

V. DISKUSSION

Die Hornstruktur und Hornqualität des Kronhorns im Huf des Hauspferdes wurden durch unterschiedliche Untersuchungsmethoden analysiert und sollen mit den Befunden in der Literatur verglichen werden. Ein wesentliches Anliegen ist darüber hinaus der Vergleich mit den Befunden am Urwildpferd, die von PATAN (2001) am gleichen Institut erhoben wurden, um den Einfluss der Genetik, der Haltung und der Zucht auf die Qualität und den Aufbau des Hornes festzustellen. Hierbei sind methodisch bedingte Unterschiede der Ergebnisse minimiert worden, da die licht-, raster-, elektronenmikroskopischen und histometrischen Untersuchungen sowie die Härte- und Feuchtigkeitsmessung genau koordiniert wurden, wodurch ein sehr guter Vergleich möglich wurde. Bei der gelelektrophoretischen Untersuchung wurden viele Hornproben aus entsprechenden Lokalisationen auf demselben Polyacrylamidgel aufgetrennt.

Die Diskussion der Ergebnisse erfolgt unter sechs Schwerpunkten, beginnend mit der Beschaffenheit des Papillarkörpers. Daraufhin werden die Architektur der Hornröhrchen, die intra- und extrazellulären Einflussfaktoren auf die Hornqualität, sowie der Feuchtigkeitsgehalt und die Härte des Horns diskutiert. Bei einigen untersuchten Parametern ließ sich eine Abhängigkeit von der Jahreszeit, in der die Hornproben vermutlich gebildet wurden, erkennen. Abschließend werden die Hornreifung und -alterung diskutiert.

a) Papillarkörper

Der Papillarkörper wurde neben der lebenden und verhornten Epidermis untersucht, da er sich zu dieser wie eine Patzize zur Matzize verhält (BOAS, 1881; ZIETZSCHMANN, 1918) und so eine gute proximodistale Übersicht über die kongruente Röhrchenform und -struktur gewährleistet. Aus diesem Grund erfolgt eine Diskussion der Papillenstruktur und der Papillenoberfläche. In Übereinstimmung mit FROHNES (1999) ist zur Darstellung der Papillen des Pferdehufes im Gegensatz zu denen der Rinderklaue (MÜLLING, 1993) keine Kunststoffinjektion nötig, um die natürliche Ausrichtung der Papillen zu erhalten. Die Dermis wird lediglich auf kleinen Korkplatten festgesteckt und schwimmend entwässert sowie fixiert. Die Form des

Papillarkörpers wurde vor allem rasterelektronenmikroskopisch analysiert, da diese Untersuchungsmethode eine gute Darstellung der dreidimensionalen Verhältnisse zulässt. Einige Befunde konnten lichtmikroskopisch abgesichert werden.

Im Kronsegment des Pferdehufes lassen sich zwei Papillenarten erkennen, die sich deutlich voneinander unterscheiden: die inneren, distalen Papillen und die äußeren, proximalen Papillen. Die inneren, distalen Papillen besitzen einen runden Querschnitt, während die äußeren, proximalen Papillen einen ovalen Querschnitt aufweisen, wobei die Zöttchen, die in der Nähe des Saumsegmentes liegen, stark abgeplattet sind. Dies bestätigt die Befunde von BUCHER (1987) und BRAGULLA und MÜLLING (1992) beim Hauspferd sowie PATAN (2001) beim Przewalskipferd. Letztgenannte Autorin bemerkt noch eine dritte Papillenart, die in der Übergangszone zwischen den inneren und äußeren Papillen vorkommen. Diese Zöttchen sind nicht so stark abgeplattet wie die äußeren. Bei den eigenen Untersuchungen wurde auch diese Papillenart bemerkt, allerdings in direkter Nachbarschaft mit den weiter oben beschriebenen Formen, so dass nicht von einer deutlich abgegrenzten Übergangszone ausgegangen werden kann.

Auf ihrer Oberfläche besitzen die Papillen des Hauspferdes ebenso wie die des Przewalskipferdes (PATAN, 2001) Mikroleisten. Zwischen diesen Leisten befinden sich Einziehungen, die als Kanellierung bezeichnet werden. Diese Befunde werden von BRAGULLA und MÜLLING (1992) ebenfalls erhoben. Die am weitesten außen gelegenen Papillen weisen diese Architektur nicht bzw. nur sehr undeutlich auf. Die Ergebnisse gleichen denen beim Urwildpferd (PATAN, Dissertation in Vorbereitung). Diese Architektur dient der Vergrößerung der Oberfläche, um einen guten mechanischen Zusammenhalt mit der lebenden Epidermis und eine größere Diffusionsfläche für die Nährstoffe aus den Lederhautgefäßen zu gewährleisten (NÖRNER, 1886; LUNGWITZ und PETERSEN, 1914; BOLLIGER und GEYER, 1992; MÜLLING, 1993; BRAGULLA, 1996). Die Unterschiede in der Ausprägung der Mikroleisten und Kanellierung können auch an den Ballenpapillen, nicht jedoch an den Sohlen- und Strahlpapillen, erkannt werden (FROHNES, 1999).

b) Architektur des Kronhorns

Nach PELLMANN et al. (1993) sowie BUDRAS und HUSKAMP (1995) ist die Architektur des Hornes ein Faktor, der die Qualität beeinflusst.

Über den Papillen des Kronsegmentes werden Hornröhrchen gebildet, die von Zwischenröhrchenhorn umgeben werden. Die Röhrchen bestehen aus einer Rindenschicht, die einen Markraum umgibt. Die Architektur wurde im Gegensatz zu vielen Angaben in der Literatur nicht nur lichtmikroskopisch ermittelt, sondern auch raster- und transmissionselektronenmikroskopisch untersucht. Dadurch war eine genaue Analyse der Oberfläche der Zellen, des Verlaufes der Zellgrenzen, der dreidimensionalen Zellgestalt und der Anordnung der Zellen möglich, wodurch einige in der Literatur zu findende Angaben korrigiert werden müssen.

Im Kronhorn des Hauspferdes können drei verschiedene Hornröhrchentypen unterschieden werden: innere, mittlere und äußere Kronhornröhrchen. Die beiden letztgenannten ähneln sich in vielen Punkten, ein deutlicher Unterschied besteht dagegen zu den erstgenannten. Bei transmissionselektronenmikroskopischer Betrachtung kann nur deutlich zwischen einem inneren und äußeren Abschnitt des Kronhorns unterschieden werden.

Die Kronhornröhrchen des Pferdes verlaufen parallel zueinander und geradlinig proximodistal. Dies bestätigt die Untersuchungen von BUCHER (1987), PELLMANN et al. (1993), BUDRAS und HUSKAMP (1995) und ANTHAUER (1996). Auch beim Urwildpferd können diese Angaben ermittelt werden (PATAN, 2001). Dagegen sollen die inneren Kronhornröhrchen des Rindes leicht geschlängelt verlaufen (FÜRST, 1992).

Um genaue Daten über die Röhrchen zu erhalten, wurden zusätzlich zu den licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen histometrische Untersuchungen durchgeführt. Da in der Literatur für die untersuchten Parameter meist der Mittelwert angegeben wird, sollen auch nur die entsprechenden Werte der eigenen Untersuchungen diskutiert werden. In erster Linie können die ermittelten Werte des inneren und äußeren Kronhorns mit denen von PATAN (2001) verglichen werden, da aufgrund der durchgeführten Untersuchungen am gleichen Institut eine genaue Koordination der Probenentnahme und der Befundermittlung stattgefunden hat und sich so methodische Unterschiede minimieren lassen.

Ebenso wie bei den Untersuchungen von BUCHER (1987), PELLMANN et al. (1993), und ANTHAUER (1996) lassen sich im inneren Kronhorn des Hauspferdes große,

runde Röhrrchen erkennen, die von relativ viel Zwischenröhrrchenhorn umgeben werden. Zwischen den großen Röhrrchen befinden sich ebenso wie beim Przewalskipferd (PATAN, 2001) einige kleinere Röhrrchen. Pro mm² gemessener Hornfläche sind ebenso wie bei den Untersuchungen von PELLMANN et al. (1993) im inneren Kronhorn 7 Röhrrchen nachzuweisen. BUCHER (1987) findet im inneren Kronhorn durchschnittlich 8 Röhrrchen/mm². Beim Urwildpferd ist eine Röhrrchenanzahl von durchschnittlich 14,7 Röhrrchen/mm² zu verzeichnen. Im Kronsegment der Schweineklaue lassen sich 105 Röhrrchen /mm² ermitteln (GEYER, 1980), in dem des Schafes 99 Röhrrchen/mm² (ROSSKOPF und GEYER, 1987). Diese Autoren nehmen jedoch bei ihren Messungen keine Einteilung des Kronhorns in verschiedene Zonen vor. HÄRTEL et al. (1986) berücksichtigen dagegen beim Schwein diese Unterteilung des Kronhorns und ermitteln einen deutlichen Anstieg der Röhrrchenanzahl vom inneren Kronhorn, in dem sie etwa 49 Röhrrchen/mm² nachweisen, in Richtung des äußeren Kronhorns, das etwa 132 Röhrrchen/mm² erkennen lässt. Aus dem Vergleich der Werte der Rinden- und Markfläche ergibt sich ein Verhältnis dieser beiden Röhrrchenanteile von 43,1:1 beim Hauspferd. PELLMANN et al. (1993) ermitteln ein Rinden-Markverhältnis von 40:1. Diese nur geringen Abweichungen der Ergebnisse lassen sich auf die individuell unterschiedliche Ausprägung dieses Parameters zurückführen. Beim Przewalskipferd beträgt dieses Verhältnis nur etwa 30:1, da sowohl die mittlere Mark- als auch die mittlere Röhrrchenfläche kleinere Werte aufweisen (PATAN, 2001). Der Anteil des Röhrrchenhorns der untersuchten Hornproben beträgt 56 %, das heißt es liegt ein Verhältnis von tubulärem zu intertubulärem Horn von etwa 1:1 vor. Dieses Verhältnis lässt sich annähernd auch beim Urwildpferd ermitteln (PATAN, 2001). PELLMANN et al. (1993) berichten dagegen von einem Verhältnis von 1:2 beim Hauspferd.

Im mittleren Kronhorn lassen sich ovale Röhrrchen mit einem ebenfalls leicht ovalen Markraum erkennen. Es können 12,1 Röhrrchen/mm² ermittelt werden, die ein Rinden-Markverhältnis von 12,1:1 aufweisen. Der Anteil des Röhrrchenhorns am Hufhorn ist durch die abgenommene Röhrrchenfläche vergleichbar mit dem des inneren Kronhorns. Beim Urwildpferd lassen sich wesentlich mehr Röhrrchen pro mm² erkennen, die wiederum ein kleineres Rinden-Markverhältnis aufweisen und im Gegensatz zum Hauspferd nur 33 % der gesamten Hornfläche einnehmen (PATAN, 2001).

Bei den eigenen Untersuchungen können im äußeren Kronhorn 19,8 Röhrrchen/mm² ermittelt werden. BUCHER (1987) weist im äußeren Kronhorn 14 Röhrrchen/mm² nach. PATAN (2001) beobachtet dagegen zwischen 24 und 57 Hornröhrrchen/mm² im äußeren Kronhorn des Urwildpferdes. Die Röhrrchen des Hauspferdes weisen ein Rinden-Markverhältnis von 10,7:1 auf. Beim Urwildpferd beträgt dieses Verhältnis nur 5,1:1 (PATAN, 2001). Abschließend muss erwähnt werden, dass die von PATAN (2001) zusätzlich durchgeführten Untersuchungen am Warmblutpferd in allen Kronhornzonen den eigenen Befunden deutlicher gleichen als die Befunde beim Urwildpferd, so dass davon ausgegangen werden kann, dass die ermittelten Abweichungen dieser beiden Pferdepopulationen nicht durch methodisch bedingte Ursachen zu erklären ist, sondern es sich hierbei um strukturelle Eigentümlichkeiten handelt.

Die Architektur der Hornröhrrchen, das Verhältnis der Röhrrchenrinde zum Röhrrchenmark sowie der Anteil an Zwischenröhrrchenhorn, ist bedeutungsvoll für die mechanischen Eigenschaften des Hornes (DIETZ und PRIETZ, 1981). Während runde Röhrrchen mit einer breiten Rindenschicht und einem runden, relativ weiten Markraum- wie im inneren Kronhorn des Pferdes- geeignet sind, vertikale Kräfte gut aufzunehmen, können ovale Röhrrchen mit einer vergleichsweise schmalen Rindenschicht besser horizontale Kräfte aufnehmen und dämpfen. Aufgrund der innigen Verbindung zu den Blättchen des Wandsegments und darüber zum Hufbeinträger ist im Bereich des inneren Kronhorns eine gute Elastizität nötig, um die durch das Hufbein einwirkenden proximodistalen Kräfte zu verteilen und abzufedern (NICKEL, 1939; LEACH und ZOERB, 1983; BERTRAM und GOSLINE, 1987; PELLMANN et al. 1993).

Auch BUDRAS und HUSKAMP (1995) und KÜNG (1991) ermitteln im Pferdehuf eine Abhängigkeit der Materialeigenschaften von strukturellen Gegebenheiten. Die durchgeführten Untersuchungen bestätigen einen Einfluss der Architektur auf die Qualität des Hornes. In Übereinstimmung mit DIETZ und PRIETZ (1981) sind Hornproben, die eine hohe Röhrrchenanzahl pro Flächeneinheit und demzufolge einen geringen Anteil an Zwischenröhrrchenhorn besitzen, besonders hart und besitzen eine gute Hornqualität, was die noch weiter unten dargestellten Ergebnisse der Härtemessung sowie der licht- und elektronenmikroskopischen Beobachtungen erhärten. Die Struktur des äußeren und mittleren Kronhorns weist im Vergleich zum inneren Kronhorn eine höhere Resistenz des Hornes gegenüber äußeren Einflüssen

auf und dient dem Schutz des inneren Kronhorns und der empfindlichen Hufteile. Bei den durchgeführten Untersuchungen stellen sich die Markräume der inneren Kronhornröhrchen im Vergleich zu denen der mittleren und äußeren Kronhornröhrchen sehr weit dar. Letztere lassen keinen oder nur einen geringen Markzellzerfall erkennen (siehe unten). In Übereinstimmung mit LEACH und ZOERB (1983) und MÜLLING (1993) wird angenommen, dass die Markzellen durch ihren Lipidgehalt eine Austrocknung des Hornes verhindern und eine Barriere gegen chemische und mikrobielle Noxen darstellen. Sie sind vermutlich in der Lage, das Horn zu versiegeln, so dass eine Feuchtigkeitsabgabe an die Umgebung und ein Eindringen schädlicher Einflüsse erschwert wird. Das Horn des Przewalskipferdes lässt in allen Kronhornbereichen mehr Hornröhrchen pro Flächeneinheit erkennen, die ein kleineres Mark-Rindenverhältnis aufweisen, was auf eine im Vergleich zum Hauspferd bessere Qualität schließen lässt (PATAN, 2001).

Im inneren Kronhorn lassen sich am Übergang zum mittleren Kronhorn licht- und elektronenmikroskopisch Mikrorisse erkennen, die besonders am Übergang des Röhrchen- in das Zwischenröhrchenhorn verlaufen. Dies bestätigt die Untersuchungen von ALBARANO (1993), ZENKER et al. (1995), JOSSECK et al. (1995) sowie SPITZLEI (1996). Die bevorzugte Lokalisation der Mikrorisse lässt sich dadurch erklären, dass am Übergang des inneren in das mittlere Kronhorn zwei architektonisch sehr unterschiedliche Hornröhrchen aufeinander stoßen. KÜNG (1991) erkennt dagegen überwiegend im mittleren und äußeren Kronhorn Mikrorisse. Auch ZENKER et al. (1995) weisen im äußeren Kronhorn einiger Lipizzanerpferde Mikrorisse nach. Liegen sie allerdings kurz unterhalb der äußeren Oberfläche, werden sie als Ausdruck eines normalen Abschilferungsprozesses gedeutet. Die in den distalen Hufanteilen makroskopisch sichtbaren Hornveränderungen resultieren- wie sich mikroskopisch erkennen lässt- in einer bereits wesentlich weiter proximal auffallenden geringeren mechanischen Stabilität. Häufig werden hier jedoch noch keine Mikrorisse im Horn gefunden. Durch die am Tragrand einwirkenden Kot- und Urinsubstanzen sowie die mechanischen Einwirkungen ist Horn geringerer Qualität für Risse oder Ausbrüche besonders anfällig (ZENKER, 1991; JOSSECK et al., 1995). Bei qualitativ beanstandetem Horn beobachtet KÜNG (1991) in einigen Fällen einen Ausbruch des Horns im Tragrandbereich oder- besonders am Übergang des mittleren in das innere Kronhorn- die Bildung einer hohlen Wand.

Im beständigen Kronhorn nicht beanstandeter, gesunder Hufe findet dagegen nur ein Hornabrieb am Tragrand statt. In der Regel muss dies vom Schmied unterstützt werden. Nur im Markraum der Hornröhrchen ist häufig ein Hornzellzerfall erkennbar, da die Markzellen der inneren und mittleren Hornröhrchen- wie noch weiter unten beschrieben- herausbröckeln. Im Sohlensegment ist zur Aufrechterhaltung der Sohlenwölbung des Pferdehufes die Bildung von Zerfallshorn zu beobachten (BUDRAS und SCHIEL, 1996; FROHNES, 1999). Bei den Urwildpferden ist in vielen Fällen ein Tragrandausbruch erkennbar, der entweder alle oder nur ein bis zwei Kronhornschichten umfasst (PATAN, 2001). Dies muss als Regulationsmöglichkeit der Hornabnutzung des Kronhorns gesehen werden, da in der freien Wildbahn keine Einwirkung von Seiten des Menschen möglich ist. Die Aussage von KÜNZEL (1990) über die Beständigkeit des Hufhorns, in dem im Vergleich zur Haut keine Abschilferungsprozesse erkennbar sind, muss demzufolge dementiert werden. Bei der Katze ist im Gegensatz zum Pferd ein Abrieb der gesamten oberen Krallentüte zum Beispiel am Kratzbaum zu verzeichnen, da bei dieser Tierart durch die Ausbildung eines Rückenwulstes ineinandergeschichtete Hornhülsen gebildet werden, die vollständig abgestoßen werden (ERNSBERGER, 1999).

Die Jahreszeit, in der das Horn vermutlich gebildet wurde, lässt bei den eigenen Untersuchungen entlang des Zehenrückenteiles von drei Hauspferden auch einen Einfluss auf die Struktur und Qualität der Röhrchen erkennen. Bei den Hornproben wurde der Abstand vom Kronrand ausgemessen und daraufhin in Anlehnung an die Literatur deren vermutlicher Bildungszeitpunkt bestimmt. Die Hornproduktion beträgt nach den Angaben von LEU (1987), JOSSECK et al. (1995) sowie SCHREYER (1997) beim Hauspferd 6 bis 9 mm/28 Tage. In den Wintermonaten ist hierbei aufgrund eingeschränkter Bewegungsaktivität und herabgesetzter Umgebungstemperatur eine Abnahme der Hornbildung um 1 bis 2 mm/28 Tage zu verzeichnen. Bei den eigenen Untersuchungen konnten bei den Hornproben, die vermutlich während der Wintermonate gebildet wurden, mehr Hornröhrchen/mm² nachgewiesen werden, als bei denen, die vermutlich in der wärmeren Jahreszeit gebildet wurden. Dies resultierte in einer kleineren Markfläche sowie einer bei zwei Hufen kleineren Fläche des gesamten Röhrchens. Die in den Wintermonaten gemessene geringere Markraum- und Röhrchenfläche weist auch auf eine höhere Resistenz des Hornröhrchens gegenüber mikrobiellen Einflüssen hin. PATAN (2001) erkennt beim Urwildpferd noch deutlichere Unterschiede der Struktur des Kronhorns

in Abhängigkeit der Jahreszeit. Dies ist vermutlich damit zu erklären, dass der überwiegende Teil der Przewalskipferde robust gehalten wird. Die geringere Röhren- und Markraumfläche sowie die Steigerung der Röhrenanzahl pro mm² während der kühleren Jahreszeit ist durch eine kälteinduzierte Vasokonstriktion der Gefäße in den Lederhautpapillen erklärbar, wodurch deren Oberfläche sich verkleinert und die Zotten näher aneinanderrücken. LEU (1987) sowie SPITZLEI (1996) ermitteln eine Zunahme der Hornqualität während der Wintermonate, meinen aber den gesamten Huf und beziehen sich nicht auf den Bildungszeitraum bestimmter Hornareale, so dass ein direkter Vergleich nicht möglich ist. Die im Sommer gefundenen schlechten Hornqualitäten führt LEU (1987) auf die starke Austrocknung der Hufe und die verstärkte Beanspruchung der Pferde in der wärmeren Jahreszeit zurück.

In der Rindenschicht der inneren Hornröhren sind zwei verschiedene Zellformen erkennbar, die folgende dreidimensionale Gestalt aufweisen: zwiebelschalenförmige Zellen, die an den Markraum angrenzen und polygonale Zellen, die den überwiegenden Rindenteil bilden. BUCHER (1987) kann dagegen keine unterschiedlichen Zellformen nachweisen, sie führt allerdings keine rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen durch, die diesbezüglich anderen Methoden weit überlegen ist.

Bei den mittleren und äußeren Kronhornröhren können aufgrund der eigenen Untersuchung wiederum zwei verschiedene Zelltypen gefunden werden. Die direkt an den Markraum angrenzenden zwei bis drei Zellagen sind ebenso wie bei den inneren Hornröhren zwiebelschalenförmig, während die äußeren Zellen eine ziegelsteinartige, konzentrische Gestalt mit unregelmäßiger Oberfläche besitzen. Nur bei den Röhren des mittleren Kronhorns sind an den Schmalseiten breitere, teilweise polygonale Zellen zu finden. PATAN (2001) erkennt beim Urwildpferd einen ähnlichen Röhrenaufbau. BOLLIGER und GEYER (1992) berichten im Kronhorn des Pferdes von zwei verschiedenen Zelltypen: abgeplattete, pfannkuchenförmige sowie langgestreckte, spindelförmige Zellen. Diesen Befunden stimmt HARNISCH (1996) zu. Eine rasterelektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte jedoch bei den genannten Autoren nicht. Der Begriff „pfannkuchenförmig“ wird bei den eigenen Befunden vermieden, da er regionalspezifisch unterschiedlich gedeutet wird.

Die über die Gestalt der Zwischenröhrenhornzellen erhobenen Befunde unterstützen die Erkenntnisse in der Literatur. Sie werden in junge, proximale und

alte, distale Zellen unterteilt, da erstere noch häufig einen strichförmigen Kernrest besitzen und eine nicht so stark abgeplattete Zellgestalt erkennen lassen. Dies bestätigt die Untersuchungen von HARNISCH (1996) sowie ANTHAUER (1996). Bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen ist der Übergang des Röhrenhorns in das Zwischenröhrenhorn häufig undeutlich, was sich in Übereinstimmung mit FROHNES (1999) dadurch erklären lässt, dass sich die Zwischenröhrenchenzellen, die direkt an die Rindenzellen angrenzen, schräg an diese anlagern. Bereits in der lebenden Epidermis ist ebenso wie bei der Rinderklaue (MÜLLING, 1993) ein fließender Übergang der inter- in die peripapillären Bereiche zu verzeichnen. Auch FROHNES (1999) kann im Sohlen- und Ballen-Strahlsegment des Pferdehufes ebenso wie ROSSKOPF und GEYER (1987) im Kronsegment der Schafklaue in der Regel keine genaue Abgrenzung vornehmen.

Die Ergebnisse über die Form und die Anordnung der Markzellen der Hornröhren decken sich ebenfalls mit den Befunden in der Literatur (BUCHER, 1987; PELLMANN et al., 1993; LIEBICH et al., 1999 und FROHNES, 1999). Sie besitzen eine polygonale Zellgestalt und sind überwiegend quer zum Röhrenverlauf angeordnet.

Die ermittelte Zellausrichtung des Kronhorns lässt ebenso wie bei den Untersuchungen von FROHNES (1999) im Sohlen- und Ballen-Strahlsegment des Hufes vom Hauspferd keine Einteilung der Röhren in Zonen zu. Besonders in den parallel zur Hornröhrenlängsachse verarbeiteten Hornproben lässt sich erkennen, dass die Hornröhrenrindenzellen mit ihrer Längsachse parallel zur Röhrenrichtung orientiert sind und keinen Winkel zur Röhrenlängsachse einnehmen, sie besitzen alle die gleiche Orientierung. Diese Befunde werden auch durch die Untersuchungen von LEISERING und HARTMANN (1876) und ZENKER et al. (1995) bestätigt. Beim Urwildpferd lassen sich dagegen in der Innenzone der Röhren des inneren Kronhorns Zellen erkennen, die in einem Winkel von 45° zur Röhrenlängsachse verlaufen (PATAN, 2001).

Auch die Ergebnisse der Orientierung der Zwischenröhrenchenzellen zu denen des Röhrenhorns gleichen den Beobachtungen in der Literatur (LEISERING und HARTMANN, 1876; BUCHER, 1987; ANTHAUER, 1996 und PATAN, Dissertation in Vorbereitung).

Die Zytoarchitektur der Hornzellen der inneren Kronhornröhren des Hauspferdes ist durch einen spongiösen Aufbau gekennzeichnet. Auch beim Urwildpferd lässt sich

dieser Zellaufbau nachweisen (PATAN, 2001). Bei den eigenen Untersuchungen ist erkennbar, dass die Hohlräume im Röhrenhorn zahlreicher als im Zwischenröhrenhorn sind, so dass auf diese Weise eine Abgrenzung dieser beiden Hornstrukturen transmissionselektronenmikroskopisch- ebenso wie rasterelektronenmikroskopisch- möglich ist. Diese nur im inneren Kronhorn zu findende Zytoarchitektur ermöglicht eine gute Elastizität des Hornes und eine federnde Verankerung des Hufbeinträgers. Raster- sowie transmissionselektronenmikroskopisch sind in den Zellen des inneren Kronhorns auch zahlreiche Hohlräume sichtbar, in denen sich teilweise Überreste der Kerne befinden. Dies ist nach der Ansicht von MÜLLING (1993) ein Zeichen unvollständiger Verhornung und schlechter Hornqualität. Die mittleren und äußeren Hornröhrenrindenzellen und Zwischenröhrenhornzellen des Hauspferdes und des Przewalskipferdes (PATAN, Dissertation in Vorbereitung) sind relativ solide, es lassen sich nur selten sehr kleine Hohlräume erkennen, die die Kertinfilamentbündel auseinander drängen. BUDRAS und HUSKAMP (1995) erwähnen beim Hauspferd keine unterschiedliche Zytoarchitektur in den verschiedenen Kronhornbereichen.

Die Markzellen sind in Übereinstimmung mit FROHNES (1999) hochgradig porös. Es sind nur kurze Filamentbündel erkennbar, die durch bizarr angeordnete Hohlräume voneinander getrennt sind. ANTHAUER (1996) findet dagegen relativ solide Markzellen. Hierbei handelt es sich vermutlich um sehr junge Markzellen, da diese erst im Rahmen der Hornzellreifung intrazelluläre „Zerfallshohlräume“ aufweisen.

Die Zellgrenzen der Hornzellen des inneren Kronhorns verlaufen stärker gewunden als die des mittleren und äußeren Kronhorns. In Übereinstimmung mit HARNISCH (1996) wird auf diese Weise der Zellzusammenhalt sowie die Stabilität der Hornzelle unterstützt, die aufgrund der besonderen Zytoarchitektur und der weiter unten erläuterten histochemischen und elektrophoretischen Eigenschaften besonders anfällig für Kräfte ist, die von außen einwirken. Der Interzellularspalt der Hornröhrenmarkzellen verläuft über weite Abschnitte relativ gerade. ANTHAUER (1996) erkennt dagegen keinen Unterschied im Verlauf des Interzellularspalt zwischen den verschiedenen Kronhornbereichen.

Schattenhafte Desmosomenreste sind bei den eigenen Untersuchungen ebenso wie bei denen von LEACH (1993), ANTHAUER (1996) und HARNISCH (1996) beim Hauspferd sowie PATAN (2001) beim Urwildpferd besonders in den stark gewundenen Bereichen der Zellgrenzen erkennbar. Die Keratinfilamente enden nicht

direkt an den desmosomalen Plaques, sondern sind von diesen durch eine relativ elektronendichte Zone getrennt. Die Haftplatten bestehen aus kondensiertem fibrösem Material, das an der Cytoplasmaoberfläche in feine Filamente ausfranst, die in die Tonofilamente übergehen (BRODY, 1960; MATOLTSY, 1975; KELLY und SHIENVOLD, 1976).

Im mittleren und äußeren Kronhorn finden sich bei den eigenen Untersuchungen zusätzlich Gap Junctions in den Zellen der Röhrenrinde sowie des Zwischenröhrenhorns. Dies wird ebenfalls von LEACH und OLIPHANT (1983) beim Hauspferd und von PATAN (2001) beim Przewalskipferd erkannt. Sie berichten dagegen nicht von einem wie bei den eigenen Untersuchungen ermittelten unterschiedlichen Auftreten dieser Strukturen in den einzelnen Kronsegmentbereichen. Annular Gap Junctions lassen sich bei den untersuchten Hornproben in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von HARNISCH (1996) sowie ANTHAUER (1996), jedoch entgegen denen von LEACH und OLIPHANT (1984), nicht nachweisen.

Da die oben genannten Zellverbindungen nur selten auftreten und durch den ausgeschütteten Interzellularkitt aufgeweitet werden, kann ihnen im vollständig verhornten Gewebe in Übereinstimmung mit LEACH (1993) keine bedeutende Barriere gegen die Zellseparation zugesprochen werden. Dies lässt sich daran erkennen, dass interzelluläre Mikrorisse auch diese Zwischenzellverbindungen passieren. Entgegen den Verhältnissen in der vitalen Epidermis, wo besonders die Desmosomen der Verankerung der intrazellulären Filamentbündel und der punktuellen Adhäsion der Zellen dienen (HABERMEHL, 1996), werden die Zwischenzellverbindungen im Zuge der Verhornung mehr oder weniger aufgelöst und verlieren weitgehend ihre Funktion, die vom Interzellularkitt übernommen wird (siehe unten). Sie können als mehr oder weniger funktionslose „Schatten“ gedeutet werden.

Ein bruchstückhaftes marginale Band ist bei allen untersuchten Hornproben unterhalb der Plasmamembran der Hornzellen erkennbar. Bei der Keratinisierung werden diese von einer breiten Membran umgeben, die durch viele Disulfid- und Wasserstoffbrücken stabilisiert wird. Das marginale Band stabilisiert zusammen mit den Tonofilamenten die Hornzelle und ist äußerst resistent gegenüber Keratinolyse und mikrobielle Zersetzung (ELIAS und FRIEND, 1975; MATOLTSY, 1976; BUDRAS und HUSKAMP, 1995). Bei den untersuchten Hufproben ist das marginale Band in

den spongiösen und den soliden Hornzellen gleichermaßen vorzufinden. Dies bestätigt die Befunde von FROHNES (1999) und PATAN (2001). ANTHAUER (1996) weist es dagegen nur in den Zwischenröhrchenhornzellen nach. LEACH (1993) erkennt es nur in den ersten Zellschichten des Stratum corneum. ELIAS und FRIEND (1975) sowie MARTINEZ und PETERS (1971) finden es auch noch in den obersten Schichten des Stratum corneum. Bei den eigenen Untersuchungen weist das marginale Band der Zellen des Kronhorns ebenso wie in den Zellen des Sohlen- sowie Ballen-Strahlhorns eine Breite von etwa 16 nm auf. Im menschlichen Fingernagel besitzt es eine Breite von etwa 16-18 nm (HASHIMOTO, 1971b).

Auf der äußeren Zelloberfläche aller Zellen können elektronenmikroskopisch meist faltenförmige, teilweise stummelförmige Fortsätze erkannt werden. Auch FROHNES (1999) findet bei den von ihr untersuchten Proben mit Ausnahme der Markzellen diese Zellfortsätze. Ebenso wie WILKENS (1963) deutet sie sie als Formationen zur Vergrößerung der Zelloberfläche, um den Zusammenhalt der Zellen zu gewährleisten.

Aufgrund der Befunde über die Architektur der Hornröhrchen und Hornzellen muss das von NICKEL (1938) eingeführte Osteonenmodell abgelehnt werden, da gravierende Unterschiede zwischen dem Aufbau und der Funktion der Hornröhrchen und dem Aufbau eines Osteons bestehen. Hornröhrchen, deren Hornzellen in mehreren abwechselnd rechts und links drehenden Spiralen angeordnet sind, in denen die Keratinfilamente in unterschiedlichen Steigungswinkeln verlaufen, können entgegen der Ansicht von NICKEL (1938) sowie WILKENS (1963) trotz intensiver Suche im Licht- und Elektronenmikroskop nicht gefunden werden. Die zur Stützung des Osteonenvergleichs angeführte Kontinuität der Keratinfilamente geht wie noch weiter unten dargestellt entgegen NICKEL (1938) und in Übereinstimmung mit WILKENS (1963) nicht über die einzelne Hornzelle hinaus. Auch die zur Unterstützung dieser Theorie angeführte diskontinuierliche Verspannung der Keratine durch Desmosomen (HABERMEHL, 1996) ist nicht überzeugend, weil diese Zwischenzellverbindungen zunehmend ihre Struktur und Funktion verlieren.

c) Intrazelluläre Faktoren der Hornqualität

Zu den intrazellulären Faktoren, die die Hornqualität beeinflussen, gehören die bei der Verhornung der Epidermiszellen entstehenden Keratinfilamente, deren Typ,

Menge und Vernetzung einen entscheidenden Einfluss ausüben. Weiterhin nehmen die Intermediärfilament-assoziierten Proteine (IFAP) eine wichtige Stellung innerhalb der Zelle ein (PELLMANN et al., 1993).

Keratinfilamente sind bereits in der lebenden Epidermiszelle in Übereinstimmung mit FROHNES (1999) und PATAN (2001) nachzuweisen. Sie nehmen im Laufe der Zelldifferenzierung an Menge zu. Am Übergang der Stachelzellschicht in die Hornzellschicht, kommt es durch den Umbau des Cytoskeletts zu einer Abplattung der Zellen, so dass die Filamente dichter zusammen rücken und ein für die Stabilität der Zelle wichtiges Netzwerk bilden. Bereits in der lebenden Epidermis ist ihr Verlauf in allen Richtungen der Zelle, jedoch überwiegend parallel zu deren Längsachsen, zu erkennen. Dies bestätigt die Untersuchungen von WILKENS (1963), BOLLIGER (1991), MÜLLING (1993) sowie FROHNES (1999). Die Angaben von NICKEL (1939) über den Verlauf der Keratinfilamente parallel zur Längsausrichtung der Zelle sowie die Durchquerung des Interzellularspaltes sind inzwischen widerlegt worden. Im inneren Kronhorn des Pferdes werden die in Hornbälkchen verlaufenden Keratinfilamentbündel durch spongiöse Hohlräume voneinander getrennt, während sie im mittleren und äußeren Kronhorn bei fehlender Spongiosität dicht beieinander liegen. Dies ist auch beim Urwildpferd zu erkennen (PATAN, 2001). In den Zellen des Röhrchenmark sind die Keratinfilamentbündel kurz und durch bizarre, im Zuge der Hornalterung entstehende Hohlräume voneinander getrennt, so dass ein grobmaschiges Netzwerk gebildet wird. Sie besitzen auch eine geringere Anzahl dieser Filamente.

Bei der durchgeführten photometrischen Untersuchung im Rahmen der elektrophoretischen Analyse lässt sich eine geringere Proteinmenge im inneren Kronhorn als im mittleren und äußeren nachweisen. Bei den errechneten Werten ist jedoch zu bedenken, dass ebenso wie bei der Analyse von FROHNES (1999) nicht alle extrahierten Proteine wieder in Lösung gebracht werden konnten, dies trat allerdings in allen untersuchten Regionen im gleichen Maß auf. Die Werte sind mit den Angaben von PATAN (2001) beim Urwildpferd vergleichbar. Bei der SDS-Polyacrylamidgelelektrophorese lassen sich im höhermolekularen Gewichtsbereich im inneren Kronhorn vierzehn Proteinbanden erkennen, die ein Molekulargewicht zwischen 39,5 kDa und 68 kDa aufweisen. Im mittleren und äußeren Kronhorn treten neben den oben genannten Banden zusätzliche mit einem Molekulargewicht von 59 kDa, 64 kDa sowie 80,5 kDa auf. Diese Proteine können den Keratinen zugeordnet

werden. Beim Przewalskipferd treten die gleichen Proteinbanden wie beim Hauspferd auf, lediglich die Intensität einiger Banden lässt geringgradige Abweichungen erkennen (PATAN, 2001). Im höhermolekularen Bereich können GROSENBAUGH und HOOD (1992) vier verschiedene Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 40 kDa und 80 kDa nachweisen, deren Molekulargewichte sich meist nur gering, im Falle des ermittelten 72 kDa-Proteins jedoch deutlich von den eigenen Ergebnissen unterscheiden. Sie unterlassen jedoch die Unterteilung der Hornproben des Kronhorns entsprechend dessen Einteilung in verschiedene Zonen. Weder beim Hauspferd noch beim Przewalskipferd (PATAN, 2001) ist eine Abhängigkeit der gelelektrophoretischen Ergebnisse von der Jahreszeit zu verzeichnen.

Das Molekulargewicht humaner Zytokeratine liegt zwischen 40 kDa und 70 kDa (BADEN, 1984; STEINERT et al., 1984). Eine Immunoblotanalyse wurde bei den eigenen Untersuchungen nicht durchgeführt. Aus diesem Grund wird auf die Ergebnisse beim Urwildpferd (PATAN, 2001) verwiesen. Beim Przewalskipferd reagieren sieben Keratine mit dem Antikörper AE1. Das Keratin mit einem Molekulargewicht von 49,5 kDa stellt sich zusätzlich mit Anti-CK 14 dar, das mit einem Molekulargewicht von 54 kDa mit Anti-CK 10. Drei Keratine reagieren mit dem polyvalenten Antikörper AE3, wobei die Bande mit einem Molekulargewicht von 57 kDa sich zusätzlich durch Anti-CK 5/6 nachweisen lässt. Die Proteinbanden mit einem Molekulargewicht von 56 kDa und 57 kDa lassen sich mit beiden polyvalenten Anticytokeratinen darstellen. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um verschiedene Keratine mit unterschiedlicher Antigenität aber gleichem Molekulargewicht. GROSENBAUGH und HOOD (1992) ordnen die von ihnen identifizierten höhermolekularen Proteine mit einem Molekulargewicht von 63 und 69 kDa den basischen AE3-positiven Keratinen zu und die mit einem niedrigerem Molekulargewicht von 46 kDa und 53 kDa den sauren AE1-positiven Keratinen. PELLMANN et al. (1993) stellen fest, dass die von ihnen verwendeten polyvalenten Anticytokeratine AE1, AE3 und die monovalenten Anti-CK 1/2 sowohl in der Röhrenrinde als auch im Zwischenröhrenhorn des Kronsegmentes binden. BOLLIGER (1991) erkennt dagegen nur eine Reaktion der Anticytokeratine mit Strukturen des Hornröhrenmarks. Dies lässt auf eine unzureichende Methode schließen.

Die ebenfalls im Laufe der Verhornung der Epidermiszelle gebildeten Intermediärfilament-assoziierten Proteine (IFAP) binden an die Keratinfilamente und führen so zur Bündelung der Filamente. Im Gegensatz zu Horn, das der weichen Verhornung unterliegt, wird im „harten Horn“ kein Stratum granulosum mit den dazugehörigen Keratohyalin granula als Speicherform der IFAP ausgebildet. Diese werden in der lebenden Epidermis gebildet (FROHNES, 1999).

Die IFAP werden durch Disulfidbrücken stabilisiert und sind teilweise mit den Sulfhydrylgruppen der Keratinfilamente verbunden, wodurch diese in ihrer Deformation begrenzt werden (MATOLTSY, 1976; STEINERT, 1975). Auf diese Weise kommt es zu einer stabilen Struktur des Hornes und einer guten Elastizität der Hornzelle (MATOLTSY und PARAKKAL, 1967; STEINERT et al., 1984).

Die niedermolekularen Proteinbanden, zu denen auch die IFAP gehören, unterscheiden sich beim Hauspferd entgegen den Befunden beim Urwildpferd (PATAN, 2001) hinsichtlich ihres Auftretens und ihrer Intensität nicht in den verschiedenen Zonen des Kronsegments. Es sind zehn unterschiedliche Proteinbanden in einem Gewichtsbereich von 13 kDa bis 27 kDa erkennbar. PATAN (2001) weist beim Przewalskipferd noch drei zusätzliche Proteine nach und stellt deutliche Unterschiede der Intensität der Proteinbanden in den Kronhornzonen fest. Weiterhin kann sie im mittleren und äußeren Kronhorn keine Proteine mit einem Molekulargewicht von 26 kDa anfärben.

Im Sohlen-, Strahl- und Ballenhorn des Pferdehufes lassen sich im Gewichtsbereich von 14 bis 30 kDa sechs bis elf verschiedene Proteinbanden ermitteln. Es sind hier auch Proteine der Zellhülle, nukleäre Histonproteine, Desmosomen- oder Organellreste sowie Proteine aus dem Interzellularkitt vorzufinden (FROHNES, 1999). Weder bei FROHNES (1999) noch bei PATAN (2001) lassen sich die niedermolekularen Proteine immunologisch identifizieren.

GROSENBAUGH und HOOD (1992) bezeichnen die Intermediärfilament-assoziierten Proteine des Stratum internum und medium des Pferdehufs als High-Sulfur-Fraktion (HS-Fraktion), ihr Molekulargewicht liegt zwischen 10 und 30 kDa. Weiterhin finden sie im Pferdehuf keratinassoziierte Proteine, die als High-Tyrosin-Fraktion (HT-Fraktion) bezeichnet werden. Sie besitzen ein Molekulargewicht zwischen 10 kDa und 20 kDa.

Der semiquantitative Nachweis der Sulfhydryl- (SH-) und Disulfid- (SS-)gruppen gibt Auskunft über die biochemischen Vorgänge in der Epidermis während der Verhornung. In der lebenden Epidermis werden die Sulfhydrylgruppen der Aminosäuren zu Disulfidbrücken oxidiert, wodurch die Keratine untereinander, zu den IFAP und hin zum marginalen Band stabilisiert werden. Außerdem entstehen noch weitere kovalente und nicht-kovalente Bindungen, deren Anzahl die Festigkeit des Horns bestimmen (MERCER, 1958; BRAGULLA et al. 1992; PELLMANN et al., 1993). Die Struktur und die Härte der Keratine sind zurückzuführen auf die Anzahl der gebildeten Sulfhydryl- und Disulfidbrücken (BRAGULLA et al., 1994; MÜLLING et al., 1994b). Bei den eigenen Untersuchungen konnten ebenso wie bei denen von MÜLLING (1993), PELLMANN et al. (1993), FROHNES (1999) sowie PATAN (2001) bereits geringe Mengen an SH- sowie SS-Gruppen im Stratum basale nachgewiesen werden, bei denen ein Anstieg der Konzentration zur Verhornungsgrenze hin zu verzeichnen ist, der im mittleren und äußeren Kronhorn deutlicher ausfällt. Im Cytoplasma der voll ausgereiften Zellen der Röhrenrinde und des Zwischenröhrenhorns ist ihr Gehalt dagegen niedrig, lediglich die Zellgrenzen zeigen eine stark bis sehr stark positive Reaktion beider Reaktionsgruppen. Dies ist durch die von REICHERT et al. (1993) nachgewiesenen SH-Gruppen sowie die von MEYER und SCHLESINGER (1991) sowie MÜLLING (1993) gefundenen SS-Gruppen im marginalen Band der Hornzelle zu erklären. Nur im inneren und vereinzelt im mittleren Kronhorn sind auch intrazellulär häufig SH- und SS-Gruppen darzustellen. Die Markzellen enthalten weniger SH- und SS-Gruppen als die Zellen des Zwischenröhrenhorns sowie der Röhrenrinde. LARSSON et al. (1956) weisen keine Sulfhydrylgruppen im Stratum corneum mehr nach, während sie GEYER (1980) im gesamten Stratum corneum der Schweineklau findet, die in den verschiedenen Bereichen des Kronhorns und in den verschiedenen Hornröhrenchenzellen eine unterschiedliche Konzentration aufweisen. In Übereinstimmung mit BRAGULLA et al. (1994) kann in Abhängigkeit der Härte des Hornes eine unterschiedliche Konzentration an SH- und SS-Gruppen ermittelt werden. FROHNES (1999) spricht diesen Konzentrationsunterschieden bei ihren Untersuchungen jedoch nur eine geringe Bedeutung für die Unterschiede der Hornhärte zu.

Ebenso wie bei den Befunden von FROHNES (1999) lässt sich im Kronhorn des Pferdes ein Gehalt an intrazellulären Lipiden sowie an Glykogengranula nachweisen. Diese befinden sich überwiegend in den Zellen des Hornröhrchenmarks, was nach der Ansicht von MÜLLING (1993) sowie BUDRAS und SCHIEL (1996) ebenso wie das Auftreten von Zellorganellresten sowie Zellkernresten als Zeichen einer überstürzten, unvollständigen Verhornung und nicht verbrauchter Energie gedeutet werden kann. Diese Faktoren bedingen ebenso wie die weiter oben beschriebenen strukturellen Eigenschaften der Markzelle, deren schlechte Hornqualität und ihren- in einigen Bereichen des Pferdehufes- schnellen Zerfall. Daneben wird nach der Ansicht von MÜLLING (1993) und HOCHSTETTER (1998) durch die intrazellulären Lipide und Kohlenhydrate eine gute Elastizität der Zelle gewährleistet. Diese ist besonders im inneren Kronhorn nötig, um die vertikal eintreffenden Kräfte auf die Hornröhrchen besser abfangen zu können (LEACH und ZOERB, 1983). Weiterhin muss der schräge Zug des Hufbeinträgers abgefedert werden.

d) Interzelluläre Faktoren der Hornqualität

In der vollständig verhornten Epidermis übernimmt der Interzellularkitt anstelle der interzellulären Verbindungen die Funktion des Zellzusammenhaltes. Der Interzellularkitt, der in der verhornten Epidermis den Zusammenhalt der Zellen gewährleistet (BUDRAS und BRAGULLA, 1991), wird im Golgi-Apparat sowie im rauhen Endoplasmatischen Retikulum gebildet, in den Membrane Coating Granules (MCG`s) gespeichert und zur Zellperipherie transportiert, wo er durch Exocytose in den Interzellularspalt ausgeschüttet wird (LANDMANN, 1980; MÜLLING, 1993; ANTHAUER, 1996). Im Kronhorn des Pferdes treten in Übereinstimmung mit ANTHAUER (1996) wenige MCG`s auf. Sie lassen sich bereits im unteren Stratum spinosum erkennen und schleusen ihren Inhalt überwiegend am Übergang des mittleren in das obere Stratum spinosum aus.

Über die Zusammensetzung der Kittsubstanz geben die durchgeführten histochemischen Untersuchungen Auskunft. Die Sudanschwarz B-Reaktion stellt die Lipide im Interzellularspalt dar, während die PAS-Reaktion- teilweise nach vorheriger Diastaseeinwirkung- den Kohlenhydratanteil anfärbt. Hierbei kann jedoch nicht zwischen Glykoproteinen und Glykolipiden unterschieden werden. Die Lipide des Interzellularkitts stellen sich besonders im äußeren Kronhorn als perlschnurartig

aneinandergereihte, feinkörnige Punkte dar. Entgegen den Befunden von ELIAS und FRIEND (1975) sowie LANDMANN (1980) in der menschlichen Haut lassen sich im Interzellularspalt der verhornten Epidermis des Kronhorns transmissionselektronenmikroskopisch keine lamellenförmige Anordnungen der Lipide erkennen, was durch die rasche Umwandlung der Struktur lipide in amorphe Neutrallipide zu erklären ist. Auch im Kronhorn der Rinderklaue ist eine derartige Formation der Lipide nicht festzustellen (MÜLLING und BUDRAS, 1998).

Die Anfärbung der Kohlenhydrate lässt ebenso wie beim Lipidnachweis im äußeren Kronhorn eine im Vergleich zum mittleren und inneren Kronhorn geringgradig deutlichere Reaktion erkennen, es sind auch hier feinkörnige Strukturen im Interzellularspalt erkennbar. Einen Aufschluss über die Zusammensetzung der Kohlenhydrate liefern die Inkubationen der Hornproben mit Diastase, wodurch Glykogen verdaut wird, und die von FROHNES (1999) durchgeführten Untersuchungen mit Lectinen.

Der Kohlenhydratanteil des Interzellularkitts sichert den Zellzusammenhalt, während der Lipidanteil als semipermeable Barriere sowie als Barriere gegen chemische und mikrobielle Noxen fungiert (BUDRAS und BRAGULLA, 1991; MÜLLING und BUDRAS, 1998). MÜLLING (1993) sowie MÜLLING und BUDRAS (1998) schreiben dem Interzellularkitt eine Funktion als Wasserspeicher zu. Er beeinflusst den Feuchtigkeitsgehalt des Hufes und damit seine Härte und Zugfestigkeit maßgebend. Weiterhin übt er aufgrund seines Gehaltes an Hydrolasen eine lysosomale Funktion aus (BUDRAS und BRAGULLA, 1991). Ein wichtiges Enzym der MCG's sowie des Interzellularkittes ist die saure Phosphatase. Ihre Aktivität im Interzellularkitt variiert in den einzelnen Segmenten. BOLLIGER (1991), GEYER (1984) und BOLLIGER sowie GEYER (1992) weisen vor allem hohe Aktivitäten im Interzellularkitt der Markzellen, vor allem des Saum-, Strahl- und Kronhorns, nach. Im Kronsegment des Pferdehufes kann ANTHAUER (1996) dagegen nur eine schwache Aktivität feststellen. In der Zelle ist es verantwortlich für die Auflösung der Organellen und die Aushärtung der Zellen bei der Verhornung, außerhalb der Zelle löst es an der Verhornungsgrenze die desmosomalen Verbindungen und ermöglicht die physiologische Hornzelledesquamation. Durch die hohe Konzentration im Röhrenmark wird ein Herausbröckeln der Markzellen und Eindringen von Schmutz und Infektionserregern wesentlich erleichtert (ANTHAUER, 1996).

Ebenso wie die chemische Zusammensetzung sind auch die Menge und die Verteilung der Kittsubstanz im Interzellularrspalt verantwortlich für die Stabilität des Hornzellverbandes (BUDRAS und BRAGULLA, 1991; PELLMANN et al., 1993; BUDRAS und HUSKAMP, 1995; ANTHAUER, 1996). Die Weite des Interzellularrspaltes beträgt im harten Kronhorn des Pferdehufes etwa 40 nm. Beim Przewalskipferd ist der Interzellularrspalt im Röhrrchen- und Zwischenröhrrchenhorn dagegen etwas schmaler, er weist nur Werte von 20-30 nm auf (PATAN, 2001), wodurch ein besserer Zellzusammenhalt und eine höhere Hornqualität gewährleistet ist. Im Kronhorn ist der über weite Strecken gleichmäßig enge und vollständig mit Kittsubstanz angefüllte Interzellularrspalt besonders in dessen innerer Zone durch einige großblasige Erweiterungen unterbrochen, die in der Regel nur randständig mit einem mäßig elektronendichten Interzellularkitt gefüllt sind, während das mittlere und äußere Kronhorn nur selten Erweiterungen des Interzellularrspaltes erkennen lassen. Diese strukturellen Gegebenheiten bewirken einen guten Zellzusammenhalt, der die vom Kronhorn geleistete Stütz- und Schutzfunktionen des Hufes und des Hufbeinträgers gewährleisten. Besonders zahlreich sind die Erweiterungen des Interzellularrspaltes im Zwischenzellraum der Markzellen anzutreffen, was die Untersuchungen von FROHNES (1999) bestätigt. Hier ist auch in dessen gleichmäßig engen Abschnitten teilweise nur eine randständige Anordnung des Interzellularkittes erkennbar. Besonders im Hornröhrrchenmark wird ein Herausbröckeln der Zellen durch den geringen Zellzusammenhalt aufgrund der zahlreichen Erweiterungen des Interzellularrspaltes und der häufig nur randständigen Anordnung der Kittsubstanz erleichtert. Nach der Ansicht von BUDRAS und BRAGULLA (1991) und BUDRAS und HUSKAMP (1995) bestimmt die Menge des ausgeschleusten Interzellularkittes die Weite des Interzellularrspaltes. Befinden sich geringe Mengen in einem gleichmäßig engen Interzellularrspalt, der vollständig ausgefüllt wird, ist die Stabilität des Hornzellverbandes und somit die Qualität des Horns am größten. MÜLLING (1993) ordnet den Erweiterungen eine Funktion als „Dämpfungskissen“ für von außen eintreffende Druckkräfte zu. Dagegen müssen sie auch als Eintrittspforten für eine Keimbesiedlung oder für eine Anreicherung mit aggressiven Substanzen- zum Beispiel aus dem Harn- angesehen werden (BUDRAS und SCHIEL, 1996; MÜLLING und BUDRAS, 1998). Bei den eigenen Untersuchungen lässt sich ebenso wie bei den Untersuchungen von PATAN und BUDRAS (2000) sowie PATAN (2001) erkennen, dass Hornproben, die vermutlich in

der kühleren Jahreszeit gebildet wurden, im Gegensatz zu solchen, deren Bildungszeitpunkt vermutlich in den Sommermonaten liegt, nur sehr selten großblasige Erweiterungen aufweisen und sich die Kittsubstanz gleichmäßig im vollständig ausgefüllten Interzellularspalt verteilt. Es sind auch lichtmikroskopisch weniger Mikrorisse im Horn erkennbar. Die unterschiedliche Ausbildung des Interzellularspalt und das unterschiedliche Auftreten von Mikrorissen in Hornproben, die zu unterschiedlichen Jahreszeiten gebildet wurden, deuten auf einen besseren Zellzusammenhalt und eine höhere Qualität von Horn hin, das während der kühleren Jahreszeit gebildet wurde.

e) Härte und Feuchtigkeit des Kronhorns

Die Härteprüfungen wurden mit einem Shore C-Messgerät durchgeführt. In der Literatur liegen dagegen überwiegend Angaben zur Hornhärte vor, die mit einem Shore D-Messgerät ermittelt wurden. Lediglich die am gleichen Institut erstellten Härtewerte des Kronhorns der Urwildpferde (PATAN, 2001) sowie der von FROHNES (1999) ermittelte Härtegrad des Kronhorns der Hauspferde können mit den eigenen Werten verglichen werden. FROHNES (1999) unterscheidet jedoch nicht zwischen den einzelnen Zonen des Kronhorns, was einen direkten Vergleich verbietet. Die von ihr angegebenen Werte sind mit den eigenen ermittelten Werten vom inneren Kronhorn zu vergleichen. Dieses weist niedrigere Härtewerte auf als das äußere. Das äußere Kronhorn erreicht die höchsten Härtewerte. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den palpatorischen Befunden, da das innere Kronhorn eine weich-elastische Konsistenz aufweist und das äußere Kronhorn sehr hart erscheint. PATAN (Dissertation in Vorbereitung) erkennt auch bei ihren Untersuchungen am Huf der Przewalskipferde die oben dargestellten Härteunterschiede in den verschiedenen Bereichen des Kronhorns. Ihre ermittelten Werte fallen im Vergleich zum Hauspferd jedoch im inneren und mittleren Kronhorn etwas, im äußeren dagegen deutlich höher aus. Beim Hauspferd können jahreszeitliche Unterschiede der Härte nicht nachgewiesen werden. Da bei den untersuchten Hufen keine Angaben zu der Haltungs- und Nutzungsform der Hauspferde zugänglich waren, ist dieses Ergebnis nicht in direktem Vergleich mit dem von PATAN und BUDRAS (2000) und PATAN (2001) beim Urwildpferd zu setzen, da hier die Haltung, Fütterung und Nutzung bekannt waren. Sie erkennen in

den Wintermonaten eine höhere Härte und einen geringeren Hornabrieb des Hornes und werten dies als Zeichen für eine bessere Hornqualität.

Einen Unterschied der mechanischen Eigenschaften der verschiedenen Kronhornzonen ist auch bei den häufig in der Literatur zu findenden Angaben über die Zugfestigkeitsprüfung festzustellen. Nach eigener Meinung spiegelt diese jedoch im Vergleich zu den parallel zum Hornröhrchenverlauf durchgeführten Härtemessungen nicht die natürlich auf das Kronhorn einwirkenden Kräfte wider, die überwiegend proximodistal verlaufen, Zugkräfte spielen eine untergeordnete Rolle.

Die Durchführung von Zerreißproben ist jedoch nach der Ansicht von ZENKER (1991), BOHLI et al. (1991) und ALBARANO (1993) besser geeignet, die Qualität des Hornes zu beurteilen als die Härtemessung, da hartes Horn spröde sein kann und häufig eine geringe Zugfestigkeit im Vergleich zu weicherem Horn aufweist. Auch BERTRAM und GOSLINE (1987) ermitteln ebenfalls eine geringe Zugfestigkeit bei sehr trockenem, hartem Horn. Ähnlich wie bei der Härtemessung lassen sich bei dieser Untersuchung in der Außenzone des Kronhorns des Pferdes im Vergleich zu dessen Innenzone deutlich höhere Werte feststellen. Proximodistal verändern sich diese Messwerte nur unwesentlich. Lediglich im Tragrandbereich sinken sie stark ab, wodurch der Hornabrieb erleichtert wird (KÜNG, 1991).

Die abhängig von der Zone des Kronhorns ermittelten unterschiedlichen Härtewerte lassen sich beim Hauspferd ebenso wie beim Urwildpferd (PATAN, 2001) auch bei den Feuchtigkeitsmessungen erkennen. Der ermittelte Feuchtigkeitsgehalt des inneren und äußeren Kronhorns stimmt mit den Befunden von KÜNG (1991) weitgehend überein. Ebenso wie bei LEACH und ZOERB (1983) kann auch bei den analysierten Hornproben eine Abnahme der Feuchtigkeit von innen nach außen festgestellt werden. Nach der Ansicht von SPITZLEI (1996) zeigt beanstandetes Horn geringerer Qualität im Vergleich zu nicht beanstandetem, qualitativ hochwertigem Horn häufig eine niedrigere Härte, die mit einer erhöhten Feuchtigkeit einhergeht.

Besonders im mittleren und äußeren Kronhorn ist eine negative Korrelation zwischen der Härte des Hornes und dessen Feuchtigkeit erkennbar, die besagt, dass eine Zunahme des Wassergehaltes des Hornes mit einer Abnahme der Härte einher geht. Im inneren Kronhorn lässt sich diese deutliche Korrelation dagegen nicht nachweisen. PATAN (2001) ermittelt in allen Bereichen des Kronhorns des Przewalskipferdes eine deutliche Korrelation zwischen beiden Werten. ZENKER

(1991) sowie DOUGLAS et al. (1996) berichten ebenfalls von einer Abhängigkeit der Härte des Horns von dessen Feuchtigkeitsgehalt, beurteilen aber nicht die einzelnen Kronhornzonen. Auch STERN (2000) erkennt bei seinen Untersuchungen an der Klaue von Maststieren eine negative Korrelation dieser beiden Parameter.

f) Hornreifung und -alterung

Nach der Verhornung, also nach dem programmierten Zelltod, finden Veränderungen statt, die als Hornreifung und –alterung bezeichnet werden. Um diese analysieren zu können, wurden Proben entlang des gesamten Zehenrückenteiles licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Weiterhin wurden auch proximodistale Härte- und Feuchtigkeitsmessungen durchgeführt. Während bei den lichtmikroskopischen Untersuchungen keine Unterschiede der Hornproben in Abhängigkeit von ihrem Alter festgestellt werden konnten, sind anhand rasterelektronenmikroskopischer Untersuchungen Aussagen über den Zerfall der Hornröhrchenmarkzellen und aufgrund transmissionselektronenmikroskopischer Untersuchungen solche über Um- und Abbauvorgänge der interzellulären Verbindungen möglich.

Im inneren Kronhorn zerfallen die Hornröhrchenmarkzellen überwiegend im proximalen Bereich des Zehenrückenteiles, hier sind meist leere Markräume sichtbar. Die Markräume der mittleren Kronhornröhrchen sind dagegen in den proximalen und mittleren Anteilen des Zehenrückenteiles gefüllt mit teils intakten, teils rissigen Markzellen, die sich jedoch häufig nur noch randständig anordnen. Kurz oberhalb des Tragrandes findet man auch hier überwiegend leere oder mit Markzellresten angefüllte Hornröhrchenmarkräume. Die äußeren Röhrchen lassen auch auf der Höhe der Hufbeinspitze überwiegend intakte Markzellen erkennen, die den Hornröhrchenmarkraum vollständig ausfüllen. Im Gegensatz hierzu berichtet BUCHER (1987) über einen frühen Zerfall der Markzellen in allen Kronhornzonen, sie beobachtet auch im äußeren Kronhorn überwiegend leere oder mit einer homogenen Grundsubstanz angefüllte Markräume. ANTHAUER (1996) sowie HARNISCH (1996) bemerken den Zerfall der Markzellen überwiegend in den oberen und mittleren Lagen des Kronhorns, allerdings unterscheiden sie nicht dessen verschiedene Bereiche. Entgegen den eigenen Befunden finden LEU (1987) und ZENKER (1991) bei einigen der untersuchten Pferde in der Außenzone des Kronhorns bereits proximal vergrößerte Markräume, die neben dem Zerfall der

Markzellen auch einen Zerfall der innersten Röhrenrindenzellen erkennen lassen. Aus diesem Grund bezeichnen sie die Hornqualität als minderwertig. ROSSKOPF und GEYER (1987) erkennen beim Schaf dagegen vor allem im inneren Kronhorn intakte Markzellen, während die mittleren und äußeren Röhrenmarkräume meist Zelldetritus enthalten. Da die Epidermis auf die Nährstoffversorgung durch Diffusion aus der Lederhaut angewiesen ist, findet bei den suprapapillär gelegenen Markzellen, die sich schneller von der sie versorgenden Dermis entfernen als die Röhrenrinden- und Zwischenröhrenhornzellen eine unvollständige Verhornung statt. Durch die bereits weiter oben beschriebenen intra- und extrazellulären Merkmale der Markzelle sind der Zellzusammenhalt sowie die Stabilität stark beeinträchtigt. Bereits an den oberen Probenentnahmestellen sowie in den distalen Bereichen des äußeren Kronhorns lassen sich in den Zellen Lipid- und Glykogengranula als Zeichen unverbrauchter Energiereserven erkennen. Nach der Ansicht von LEISERING und HARTMANN (1876) findet eine Verfettung des Zelleibes während des Zellzerfalls statt. Der hohe Gehalt der sauren Phosphatase begünstigt das Herausbröckeln der Markzellen (ANTHAUER, 1996). Hohle Röhrenmarkräume beziehungsweise Horn mit einem geringen Gehalt an Interzellularkitt und vielen Erweiterungen im Interzellularspalt sind eine leicht überwindbare Eintrittspforte für Bakterien, die das Horn schädigen können. Weiterhin schädigt eine unzureichende Stallhygiene zuerst die Markzellen. Besonders anfällig für Erkrankungen ist die weiße Linie des Hauspferdes, da Krankheitserreger aufgrund ihrer kurzen Hornröhren schnell die Lederhaut erreichen (BUDRAS und SCHIEL, 1996; BUDRAS et al., 1998). Die weiße Linie des Przewalskipferdes zeigt dagegen eine deutlichere Resistenz gegenüber Krankheitserregern, da sie im Vergleich zu der der Hauspferde schmaler ist und weniger weiche Terminalhornröhren besitzt, die zusätzlich meist mit Markzellen gefüllt sind. Ob auch die inneren und mittleren Röhren des Kronhorns einen späteren Markzellzerfall aufweisen als die des Hauspferdes, muss noch in nachfolgenden Untersuchungen abgeklärt werden.

Auch bei den Härte- und Feuchtigkeitsmessungen lässt sich eine Abhängigkeit der Werte vom Hornalter feststellen. Entlang des proximodistalen Verlaufes des Zehenrückenteiles des Kronhorns ist bei den eigenen Untersuchungen ebenso wie bei denen von LANDEAU et al. (1983) und BERTRAM und GOSLINE (1987) eine Abnahme der Feuchtigkeit und eine Zunahme der Härte in allen Segmenten zu

verzeichnen. Lediglich kurz oberhalb des Tragrandes ist bei vielen Hufen durch die Einwirkung von vermutlich Harn und Nässe aus der Umgebung wieder eine Zunahme des Feuchtigkeitsgehaltes des Hornes festzustellen. In diesem Bereich sinkt bei fast allen Hufen die Hornhärte etwas ab, was aber nicht nur mit der Zunahme der Feuchtigkeit erklärbar ist, sondern mit einer Folge des Alterungsprozesses des Hornes, wodurch der Hornabrieb erleichtert wird. Eine Abhängigkeit der Hornhärte von dessen Alter erkennen auch LANDEAU et al. (1983) sowie STERN (2000). Der Anstieg der Härte findet nach den Angaben von PATAN (2001) überwiegend im oberen Drittel der Hufkapsel statt.

Ein marginales Band ist ebenso wie bei den Befunden von FROHNES (1999) auch noch in den gereiften Hornzellen erkennbar. LEACH (1993) beobachtet es dagegen nur in den ersten Hornzelllagen des Stratum corneum. Kurz oberhalb des Tragrandes ist es jedoch nur noch selten nachzuweisen. Im Rahmen der Hornzellreifung und –alterung ist also ein zunehmender Verlust dieser Struktur zu verzeichnen, der mit dem Verlust der Barrierefunktion gegen Proteinasen (MATOLTSY, 1976) einhergeht. Auch in den obersten Lagen des Stratum corneum des menschlichen Fingernagels enthalten die gealterten Hornzellen teilweise kein marginales Band mehr, ihre Plasmamembran ist jedoch noch ebenso dick wie im Stratum germinativum (HASHIMOTO, 1969).

Abschließend lässt sich anhand der durchgeführten Untersuchungen feststellen, dass das Kronhorn eine sehr gute Hornqualität zur Erfüllung seiner Funktion als Schutzschicht besitzt. Es sind deutliche Unterschiede der Struktur und mechanischen Eigenschaften in dessen verschiedenen Bereichen erkennbar, die eine Abhängigkeit von der Jahreszeit der Hornproduktion und somit von der Bildungsrate des Hornes aufweisen. Die Qualität des Hornes ist an die im jeweiligen Hufbereich notwendige Funktion angepasst. Im Vergleich zum Przewalskipferd sind die jahreszeitlichen Unterschiede allerdings nicht so deutlich ausgeprägt, wodurch sich die Frage ergibt, ob dies auf Domestikationserscheinungen des Hauspferdes beruht oder ob Hauspferde, die unter ähnlichen Bedingungen wie Urwildpferde gehalten werden, ebensolche deutlichen jahreszeitlichen Unterschiede der Hornqualität erkennen lassen. Wird ein Vergleich der Hornqualität durchgeführt, ist das Alter des Hornes ebenso zu berücksichtigen wie dessen Bildungszeitpunkt. Auch

genetische Faktoren oder zufällige Einflüsse wie lokale Entzündungen oder mechanische Insulte, die die Hornqualität verschlechtern, müssen beachtet werden. Das innere Kronhorn ist aufgrund seiner Struktur, seiner histochemischen Eigenschaften, seiner Härte und seines Feuchtigkeitsgehaltes als elastisches Horn einzustufen, das in direkter Verbindung zum Wandhorn die schräg eintreffenden Zugkräfte des Hufbeinträgers, die beim Fuß des Pferdes entstehen, aufnehmen und abgeschwächt an das mittlere und äußere Kronhorn abgeben muss. Diese sind durch ihre oben diskutierten Eigenschaften besser geeignet, laterale Kräfte von der äußeren Oberfläche aufzunehmen und die unterliegenden Strukturen zu schützen. Sie besitzen eine hohe Härte und keine oder nur eine sehr geringe Elastizität. Da die Hornröhrchen des äußeren Kronhorns bis kurz oberhalb des Tragrandes vollständig mit Markzellen beziehungsweise deren Resten gefüllt sind, ist ein Vordringen von Krankheitserregern aus der Umgebung bis zum Hornbildungsareal beziehungsweise zur Zöttchenlederhaut des Kronsegmentes nahezu ausgeschlossen.

Horn, das während der Wintermonate gebildet wurde, hat im Vergleich zu Horn, das in den Sommermonaten gebildet wurde, eine bessere Qualität, da die Markraumfläche kleiner ist sowie wesentlich weniger großblasige Erweiterungen im Interzellularspalt erkannt werden können. Diese strukturellen Faktoren verbessern den Zellzusammenhalt und mindern das Risiko einer bakteriellen Besiedlung.