu bestehen scheinen. Oft fehlt eine begrenzende Hüllmembran und es sieht so aus, als lägen die Membranstapel frei im Zytoplasma. Membranstapel in unmittelbarer Umgebung optisch leerer Räume deuten auf einen Zerfall der MGBs zu Neutralfetten hin, die intrazelluläre Fetttropfen bilden (Abbildung 18b). Nur zu diesem Entwicklungszeitpunkt lassen sich sehr selten einzelne Transitivzellen nachweisen (Abbildung 17c), die durch ihren hohen Anteil an Fettvakuolen unterschiedlicher Größe ein typisches helles und spongiöses Erscheinungsbild zeigen. An der Innenseite der Zellmembran befindet sich eine fast durchgehende 80-200 nm breite Hülle aus aneinandergelagerten Hornmassen, die den Verlauf der Membran deutlich hervorhebt. Der Keratingehalt dieser Zellen liegt aber deutlich unter dem der umgebenden Intermediärzellen. Außer dem Zellkern, der oft durch die Fettvakuolen deformiert ist, und freien Ribosomen sind keine weiteren Zellorganellen erkennbar. Der Interzellularraum ist überwiegend spaltförmig. Am Schlupftag hat sich ein breites Stratum corneum gebildet, das vier- bis fünfmal dicker ist als am 23. Bebrütungstag. Die Zellen sind stark abgeflacht, und der Übergang zwischen den noch stoffwechselaktiven Intermediärzellen und den Hornzellen ist sehr plötzlich (Abbildung 18c). In den bis zu 5 µm dicken jungen Hornzellen lassen sich große, optisch hellere, rundliche Bereiche erkennen. Ihr mäßig elektronendichter Fettinhalt ist je nach Größe noch vorhanden oder stellt sich im Randbereich als halbmondförmiger Rest dar. Die Hornzellen der Abschilferungszone sind 50-140 nm hoch. In den oberen beiden Lagen lassen sich noch elektronendichte pyknotische Kerne als rundliche Ausbuchtungen der ansonsten sehr schmalen Hornzellen erkennen. Der Interzellularraum zwischen den Hornzellen reicht von spaltförmigen bis langgestreckten Ausbuchtungen von 75-130 nm Höhe. Im Zellzwischenraum liegt entweder ein fein- bis grobkörniges Material mittlerer Elektronendichte, oder es ist herausgelöst. Hier bilden sich

optisch helle Areale, die mit den intrazellulär gelegenen hellen Bereichen verwechselt werden können. Diese optisch hellen intrazellulären Spalten, durch die oft spangenförmige Fortsätze des kontrastreichereren Materials ziehen, werden zur Hautoberfläche hin schmaler, während die hellen Interzellularbereiche immer breiter werden (Abbildung 18d). Im unteren Drittel zeigt das Stratum corneum insgesamt einen kompakteren Aufbau, vor allem in diesem Bereich sind lamelläre Strukturen zwischen den Hornmassen zu finden.

Am 7. Lebenstag hat der Keratinfilament- und Fettgehalt der Basalzellen weiter zugenommen. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 13-15 Zellreihen und das Stratum corneum hat an Höhe gewonnen. Zu diesem Entwicklungszeitpunkt weisen nur noch die jungen Hornzellen ein marginales Band auf. Im unteren Bereich des Stratum corneum kommt es wahrscheinlich aufgrund des relativ hohen intrazellulären Fettgehaltes der Hornzellen zu netzartigen Ablösungen, bei denen es sich um Artefakte handelt, die durch die histologische Aufbereitung der Proben bedingt sind. Dieser Stabilitätsverlust betrifft nur den Intrazellularbereich, der durch die Auslösung des Fettanteils seinen Zusammenhalt verliert. Während der Interzellularkitt die Zellmembranen weiterhin zusammen hält, haften an ihrer Innenseite die peripher gelegenen Keratinfilamentbündel an. Die Auflösungszone erstreckt sich auf etwa 3-5 Hornzellschichten. Bei makroskopisch intakten Hautarealen liegen die darüber befindlichen Hornzellen wieder schichtweise übereinander. An der Hautoberfläche ist die Hornschicht mit Ausnahme von bis zu 0,3  $\mu\text{m}$  tiefen, regelmäßigen Einziehungen relativ ebenmäßig. Je weiter die Hornzellen zu Abschilferungszone vorgeschoben werden, umso größer und breiter werden die Interzellularbereiche, da die Kittsubstanz zunehmend verloren geht. Die Zwischenzellräume wirken zunehmend aufgelockert, so dass die oberen Zellen leicht abgestoßen werden können (Abbildung 18d). Die Hornzellen der Abschilferungszone sind an ihrer dicksten Stelle etwa 280-360 nm hoch und lösen sich meist vollständig im Interzellularspalt. Nicht selten sind aber auch die schon rasterelektronenmikroskopisch nachgewiesenen Sebokeratinozyten zu beobachten, die teilweise noch auf der Hautoberfläche zerfallen (Abbildung 6a).

Am 14. Lebenstag ist die Grenze zwischen Dermis und Epidermis nicht mehr so deutlich zu erkennen, da der Zell- und Fasergehalt der Dermis stark gestiegen ist. Zu dem deutlichen Keratinfilamentnetzwerk im lateralen und apikalen Bereich der Basalzellen kommen nun auch im basalen Teil der Zellen viele Anschnitte von breiten Keratinfilamentbündeln hinzu. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 17-19 Zellreihen. An den Basal- und Apikalseiten der Zellen können büschelartige, zu den Nachbarzellen weisende, elektronendichte Keratinfilamentbündel nachgewiesen werden, die die verzahnten Unter- und Obergrenzen der Zellen markieren. An diesen Stellen sind besonders viele Desmosomen vorhanden. Der Übergang zwischen den noch stoffwechselaktiven Intermediärzellen und den Hornzellen ist nicht mehr so deutlich wie am 7. Lebenstag, zumal sich junge Hornzellen teilweise schon

zwischen die letzten Intermediärzellen schieben. Die am 7. Lebenstag leicht nachweisbare Verhornungslinie ist am 14. Lebenstag durch den Vorstoß einzelner Zellen unterbrochen. Die jungen Hornzellen sind nur noch teilweise an einem marginalen Band erkennbar, da es in manchen Gewebeabschnitten fehlen kann.

Während am 21. Lebenstag in einzelnen Basalzellen viele etwa 360 nm große Fetttropfchen nachgewiesen werden können, sind in anderen Basalzellen keine Fettvakuolen zu finden. Zusätzlich zum zellperipheren Filamentnetzwerk wird nun auch das zentrale Zytoskelett deutlicher. Das Stratum intermedium besteht aus etwa 16-20 Zellreihen.

#### **5.4 Ultrastrukturelle Darstellung der pathologischen Veränderungen der Metatarsalballen.**

Einschränkend muss darauf hingewiesen werden, dass aufgrund der mangelhaften Aufnahme des Kontrastmittels und Fragilität der krankhaft veränderten Bereiche lichtmikroskopische Befunde aus diesen Arealen nicht immer nachvollzogen werden können. Während die pathologischen Vorgänge, die sich in der Dermis und den lebenden Anteilen der Epidermis abspielen, transmissionselektronenmikroskopisch problemlos darstellen lassen, können die lichtmikroskopisch beobachteten Demarkationsvorgänge zwischen dem stoffwechselaktiven Anteil der Oberhaut und den von außen aufgelagerten Detritusmassen mit dieser Methode nur unvollständig erfasst werden. Zumeist zerfallen die Proben schon während der Vorbereitung auf die ultrastrukturelle Untersuchung, so dass häufig nur Hautfragmente der Beurteilung zur Verfügung stehen. Ein oft beobachtetes Phänomen ist zudem, dass sich die krankhaft veränderten Hautabschnitte nur unzureichend kontrastieren lassen.

In der Dermis sind als Zeichen der Entzündung vermehrt dilatierte Anschnitte von stark gefüllten Blutkapillaren sowie Phagozyten zu finden. Die Fresszellen sind etwa 8 µm groß. In ihrem Zytoplasma liegen viele rundliche, im Durchmesser bis zu 50 nm große elektronendichte Granula, die ihnen ein unverwechselbares Aussehen verleihen (Abbildung 20a). Die Phagozyten sind vermehrt in der Nähe der schon lichtmikroskopisch beschriebenen großblasigen Bereiche direkt unterhalb der Basallamina zu finden (Abbildung 11d). Bei den vakuolär veränderten Dermisarealen handelt es sich um extrem stark ödematös geweitete Schläuche des endoplasmatischen Retikulums (ER) von Fibroblasten bzw. -zyten (Abbildung 20b). Das dilatierte ER ist entweder optisch leer oder mit einem grob- bis feinkörnigen elektronendichten Material gefüllt, bei dem es sich wahrscheinlich um Proteinablagerungen handelt. Die Kerne und restlichen Organellen der in Mitleidenschaft gezogenen Bindegewebszellen werden durch das extrem geweitete ER stark gestaucht und zusammengeschoben. In hochgradig betroffenen Hautbereichen hat die Epidermis keinen Kontakt mehr zur Dermis. In diesen Gewebeabschnitten sind die ballonartigen Auftreibungen

der Bindegewebszellen so ausgeprägt, dass zwischen der Oberhaut und der sie ernährenden Dermis eine breite Lücke klafft (Abbildung 20a).

In der Epidermis ist in diesen Bereichen der Interzellularraum zwischen den Basalzellen und den Zellen des unteren Stratum intermedium stark verbreitert. Dies hat Auswirkungen auf den interzellularen Kontakt der Oberhautzellen, da dieser in den lebenden Anteilen der Epidermis nur punktuell über Desmosomen vermittelt wird. Teilweise sind die Zellzwischenräume aber so stark geweitet, dass auch die Desmosomenpaare auseinander gerissen werden, wodurch die Verbindung und die Stabilität der betroffenen Epidermisabschnitte zerstört wird (interzelluläres Ödem). Solange die Zellmembranen noch intakt sind, weisen die Zwischenzellbereiche keinen Inhalt auf. Sobald aber die ersten Zellen zugrunde gehen, finden sich Zelltrümmer in jenen Arealen, die noch als Interzellularraum zu identifizieren sind. Durch die Zerstörung der Zellmembran gehen die Interzellularräume jedoch in den ehemaligen Intrazellularraum über und sind oft nur noch bruchstückhaft erkennbar (Abbildung 20a).

Das erste Anzeichen einer krankhaften Veränderung, das an den Zellen der stoffwechselaktiven Schichten der Oberhaut beobachtet werden kann, ist eine hydropische Schwellung der Mitochondrien, deren interne Cristastruktur verloren geht (Abbildung 20c und d). Die Mitochondrien bestehen fast nur noch aus einer Hüllmembran und einem wabigen, schlecht kontrastierten Inhalt. Ein weiteres auffälliges Zeichen stellen ähnlich großblasige Auftreibungen der Schläuche des ER der Epidermiszellen dar, wie sie auch in den Dermiszellen (Fibroblasten bzw. -zyten) vorkommen (Abbildung 20b und c). Sie können eine beachtliche Größe erreichen und etwa ein Drittel der Zellen einnehmen. Bis zum 21. Lebensjahr ist es möglich, die degenerativen Veränderungen der beschriebenen Zellorganellen bis in das mittlere Stratum intermedium zu verfolgen. In einigen Fällen sind aber auch ganze Zellen geschädigt oder zerstört (Abbildung 20a). Die in Mitleidenschaft gezogenen lebenden Zellen der Epidermis sind angeschwollen und fallen durch einen schaumigen, schlecht kontrastierten Intrazellulärbereich auf, in dem nur noch Trümmer der ursprünglichen Zellorganellen zu finden sind (intrazelluläres Ödem). Der degenerierte Kern besitzt eine wabige Struktur und ist nur noch undeutlich erkennbar. Die Zahl der freien Ribosomen im Zytoplasma hat merklich abgenommen. Die Zellen sind zum Teil so stark betroffen, dass die Zellmembranen nur noch partiell intakt sind und der Zellinhalt (vor allem Ribosomen) im Zwischenzellbereich nachgewiesen werden kann. Die Grenze zwischen Inter- und Intrazellulärbereich ist nicht mehr zweifelsfrei identifizierbar. Die Beobachtungen sprechen für ein ausgeprägtes intra- und extrazelluläres Ödem der krankhaft veränderten Ballenbereiche. In den lokal betroffenen Hautarealen werden erstaunlicherweise nicht alle Zellschichten in gleicher Weise in Mitleidenschaft gezogen. Die vakuolärhydropische Degeneration bezieht sich vor allem auf das Stratum intermedium. Im Stratum basale dagegen findet man, neben in Auflösung

befindlichen Zellen, kontrastreichere Nachbarzellen, die entweder intakt erscheinen oder aber einen weniger schweren Zustand der Schädigung zeigen (Abbildung 20a).

Durch das von der Hautoberfläche eindringende eiweißhaltige Wundexsudat und dessen Gerinnung in den oberen Abschnitten des Stratum corneum geht die typische schichtweise Ordnung der Hornschicht verloren. Die Detritusmassen stellen sich viel kompakter als das intakte Stratum corneum dar. Die optisch hellen Bereiche und Lücken der Detritusmassen haben eher die Tendenz rundliche bzw. wellige Formen anzunehmen (Abbildung 21a und b). Teilweise können innerhalb der zerfallenden Auflagerungen noch vereinzelt Zelltrümmer identifiziert werden (Abbildung 21c). An Stellen, an denen die körpereigene Abwehr einen Demarkationswall aus Phagozyten zwischen Epidermis und Detritus errichtet hat, liegen die Zellkörper der Fresszellen dicht aneinander. An der den Detritusmassen zugewandten Seite des Demarkationswalles gehen die Phagozyten massenhaft unter. Sie sind nur noch an den Resten ihrer rundlichen lysosomalen Enzymgranula erkennbar, die sich nun nicht mehr elektronendicht darstellen, da sie ihren Inhalt zur Verflüssigung und Abtransport des Detritus abgegeben haben (vergleiche Abbildung 20a und 21d).

## **6 Darstellung der Permeabilitätsbarriere der Fußballenepidermis mittels Lanthan-Tracer**

Aufgrund der vorausgegangenen Untersuchungen, die erkennen lassen, dass weder der Biotinsupplementierungsgrad des Futters noch der Reproduktionszeitpunkt (Termin) der Putenlegehennen einen Einfluss auf die Ultrastruktur der Haut der Nachkommen hat, werden die Tracerversuche nur an Nachkommen von Putenlegehennen durchgeführt, die mit einer Standardbiotinsupplementierung des Futters (400 µg/kg Futter) versorgt wurden. Da sich die Kontrastierung der krankhaft veränderten Metatarsalballenbereiche als äußerst schwierig erweist, beschränkt sich die Darstellung der Permeabilitätsbarrierefunktion auf die makroskopisch gesund erscheinende Fußballenhaut der Putenküken im Alter von einer Woche.

Die untersuchten Proben zeigen, dass die Interzellularräume der Intermediärzellen anhand des elektronendichten Markers bis in Höhe der ersten Hornzellen verfolgt werden können. In den unteren Abschnitten des Stratum intermedium stellt sich der Interzellularraum als gut sichtbare, stark elektronendichte, gewundene Linie dar (Abbildung 19a). Dagegen nimmt die Permeabilität der Zwischenzellbereiche für den Marker in den oberen Intermediärbereichen ab (Abbildung 19b). Zwischen den engen, stark kontrastierten desmosomalen Zellkontakten bilden sich ampullenartige, unscharf begrenzte Erweiterungen der Interzellularräume, deren unstrukturierter Inhalt sich weniger elektronendicht abhebt. Dies spricht für das vermehrte Vorhandensein einer hydrophoben Substanz im Interzellularspalt, bei der es sich wahrscheinlich um den Interzellularkitt handelt. In diesem Epidermisbereich wird die semipermeable Barrierefunktion der Oberhaut langsam aufgebaut. Es ist allerdings zu

---

beobachten, dass auch zwischen den unteren Reihen der jungen Hornzellen noch Tracersubstanz nachweisbar ist (Abbildung 19d). Im restlichen Stratum corneum sind dagegen keine Spuren des Markers zu finden. Erst in diesem Epidermisbereich scheint die semipermeable Barriere ihre endgültige Funktion zu übernehmen. Der Abbau der Barriere erfolgt in der Abschilferungszone der Epidermis. Das Lanthan lagert sich als kristallartig verzweigte elektronendichte Strukturen an der Hautoberfläche ab (Abbildung 19e). Es diffundiert zwar von der Oberseite der Epidermis aus zwischen die sich abschilfernden reifen Hornzellen und in den Intrazellularraum der auf der Hautoberfläche zerfallenden Sebokeratinozyten, kann aber dann nicht weiter vordringen.