

## **B LITERATURÜBERSICHT**

Die anschließende Literaturübersicht gibt einen kurzen Überblick über die Spezies Truthuhn und deren Haltung, der eine Zusammenfassung des Kenntnisstandes zum allgemeinen Aufbau der Vogelhaut sowie deren Verhornungsprozesse folgt. Da die meisten der bisher durchgeführten strukturellen Studien an der befiederten Haut des Huhnes vorgenommen wurden, ist über die unbefiederten Hautareale im Allgemeinen und die verschiedenen Schuppentypen der Beine im Speziellen nur sehr wenig bekannt. Daher sollen diese mit besonderer Berücksichtigung der reticulate scales der Pute nun zusammengestellt werden.

### **1 Allgemeine Informationen zu Puten resp. Truthühnern**

#### **1.1 Zoologische Systematik**

Die Unterfamilie Meleagridinae (Truthühner) gehört zur Familie der Phasianidae (Fasanenartige), Unterordnung Galli (eigentliche Hühnervögel), die zur Ordnung der Galliformes (Hühnervögel) zählt und in die Klasse der Aves (Vögel) eingeordnet wird. Die Klasse der Vögel und Reptilien wird systematisch unter dem Begriff der Sauropsiden (Eidechsenähnliche) zusammengefasst, da beide entwicklungsgeschichtliche, morphologische und embryologische Gemeinsamkeiten aufweisen (WIESNER & RIBBECK, 1991). Vögel und Säugetiere haben sich jedoch zu verschiedenen Zeiten aus dem Reptilstamm entwickelt und zählen zur großen Gruppe der Amnioten, da sie im Gegensatz zu Amphibien und Fischen (Anamnier) Embryonalhüllen ausbilden. Die Verwandtschaft der Vögel mit den Reptilien zeigt sich unter anderem durch ein primäres Kiefergelenk sowie dotterreiche Eier. Auch die Vogelfedern, die Hornschuppen an den Beinen sowie der Sporn können als Abkömmlinge von Reptilienschuppen angesehen werden (STARCK, 1975). Bei den meisten Vogelarten sind Körperbau und Metabolismus auf die fliegende Art der Fortbewegung sowie die Gewichtseinsparung und Ökonomisierung des Stoffwechsels ausgerichtet. Dabei dient das Federkleid neben der Vermittlung des Flugvermögens auch der Wärmeregulation, die für Vögel sehr wichtig ist, da es sich um homoiotherme (warmblütige) Lebewesen handelt, die eine hohe Körpertemperatur (41-42°C) und eine hohe Stoffwechselaktivität aufweisen (VOLLMERHAUS, 1992).

#### **1.2 Abstammung und Herkunft**

Das Wildtruthuhn gehörte zu den einheimischen Vögeln Nord- und Mittelamerikas, und wurde bereits in der Zeit um 400 vor Christus durch die indianischen Ureinwohner domestiziert. Neben dem Hund war die Pute das einzige Haustier indianischer Kulturen und diente als Opfer- und Schlachttier. Am Ende des 15. Jahrhunderts, bald nach der Entdeckung Amerikas durch die Spanier, gelangten die ersten zahmen Tiere dieses

prunkvoll befiederten Hausgeflügels nach Europa. Da die spanischen Seefahrer glaubten, in Westindien angelangt zu sein, wurden die Truthühner „Indische Hühner“ genannt. Aufgrund des zarten und wohlschmeckenden Fleisches breitete sich ihre Haltung binnen kurzer Zeit von Spanien über Europa aus. Um 1524 kamen die ersten Tiere nach England und sechs Jahre später nach Deutschland und Frankreich<sup>1</sup>. Die eigentliche Herkunft dieses Geflügels geriet jedoch in Vergessenheit. So kam es, dass die Engländer die Pute als „turkey“ (Türke) bezeichneten, während die europäischen Naturforscher das Truthuhn mit dem „meleagris“, dem Perlhuhn der antiken Schriftsteller, verwechselten. Dies schlug sich später im wissenschaftlichen Namen „Meleagris gallopavo“ nieder (BENECKE, 1954). Die Bezeichnung „Pute“ stammt wahrscheinlich aus dem Niederländischen und stellt eine lautmalerische Nachahmung des Rufes der Vögel dar. Jünger ist die Benennung als „Truthuhn“, die sich vom mittelniederdeutschen „droten“ (drohen) ableitet und auf das typische Imponiergehabe der Tiere verweist<sup>2</sup>.

In England entstanden durch Züchtung und Selektion des mexikanischen Truthuhns schwarze und später weiße Rassen. Sie wurden durch englische Auswanderer an die Ostküste Neuenglands, in die Narragansett Bay in Rhode Island, USA gebracht. Dort entwickelten sich zwischen 1830 und 1840, durch die Kreuzung von schwarzen englischen Puten mit den Wildputen aus den USA, die Narragansett Puten. In England erhielt man 1928 durch weitere Kreuzungen dieser Truthühner mit Wildputen die Bronze-Puten (Sheffield-Puten). Der Engländer Jessie Throssel brachte diese Tiere nach Aldergrove in British Columbia (fünf Meilen nördlich der amerikanischen Grenze) und stellte Mitte der 1930iger Jahre in Portland auf der International Livestock Show in Washington, seine schweren, fleischigen Sheffield-Puten aus. Damals erreichten die männlichen Tiere mit neun Monaten das beachtliche Gewicht von 18 kg und die weiblichen von etwa 12,7 kg (KELLY, 1982). Einige Züchter kreuzten diese Hähne mit ihren Hennen und selektierten die Nachkommen mit Erfolg auf steigenden Fleischansatz. Diese Truthühner wurden 1938 standardisiert und erhielten den Namen Broad-Breasted-Bronze (breitbrüstige Bronzeputen mit erhöhtem Fleischansatz an Brust- und Schenkelmuskulatur). Sie wurden die Vorfahren aller modernen und wirtschaftlich genutzten Putenstämme. Durch weitere Zucht und Selektion entstanden 1950 Putenstämme mit weißem Federkleid. Nachdem die weißbefiederten Puten höhere Zunahmen aufwiesen als die Broad-Breasted-Bronze-Puten, verbreitete sich die Haltung dieser Tiere in den 1960er Jahren sehr schnell (HAFEZ & JODAS, 1997). In den späten 1970er Jahren wurde die auch in diesem Projekt untersuchte fleischbetonte Zuchtlinie der BUT Big 6 eingeführt, die es ermöglichte, in kürzerer Mastzeit das erwartete Schlachtendgewicht zu erreichen (BRITISH UNITED TURKEYS LIMITED, 2001).

---

<sup>1</sup>[www.bbs-saalkreis.de](http://www.bbs-saalkreis.de)

<sup>2</sup>[www.bernard-mattnews.de](http://www.bernard-mattnews.de)

### 1.3 Biologische Merkmale von *Meleagris gallopavo* spp.

Das Truthuhn ist der schwerste der Hühnervögel. Die männlichen Tiere erreichen rasseabhängig ein Gewicht von 11-22 kg, während die Weibchen mit 7-11 kg kleiner und leichter sind. Wildputen rangieren mit ihrem Körpergewicht am unteren Ende der angegebenen Daten und sind somit fast halb so schwer wie ihre züchterisch vor allem auf Gewichtszunahme selektierten Verwandten. Die wilden Truthühner leben in lichten Wäldern und sind ausgesprochen laufaktive Bodenvögel, die sich nur selten fliegend bzw. gleitend fortbewegen<sup>3</sup>. Nachts werden die Kronen spezieller Schlafbäume aufgesucht (BMVEL, 2002). Die Tendenz zum „Aufbaumen“ ist auch bei den schweren Mastputen noch vorhanden (KRAUTWALD-JUNGHANNS, 2003). Die aufgeweckten und neugierigen Tiere verbringen den Großteil des Tages mit dem Erkunden der Umgebung, der pickenden Futtersuche und der Verdauung. Puten bilden, wie alle Hühnervögel, soziale Verbände, wobei die Tiere außerhalb der Balzzeit in getrenntgeschlechtlichen Gruppen leben. Hennen und Küken schließen sich zu großen Brutherden zusammen, in deren Schutz die Küken 6-7 Monate in der Obhut des weiblichen Elterntieres verbleiben. Solange ihnen die Möglichkeit geboten wird, behalten Hausputen viele Aspekte des Verhaltens ihrer wilden Artgenossen bei, wobei domestizierte Tiere, im Gegensatz zu den Wildputen, weniger aktiv sind (BMVEL, 2002). Einigen schweren Putenzuchtlinien fällt es aufgrund des höheren Gewichtes und der veränderten Körperform schwer, manche natürlichen Verhaltensweisen wie Fliegen, Fortbewegung, Gefiederpflege, Paarung und das Aufbaumen uneingeschränkt auszuüben (BMVEL, 2002; ELLERBROCK, 2000).

Der ausgeprägte Geschlechtsdimorphismus der Puten zeigt sich vor allem im äußeren Habitus der Tiere. Der rot-blau gefärbte Kopf und Hals der Truthühner ist unbefiedert und dicht besetzt mit roten Fleischwarzen (*Carunculae cutaneae*), die am Halsansatz ihre größte Ausdehnung erreichen. Über dem Schnabel am Stirnansatz befindet sich bei beiden Geschlechtern ein fleischiger Stirnzapfen (*Processus frontalis*), der beim Weibchen sehr kurz ist. Der *Processus frontalis* ist schon an Eintagsküken als kleiner Stirnzapfen erkennbar. Bei Aufregung und in der Balz verlängert er sich beim Männchen durch einfließendes Blut handbreit und hängt dann seitlich am Schnabel herab. Bei Erregung sträuben die selbstbewussten Tiere ihr Gefieder, spreizen die Flügel und stolzieren hin und her. Der Hahn richtet die Schwanzfedern zu einem Rad auf und gibt ein lautes, unvermittelt einsetzendes Zischen und Kollern von sich. Das Männchen besitzt, im Gegensatz zum Weibchen, an der Brust ein Büschel „rosshaarähnlicher“ langer grober Borsten (*Barba cervicalis*), das auch bei älteren Hennen auftreten kann (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). Im Frühjahr legen Wildputen 8-15 Eier, die 28 Tage lang bebrütet werden (BMVEL, 2002). Demgegenüber wurde die Legeleistung domestizierter Zuchthennen enorm gesteigert.

---

<sup>3</sup>[www.vier-pfoten.de](http://www.vier-pfoten.de)

Während einer Legeperiode von rund 22 Wochen<sup>4</sup>, die durch ein spezielles Lichtprogramm induziert wird, produziert eine Putenlegehenne 100-120 Eier. Die Bruteier sind cremefarben mit braunen, unregelmäßigen kleinen Flecken (SAMBRAUS, 1986; SCHOLTYSSEK & DOLL, 1978). Da die schweren Truthuhnrasen einerseits zur natürlichen Paarung nur noch eingeschränkt fähig sind (BMVEL, 2002) und um andererseits eine möglichst hohe Befruchtungsrate zu erreichen, werden die weiblichen Tiere meist künstlich besamt (BRITISH UNITED TURKEYS LIMITED, 2001). Die Unterscheidung der Puten wird nach Gewichtsklassen und aufgrund der Gefiederfärbung vorgenommen. Im Gegensatz zu den reinrassigen Zuchtputen handelt es sich bei den Masttieren um Hybridkreuzungen, deren Selektionsschwerpunkt vor allem auf dem Fleischertrag liegt (HAFEZ & JODAS, 1997).

#### **1.4 Intensivhaltung von Puten**

Da sich bei Truthühnern männliche und weibliche Tiere schon ab der achten Lebenswoche deutlich in Gewicht und Größe unterscheiden, findet die Mast oft getrenntgeschlechtlich statt (PAYER, 2001). Die Putenhaltung erfolgt in Deutschland fast immer in Offenställen (Gardinenställen) mit freier Lüftung. In den ersten vier bis sieben Lebenstagen werden die Jungtiere in speziellen Kükenringen untergebracht. Danach steht den Puten die gesamte Stallfläche zur Verfügung. Die Mast von Truthühnern findet in Bodenhaltung auf Tiefstreu statt. Als Einstreumaterial kommt überwiegend eine Kombination aus unbehandelten Weichholzspänen und Stroh zum Einsatz. Nur zwischen den Mastdurchgängen wird die Einstreu komplett ausgetauscht, und die Ställe werden gesäubert sowie desinfiziert. Die Stallungen verfügen über Heiz- und Belüftungsvorrichtungen, die es erlauben, auf die speziellen Bedürfnisse der Tiere oder auf veränderte Witterungsverhältnisse einzugehen. Die Futter- und Tränkeeinrichtungen sind mobil und ermöglichen deren Entfernung aus dem Arbeitsbereich, so dass dieser sehr einfach und effektiv geleert werden kann (HAFEZ & JODAS, 1997; PAYER, 2001).

Die Mastzeiten und die Futterzusammensetzung männlicher und weiblicher Puten unterscheiden sich. Hähne werden in der sogenannten Langmast bis zur 24. Lebenswoche gehalten, sie erreichen dann ein Lebendgewicht von bis zu 23,96 kg (schwere Mastputen). Hennen werden nur bis zur 20. Woche gemästet, bis zu einem Gewicht von etwa 12,85 kg (INFORMATIONEN ZUR PUTENMAST 2002/2003). Das in Deutschland erzeugte Putenfleisch wird größtenteils frisch vermarktet<sup>5</sup>.

---

<sup>4</sup> und <sup>5</sup>[www.deutsche-puten.de](http://www.deutsche-puten.de)

## 2 Die Haut der Vögel

### 2.1 Der allgemeine Aufbau der Vogelhaut

Die Haut (*Integumentum commune*) bedeckt die äußere Körperoberfläche und bildet die Grenz- und Kontaktschicht zwischen Körper und Umwelt. Sie dient einerseits dem Schutz des Organismus vor äußeren, schädlichen Einflüssen, andererseits ermöglicht sie die Interaktion des Körpers und seiner Umgebung. Im Allgemeinen ist die Haut von Vögeln, mit Ausnahme der Akren, von einem Federkleid bedeckt. Wie bei den Säugetieren setzt sich die Vogelhaut aus drei Schichten zusammen (KÖNIG et al., 2001): Der Subkutis (Unterhaut), der Dermis (gefäßführende Lederhaut) und der Epidermis (Oberhaut).

Die Subcutis (*Tela subcutanea*) dient als Verschiebeschicht der Haut und des Federkleides. Sie liegt zwischen Skelettmuskulatur und Dermis und wird begrenzt durch die oberflächliche und tiefe Fascie (*Fascia superficialis et profunda*). Bei vielen Vogelarten dient die oberflächliche Fascie als Fettdepot (SPEARMAN, 1982; SPEARMAN & HARDY, 1985). An einigen Körperstellen, die besonderer mechanischer Belastung ausgesetzt sind, wie z. B. den Fuß- und Zehenballen, kommen unabhängig vom Ernährungszustand spezielle Fettkörper (*Corpora adiposa*) vor (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). Nahe der Grenze zur Dermis verlaufen quergestreifte „unechte“ Hautmuskeln (*Mm. subcutanei*) in der Subcutis. Sie entspringen entweder direkt am Skelett oder sind Ausläufer der Skelettmuskulatur (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992).

Die gefäßführende Lederhaut (Dermis) besteht beim Vogel aus einem locker gefügten *Stratum superficiale* und dem darunterliegenden *Stratum profundum* (SPEARMAN & HARDY, 1985; VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992; KÖNIG et al. 2001). Das *Stratum superficiale* zeigt an den Zehenballen und am Schnabel einen deutlichen Papillarkörper. Allgemein bildet die oberflächliche Dermissschicht Leisten und Falten, die sich zur darüberliegenden Epidermis kongruent verhalten (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). Sie dienen einerseits der Verbindung zwischen Dermis und Epidermis und andererseits, durch die Oberflächenvergrößerung, dem besseren Stoffaustausch der beiden Hautschichten. Das *Stratum profundum* gliedert sich in ein *Stratum compactum* und ein *Stratum laxum*. Das *Stratum compactum* setzt sich aus fest durchflochtenen Bindegewebsfasern zusammen, die im Gegensatz zu den entsprechenden Verhältnissen bei Säugetieren vor allem horizontal ausgerichtet sind (MATOLTSY, 1969). Im tieferen *Stratum laxum* sind die Bindegewebsfasern lockerer angeordnet. Hier finden sich abgesehen von „echten“, glattmuskulären Haut- oder Federmuskeln (*Mm. apteriales et pennaes*) vereinzelt Fettzellen und größere Blut- sowie Lymphgefäße (MEHNER & HARTFIELD, 1983; SPEARMAN, 1982; SPEARMAN & HARDY, 1985; VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). In der Lederhaut bilden Arterien und Venen große Kapillarnetze, die bis nahe unter die Epidermis reichen, diese aber nicht penetrieren. Durch die semipermeable Basalmembran (*Mebrana basalis*)

wird die Dermis mit der darüberliegenden Epidermis mechanisch verankert. Sie dient darüber hinaus dem ausschließlich durch Diffusion erfolgenden Stoffaustausch zwischen gefäßführender Lederhaut und gefäßloser Oberhaut (LIEBICH, 1990; SPEARMAN, 1971).

Die Oberhaut (Epidermis) setzt sich in den befiederten Hautarealen nur aus wenigen Zellschichten und einer dünnen Hornschicht zusammen (SPEARMAN & HARDY, 1985; WÄSE, 1999). An den unbefiederten Körperteilen und besonders an den Zehenballen ist die Oberhaut dagegen dick und stark verhornt (CANE & SPEARMAN, 1967; SCHOLTYSSSEK & DOLL, 1978; WÄSE, 1999). Die Epidermis von Säugern und Vögeln besteht aus einem mehrschichtigen, verhornenden Plattenepithel (BUCHER & WARTENBERG, 1989). Freie Enden der Hautnerven befinden sich sowohl in der Dermis als auch in der Epidermis, wo sie zwischen den Basalzellen der Oberhaut hindurchtreten (SPEARMAN & HARDY, 1985). Darüber hinaus besitzen Vögel keine Schweißdrüsen (KÖNIG et al., 2001; McEWAN JENKINSON & BLACKBURN, 1968) und nur in bestimmten Körperregionen kommen komplexe Talgdrüsen vor (KÖNIG et al., 2001; LUCAS & STETTENHEIM, 1972; STARCK, 1982; VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992).

## **2.2 Spezielle Hautmodifikationen der Vögel**

Als für Vögel wohl typischste Hautmodifikation sind die Federn anzusehen, die nach morphologischen Kriterien Abkömmlinge von Reptilienschuppen sind. Nach BRUSH (1996) unterscheiden sich Vogelfedern jedoch in ihrer ontogenetischen Entwicklung, Morphogenese, Genstruktur, Proteingehalt und -sequenz, Filamentbildung und -struktur von Reptilienschuppen.

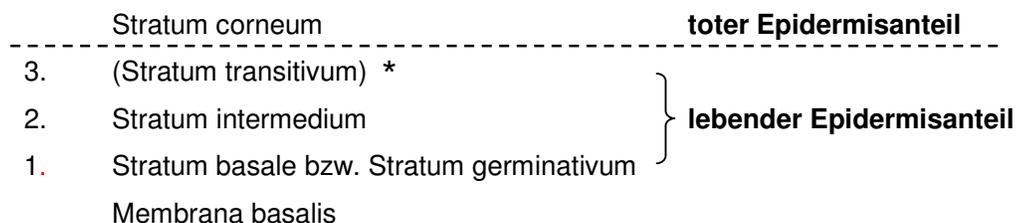
Die Schuppen am Tarsometatarsus und den Zehen von Vögeln sind den Reptilien- und Säugetierschuppen (z. B. am Rattenschwanz) homolog und dienen dem Schutz der Läufe und Zehen (LUCAS & STETTENHEIM, 1972). Es handelt sich um verschieden große und unterschiedlich geformte, verhornte Gebilde, die sich aus Epidermis und Dermis zusammensetzen (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). Bei den meisten Vögeln ist die Haut des Metatarsus schuppenartig modifiziert, es gibt aber auch Spezies, bei denen nur Federn ohne Schuppen oder Schuppen mit penetrierenden Federn zu finden sind (LUCAS & STETTENHEIM, 1972). Die nahe Verwandtschaft zwischen Federn und Schuppen konnte anhand von Experimenten nachgewiesen werden, bei denen der Mangel bestimmter Proteine, die Gabe von Retinolsäure oder die massive Bildung von beta catenin (zelluläres Onkogen) dazu führte, dass sich Hornschuppen zu Federn oder federartigen Gebilden entwickelten (CHUONG, 2001; FISHER et al., 1988; HONGYAN & NISWANDER, 1996).

Nach LUCAS und STETTENHEIM (1972) lassen sich verschiedene Schuppentypen unterscheiden, die, je nach Spezies, unterschiedlich angeordnet sein können. Die Hornschuppen am Putenfuß weisen die gleiche Zahl und Anordnung auf wie beim Huhn,

sind aber größer. Die Quertafeln (lat. scuta, engl. scutate scales) findet man auf der Dorsal-seite des Tarsometatarsus und der Zehen. Im Gegensatz zu Hühnern sind bei Puten die scutate scales auf der Oberseite des Tarsometatarsus durch Längsspaltung mehrreihig. Es handelt sich um große, rechteckige Schuppen aus hartem Horn, die eine starke Armierung des Beines bilden. Sie liegen schindelartig übereinander, wobei die proximal gelegene Schuppe die distal folgende überlagert. Das Ineinandergreifen der Schuppen erlaubt, trotz starrer Hornschilde, eine maximale Flexion des Fußes. Durch die Überlappung lässt sich eine äußere und innere Schuppenoberfläche unterscheiden, die durch eine Scharnierregion (engl. hinge) aus weichem Horn verbunden sind. Bei den Schildchen (lat. scutella, engl. medium size scutella) handelt es sich um mittelgroße, oft sechseckige Gebilde, die am Tarsometatarsus zu beobachten sind. Wie die scutate scales ist dieser Schuppentyp überlappend angeordnet, jedoch in gegensätzlicher Richtung. Bei den interstitiellen Schildchen (engl. interstitial scales) handelt es sich um kleine, den reticulate scales ähnliche, nicht überlappende Schuppchen, die vielgestaltig medial und lateral am Tarsometatarsus vorkommen. Die körnerartigen Schildchen (lat. reticulae, engl. reticulate scales), die im Folgenden untersucht werden, sind kleine, warzenartige, symmetrisch gestaltete, nicht überlappende Schuppen, die plantar und seitlich der Zehen auf der Ober- und Unterseite der Schwimmhäute sowie auf dem Metatarsalballen zu finden sind. Im Bereich der reticulate scales bildet die Dermis einen starken Papillarkörper aus, mit dem die Epidermis fest verankert ist. An der Basis des Metatarsalballens sind die Schuppen klein und konisch, während sie sich zur Ballenkuppe hin vergrößern und zu pilzförmigen Gebilden werden, die sich ausgehend von der Oberfläche nach außen neigen und dadurch lose über benachbarten reticulate scales liegen. BOETTICHER (1929) geht davon aus, dass die reticulate scales die entwicklungsgeschichtlich älteste Form der Vogelschuppen darstellen. Neben der Schuppenarmierung dienen auch die Ballen (Pulvini) dem Schutz des Fußes. Sie unterlagern und polstern die Zehengelenke kissenartig. Während an den verschiedenen Zehen die Digitalballen (Pulvini digitales) in unterschiedlicher Zahl auftreten, werden das distale Ende des Tarsometatarsalknochens und die Zehengrundgelenke durch einen Sohlenballen (Pulvinus metatarsalis) geschützt. Der Ballen setzt sich im Allgemeinen aus elastischen Fasern, derbem Bindegewebe und einem Polster aus inkompressiblen Fettzellen zusammen. Der Metatarsalballen (Sohlenballen) besteht sogar aus drei verschiedenen großen Fettgewebkörpern (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992). Wahrscheinlich ist der hohe Fettgehalt der Hornschicht der Epidermis und insbesondere der Ballen dafür verantwortlich, dass das Gewebe weich, nachgiebig und elastisch unter der Schrittbelastung reagieren kann (SPEARMAN & HARDY, 1985). Sie ermöglichen dem Tier eine sichere Fußung auf einem unterschiedlich beschaffenen Untergrund und schützen gleichzeitig die darunterliegenden Strukturen.

### 2.3 Die spezielle Struktur der prä- und postnatalen Vogelepidermis

Beim Vogelembryo differenziert sich die Epidermis aus einer einzigen ectodermalen Zellschicht. Diese teilt sich in eine tiefe Schicht kubischer Zellen und eine oberflächliche Zellschicht, die Periderm oder Epitrichium genannt wird. Während der pränatalen Entwicklung des Kükens im Ei dient das Periderm als Schutzschicht. Einige Tage vor dem Schlupf sterben die peridermalen Zellen ab, verhornen und werden größtenteils abgeschilfert. Die basale Zellschicht zeigt währenddessen lebhafte Mitoseaktivität (Keimschicht, Stratum germinativum), so dass zum Schlupfzeitpunkt die Epidermis mehrschichtig ist (STETTENHEIM, 1972; STARCK, 1975). Nach WRENCH et al. (1980) setzt sich die Vogelepidermis aus Sebokeratinozyten zusammen, die dadurch gekennzeichnet sind, dass sie sowohl Keratin als auch Fett synthetisieren. Dieser Zelltyp nimmt eine Zwischenstellung zwischen den Keratinozyten der Säugetiere und den aus Sebozyten bestehenden Talgdrüsen ein. Die Sebokeratinozyten und ihr Verhornungsprozess scheinen das Fehlen von Schweiß- und Talgdrüsen in der Vogelhaut zu kompensieren. Je nach Körperregion kann die Dicke der adulten Vogelhaut stark variieren (MATOLTSY, 1969). Aufgrund der unterschiedlichen Struktur ist bei Vögeln eine Differenzierung zwischen befiederten und unbefiederten Hautabschnitten möglich. Generell lässt sich die Oberhaut jedoch in zwei Abschnitte unterteilen: Der lebende Anteil setzt sich aus den stoffwechselaktiven Schichten des Stratum basale, intermedium und transitivum zusammen. Der tote Anteil besteht aus den verhornten Zellen des Stratum corneum (LUCAS & STETTENHEIM, 1972). Im Gegensatz zu älteren Veröffentlichungen (LUCAS & STETTENHEIM, 1972; SAWYER et al., 1982), in denen alle lebenden Schichten unter dem Begriff Stratum germinativum zusammengefasst werden, benutzt WÄSE (1999) diese Bezeichnung präziserweise ausschließlich für das Stratum basale, da nur die Basalzellen mitotisch aktiv sind. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird die von WÄSE (1999) vorgeschlagene Einteilung der Vogelepidermis verwendet.



\* Im Gegensatz zu LUCAS und STETTENHEIM (1972) unterscheiden SAWYER et al. 1982 nur zwischen Stratum basale und Stratum intermedium.

**Textabbildung 1:** Darstellung der verschiedenen Anteile und Schichten der Vogelepidermis

Der lebende Epidermisanteil setzt sich aus zwei bis drei verschiedenen Zelldifferenzierungsstufen zusammen. Angrenzend an die Dermis findet sich das Stratum basale, eine einschichtige Zellschicht aus hochprismatischen Zellen. Das Stratum basale gleicht die durch Desquamation an der Hautoberfläche entstandenen Zellverluste durch lebenslange Zellteilung und das Nachschieben neuer Sebokeratinozyten aus. Die Basalzellen sitzen der semipermeablen Basalmembran (Membrana basalis) auf (SPEARMAN & HARDY, 1985; WÄSE, 1999). Während Basalzellen und Basallamina über viele Hemidesmosomen in Kontakt stehen, wird die Verbindung zur Dermis durch Ankerfilamente vermittelt (MATOLTSY, 1969). Die Basalzellen besitzen einen großen ovoiden Kern und einen geringen Zytoplasmaanteil. Der Kontakt zwischen den Nachbarzellen wird über zahlreiche Desmosomen vermittelt. Die Zellorganellen der Basalzellen bestehen aus großen Feldern des endoplasmatischen Retikulums (ER) sowie vielen freien oder an die Membranen des rauen endoplasmatischen Retikulums gebundenen Ribosomen. Mitochondrien, die Energielieferanten der Zelle, kommen in moderater Zahl sowie unterschiedlicher Form und Größe vor. Sie sind an ihren locker angeordneten, inneren Leisten und ihrer feingranulären Matrix erkennbar. Falls Fetttropfen in Erscheinung treten, sind sie klein und nur in geringer Menge vorhanden. Das Zytoskelett ist zu diesem frühen Zeitpunkt der Differenzierung noch nicht sehr prominent. Einzelne Keratinfilamente liegen verstreut im Zytoplasma, während sich die spärlich auftretenden Keratinfilamentbündel vor allem in der Nähe von Desmosomen nachweisen lassen (MATOLTSY, 1969; MENON et al., 1996; WÄSE, 1999). Es schließt sich das mehrschichtige Stratum intermedium (Zwischenschicht) an, das dem Stratum spinosum (Stachelzellschicht) der Säuger äquivalent ist. Während die Zellen zur Hautoberfläche geschoben werden, verbreitern sie sich und flachen stark ab (MATOLTSY, 1969). Die Zellmembranen strecken sich, zeigen jedoch noch viele desmosomale Verbindungen (MENON et al., 1996). Im Zuge der Zelldifferenzierung kommt es zu einer Verdichtung der Keratinfilamentbündel, und die Neutrallipidsynthese nimmt zu, während andere Zellorganellen enzymatisch abgebaut werden (MENON et al., 1986a; WÄSE, 1999; WRENCH et al., 1980). Multigranular bodies (MGBs, siehe Kapitel 3.5), enzymhaltige Zellorganellen, aus denen sich zumeist intrazelluläre neutralfetthaltige Lipidvakuolen entwickeln, können nun zweifelsfrei nachgewiesen werden (ELIAS et al., 1988; MATOLTSY, 1969; WÄSE, 1999). Im Gegensatz zu SAWYER et al. (1982) werden von anderen Untersuchern – zur Hautoberfläche hin – stark abgeflachte, spindelförmige Zellen beschrieben. Durch ihren hohen Gehalt an eingeschlossenem Fett besitzen sie eine spongiöse Erscheinungsform, während ihre Zellperipherie Verhornungserscheinungen aufweist (LUCAS & STETTENHEIM, 1972; MENON et al., 1996; WÄSE, 1999). Am Rand dieser Zellen lagern sich breite Keratinmassen ab, und das stark elektronendichte marginale Band (cornified cell envelope, CCE; cornified envelope) ist an der Innenseite der Zellmembran nachweisbar (WÄSE, 1999). Diese

sogenannten Übergangszellen zwischen toter und lebender Epidermis bilden das Stratum transitivum, das als Charakteristikum der Vogelhaut angesehen wird (LUCAS & STETTENHEIM, 1972). Oberhalb des lebenden Epidermisanteils setzt der programmierte Zelltod sehr plötzlich ein, und es bildet sich das Stratum corneum (SPEARMAN & HARDY, 1985; WÄSE, 1999). Das Stratum corneum wird durch dünne Hornlamellen gebildet, die aus extrem flachen, kernlosen, eosinophilen Hornzellen bestehen. Die Lamellen sind vor allem an ihren lateralen Enden verbunden, während die desmosomalen Verbindungen der flachen Zelloberflächen weitestgehend unterbrochen sind (SPEARMAN, 1971). In den jungen Hornzellen sind noch größere Fettansammlungen und membranöse lamelläre Strukturen aus zerfallenden multigranular bodies (MGBs) zu beobachten, die den älteren Hornzellen fehlen (PLATT 2004; WÄSE, 1999). Die Zellen des Stratum corneum enthalten vor allem elektronendichtes Keratin und keratingebundene Substanzen. Der Großteil der ursprünglich funktionellen Zellkomponenten hat sich zu diesem Zeitpunkt in lösliche Substanzen wie Aminosäuren, Nukleotide und freie Fette verwandelt (SPEARMAN, 1966).

### **3 Keratinisierung und Verhornung von Epithelien**

#### **3.1 Verhornungstypen: harte und weiche Verhornung**

Wie bei den Säugetieren kann bei Vögeln je nach Verhornungstyp der Epidermis zwischen weicher und harter Verhornung differenziert werden. Neben histochemischen Unterscheidungsmerkmalen ist das Hauptkriterium für das Vorliegen einer weichen Verhornung an das Vorhandensein eines Stratum granulosum gebunden (BUDRAS et al., 1996; BUDRAS & SEIDEL, 1992; GIROUD & LEBLOND, 1951; LARSSON et al., 1956). Beim Säugetier verdankt das Stratum granulosum seinen Namen den zahlreichen, großen, basophilen, keratinfilamentassoziierten Keratohyalin granula, die dieser Zellschicht ihr spezifisches lichtmikroskopisches Erscheinungsbild verleihen. Zur Epidermisoberfläche hin steigt ihre Zahl und Größe stark an, während andere Zellorganellen untergehen (KÜNZEL, 1990; ODLAND & REED, 1967). Im Stratum corneum sind dagegen keine Keratohyalin granula mehr nachweisbar (HORSTMANN & KNOOP, 1958; WARD & LUNDGREN, 1954). Im Gegensatz zum Säugetier sind die Keratohyalin granula der Vogelhaut viel kleiner und nur unter dem Elektronenmikroskop deutlich sichtbar (LUCAS & STETTENHEIM, 1972; MATOLTSY, 1969). Auch bei Vögeln nimmt ihre Zahl mit dem Ausdifferenzierungsgrad der Haut zu und zusammen mit dem randständigen Keratinfilamentnetz der Zellen bildet sich ein dichtes kortikales Band (MATOLTSY, 1969). Ein Stratum granulosum, und damit weiche Verhornung, kommt an der inneren Epidermisoberfläche und der Scharnierregion (engl. hinge) der scutate scales und in der Epidermis der Apteriae vor (PARAKKAL & ALEXANDER, 1972; SAWYER et al., 1974a; SAWYER et al., 1982). Dagegen fehlt an der äußeren Epidermisoberfläche der scutate und reticulate scales ein Stratum granulosum (SAWYER & BORG,

1979). In diesen Epidermisabschnitten findet eine Verhornung des harten Typs statt. Im Unterschied zur weichen Verhornung grenzt das Stratum intermedium bzw. Stratum transitivum direkt an das Stratum corneum. Es werden keine Keratohyalingranula, sondern andere keratohyalinassozierte Proteine gebildet, die sich im Zuge der Zellreifung mit den Strukturproteinen der Zelle verbinden. Wie beim Säugetier unterscheiden sich die während der weichen Verhornung gebildeten Hornzellen durch ihren niedrigeren Gehalt an schwefelhaltigen Aminosäuren (BARNETT & SELIGMANN, 1952; KÜNZEL, 1990; WARD & LUNDGREN, 1954) von den durch harte Verhornung gebildeten Hornzellen, die außerdem noch einen hohen Gehalt an Disulfidbrücken aufweisen (KNOSPE, 1989). In der Vogel-epidermis konnten GIROUD und LEBLOND (1951) Fette lediglich im Stratum intermedium und nur bei harter Verhornung nachweisen, während sie bei weicher Verhornung sowohl im Stratum intermedium als auch im Stratum corneum zu finden waren.

### **3.2 Definition der epidermalen Keratinisierung und Verhornung**

Die Epidermis von Vögeln besteht wie bei Säugetieren aus einem mehrschichtigen, verhornenden Plattenepithel (BUCHER & WARTENBERG, 1989). Die epidermale Differenzierung setzt sich aus zwei zeitlich hintereinander ablaufenden Prozessen zusammen: der Keratinisierung der Basal- und Übergangszellen sowie der Verhornung, die in den Übergangszellen beginnt (BUDRAS et al., 1998). Die Keratinisierung der lebenden Zellen umfasst nicht nur die Bildung von Keratinfilamenten und keratinfilamentassozierten Proteinen (Kfaps), sondern auch das Schicksal der lamellar bodies (LB), die intrazelluläre Lipidsynthese und den enzymatischen Abbau anderer Zellorganellen durch freigesetzte hydrolytische Enzyme (MATOLTSY & PARAKKAL, 1965; MENON et al., 1986a; MÜLLING & BUDRAS, 1998; WRENCH et al., 1980). In den Keratinozyten von Säugetieren setzen diese Stoffwechselabläufe erst nach der Ausreifung, kurz vor dem Zelltod ein. Im Gegensatz hierzu beginnt die Zytolyse der Sebokeratinozyten von Vögeln schon früh in den Intermediärzellen und findet gleichzeitig mit der Protein- und Lipidsynthese statt (WRENCH et al., 1980).

Die Verhornung ist der letzte Schritt der epidermalen Differenzierung eines mehrschichtigen, verhornenden Plattenepithels. Es handelt sich um einen Prozess des programmierten Zelltodes (Apoptose), dessen Endprodukte Hornzellen sind (BUDRAS et al., 1998; SPEARMAN, 1966; SPEARMAN & HARDY, 1985). Die toten Hornzellen dienen als epidermale Barriere des Organismus gegenüber äußeren Einflüssen (MATOLTSY & PARAKKAL, 1967). Während das Stratum corneum der Säugetiere eher dem Erscheinungsbild einer mit Mörtel verbundenen Backsteinmauer entspricht, sind die Sebokorneozyten aufgrund ihrer starken Abflachung eher mit mörtelverbundenen Platten vergleichbar (ELIAS, 1981).

### 3.3 Die epidermale Hornbildung beim Vogel

Der physiologische Ablauf der epidermalen Keratinisierung wird durch den Austausch von Botenstoffe zwischen Dermis und Epidermis gesteuert und hängt von dem Verhältnis der Menge von Aktivatoren zu Inhibitoren ab (BYRNE et al., 2003; HASHIMOTO, 2000). Während der Keratinisierung unterliegen die aviären Sebokeratinozyten einer Reifung, die Auswirkungen auf folgende Zellmerkmale hat:

- Die eher kubischen Basalzellen werden zu langgestreckten plattenförmigen Hornzellen.
- Der Organellenbesatz ändert sich.
- Das Lipidmuster der intrazellulären Fette wechselt.
- Der Grad der Keratinfilamentbildung und -bündelung nimmt zu und damit auch die Menge der Disulfidbindungen. Diese können über spezielle Methoden nachgewiesen werden und geben Aufschluss über den Verhornungsgrad der Epidermis.

Das Zytoskelett besteht aus einem umfangreichen Fasergeflecht, das der Zelle ihre Form und Stabilität verleiht. Es ist zusätzlich für die Anordnung der Organellen und ihre Bewegung im Zellinneren verantwortlich. Das Zytoskelett besteht unter anderem aus Keratinfilamentproteinen unterschiedlicher Größe und Zusammensetzung. Diese besitzen einen Durchmesser von 10-15 nm und kommen besonders an mechanisch belasteten Stellen der Zelle vor, wo sie vermutlich Zug- und Scherkräfte abfangen (VOET & VOET, 1994). In der Epidermis sind die Filamente aus dem disulfidgruppenreichen Skleroprotein Keratin aufgebaut. Es ist die wichtigste Strukturkomponente von Haar, Wolle, Haut, Schuppen, Nägeln, Hufe, Horn und Federn. Keratin zeigt eine hohe Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau, ist in Wasser nahezu unlöslich und widerstandsfähig gegenüber Säuren. In Laugen dagegen löst es sich leicht (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1986). Die Keratinfilamente kommen frei im Zytoplasma oder verbunden mit Desmosomen vor, an deren Aufbau sie beteiligt sind (FRANKE, 1993). Anhand ihres Diffraktionsmusters kann man  $\alpha$ - und  $\beta$ -Keratin unterscheiden (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1986; SHAMES et al., 1989). Man geht davon aus, dass sich das  $\beta$ -Keratin erst entwickelte, nachdem sich die evolutionäre Gruppe der Reptilien und Vögel von der der Säuger abgespalten hat. Es ist deshalb typisch für Reptilien und Vögel (SCHWEITZER, 1999). Die sekundäre Proteinstruktur des  $\beta$ -Keratins besitzt eine  $\beta$ -Faltblattstruktur. Das  $\alpha$ -Keratin besteht dagegen aus rechtsgängigen  $\alpha$ -Helices, die sich in ihrer Quartärstruktur aus jeweils zwei eng assoziierten Paaren von  $\alpha$ -Helices zusammenlagern, die linksgängig umeinander gewunden sind (Protofilament). Die einzelne  $\alpha$ -Helix bzw. ihre Nachbarhelix werden über Wasserstoffbrücken, Disulfidbrücken (Oxidation zweier Sulfhydrylgruppen benachbarter Cysteinreste) und Salzbrücken stabilisiert (SPEARMAN, 1966). Die Keratinfilamentsynthese schreitet zur Epidermisoberfläche hin fort, wobei die Filamente länger werden. An der Kondensation der Keratinfilamentbündel unter Ausbildung von Disulfidbrückenbindungen sind die keratinfilamentassoziiierenden Proteine

(Kfaps) beteiligt. Es entsteht ein dreidimensional vernetzter, amorph erscheinender Filament-Matrix-Komplex, in dem die einzelnen keratinogenen Filamente mehr oder weniger maskiert vorliegen und der zur Bildung zusammenhängender Hornmassen führt (BRAGULLA et al., 1994; LIEBICH, 1990; ORFANOS, 1969; SIKORSKI, 1975; VOET & VOET, 1994). Die jungen Hornzellen zeigen ein der Zellmembran innen anliegendes, dünnes marginales Band (cornified cell envelope, CCE), das nur durch die desmosomalen Zellkontakte unterbrochen wird. Es handelt sich um eine proteinreiche, stark elektronendichte Ablagerung, die bei älteren, reifen Hornzellen nicht mehr nachweisbar ist (MATOLTSY & MATOLTSY, 1966; WÄSE, 1999). Dieser Effekt tritt auf, weil mit der Hornzellreifung und wachsenden Elektronendichte des Zelleibes das marginale Band zwar noch vorhanden, aber nicht mehr zu unterscheiden ist (HASHIMOTO, 1971a). Da die Keratinfilamente des Zytoskelettes in das marginale Band einstrahlen, ist davon auszugehen, dass es an der Formation des Stützskelettes der Zellen beteiligt ist. Aufgrund der Beobachtung, dass das marginale Band chemisch resistenter als Keratin ist, kann es als Teil der Stütz- und Barrierefunktion der Epidermis angesehen werden (ELIAS & FRIEND, 1975; HIRAO et al., 2001).

### **3.4 Die epidermale Lipogenese beim Vogel**

Während der Keratinisierung wird, neben der Hornbildung, auch eine Zunahme des intrazellulären Lipidgehaltes der Zellen und eine Veränderung des Lipidmusters beobachtet. Während die tieferen Epidermisschichten der *reticulate scales* vor allem saure (polare) Fette enthalten, überwiegen im *Stratum corneum* die Neutralfette (ELIAS et al., 1987; LAVKER, 1976; LOGANI et al., 1977; PLATT, 2004; WÄSE, 1999; WERTZ et al., 1986). Der im Zuge der Differenzierung stark steigende Neutralfettgehalt der Sebokeratinozyten wird sowohl durch den Umbau der *multigranular bodies* (MGBs) (LAVKER, 1975; WÄSE, 1999) als auch durch die *de-novo*-Fettsynthese bedingt (PLATT, 2004). Die Hauptbestandteile der Neutrallipide sind Triacylglyceride, die in den Zisternen des rauen und glatten endoplasmatischen Retikulums (ER) zu komplexeren Lipiden verbunden werden (ELIAS et al., 1987; LAVKER, 1975). WÄSE (1999) vermutet eine Funktion der intrazellulär gelegenen strukturlosen Fetttropfen als Energiereserve. Neben einer antimikrobiellen Wirkung sollen sie auch einen Schutz vor ultraviolettem Licht bieten (SHAH et al., 1977). Andere Untersuchungen sprechen dafür, dass die intrazellulären Fetttropfen für die Elastizität der Zelle verantwortlich sind und nach ihrer Abgabe in den Interzellularspalt die Permeabilitätsbarriere des *Stratum corneum*s vermitteln (ELIAS et al., 1987; SHAH et al., 1977).

### **3.5 Die multigranular bodies (MGBs)**

Die schon bei der epidermalen Lipogenese erwähnten multigranular bodies (MGBs) sind das vogelspezifische Homologon der membrane coating granules (MCGs) der Säugetiere

(LANDMANN, 1980) und werden vom Golgi-Apparat gebildet (LANDMANN, 1988). Die von SELBY (1957) in der Fußballenepidermis von Menschen entdeckten Organellen weisen eine granuläre Struktur auf und werden unter dem Begriff lamellar bodies (LB) zusammengefasst. Die für die Hühnerhaut als typisch beschriebenen multigranular bodies (MGBs) besitzen eine Hüllmembran und mehrere rundliche Untereinheiten, die als interne Granula ebenfalls von einer Membran umgeben sind (LANDMANN, 1980; WÄSE, 1999). Inmitten der Granula liegen parallel angeordnete Lamellen, die durch ihre abwechselnde Elektronendichte eine gestreifte Struktur aufweisen. Innerhalb der verschiedenen Granula können die Lamellenstapel allerdings vom parallelen Verlauf abweichen (PLATT, 2004; WÄSE, 1999). Neben dieser typischen Form kommen in allen von WÄSE (1999) untersuchten Hautlokalisationen weitere Strukturvarianten vor. Diese zeigen entweder nur wenige oder keine internen Lamellen. Außerdem werden bei Hühnern MGBs beobachtet, die den membrane coating granules (MCGs) der Säugetiere gleichen und nur aus einem Membranstapel mit umgebender Hüllmembran bestehen (FRITHIOF & WERSÄLL, 1965; WÄSE, 1999). Zum Teil befinden sich in den Transitiv- und jungen Hornzellen frei im Zytoplasma liegende Membranstapel. WÄSE (1999) geht davon aus, dass es sich bei den verschiedenen Strukturvarianten der multigranular bodies (MGBs) um Stadien der Reife handelt, an deren Ende sich ein Teil dieser Zellorganellen zu neutralen kohlenhydrathaltigen Fetttropfen umwandelt. Sowohl die intakten MGBs als auch die aus ihnen hervorgegangenen Neutralfettropfen sind bei Hühnern als PAS-positive, kohlenhydrathaltige Granula im Intrazellularraum nachweisbar (WÄSE, 1999), während PLATT (2004) das Auftreten intrazellulärer PAS-positiver Granula bei Puten eher als Zeichen einer Dyskeratose deutet. Die Differenzierung zum Neutralfett wird wahrscheinlich durch den Enzymgehalt der MGBs bedingt, die bei Säugetieren auch als eine besondere Form sekundärer Lysosomen angesehen werden (ELIAS et al., 1988; FREINKEL & TRACZYK, 1983). Sowohl die Zahl als auch die Größe der MGBs nimmt im Zuge der Zelldifferenzierung zu. Bei Menschen und Vögeln steigt zeitgleich mit dem vermehrten Auftreten dieser Organellen auch die Menge der Keratinfilamentbündel (HASHIMOTO, 1971b; WÄSE, 1999). Ab dem mittleren Stratum intermedium erfolgt die verstärkte Umwandlung der MGBs zu Neutralfetten, die als große hüllmembranlose Lipidtropfen in den Zellen verbleiben und die Bezeichnung Sebokeratinozyten rechtfertigen (MENON et al., 1986a; WÄSE, 1999). Im Zuge der Zellreifung konfluieren die aus den MGBs hervorgegangenen Neutralfetttröpfchen zu größeren Fettansammlungen. Während der Verhornung wird beim adulten Vogel der fettreiche Inhalt der umgewandelten MGBs in den Interzellularspalt abgegeben, wo er anhand einer PAS-positiven Reaktion des Interzellularkitts nachgewiesen werden kann. Er ist dort an der Bildung einer Schutz- bzw. Permeabilitätsbarriere beteiligt (ELIAS, 1983; WÄSE, 1999).

### 3.6 Die epidermale Permeabilitätsbarrierefunktion bei Säugern und Vögeln

Wie Landsäugetiere sind auch Vögel warmblütige Lebewesen, die in einer eher trockenen Umgebung leben. Die Voraussetzung für den Wechsel vom aquatischen zum terrestrischen Leben wurde erst durch die Bildung einer die Wasserabgabe an die Umwelt regulierenden Haut ermöglicht, die die Austrocknung des Organismus verhindert (DOWNING et al., 1987). Dabei ist das Stratum corneum der eigentliche Sitz der epidermalen Permeabilitätsbarriere, die vor allem aus Lipiden besteht (DOWNING, 1992) und deren Aufbau sowie Funktion bei Säugern und Vögeln über die im folgenden beschriebenen Mechanismen geregelt wird.

Kurz vor der einsetzenden Verhornung verschmilzt bei Säugetieren die Hüllmembran der intrazellulär gelegenen membrane coating granules (MCGs) mit der Zellmembran der Übergangszellen (LANDMANN, 1986; MÜLLING, 1993). Das enthaltene membrane coating material (MCM) wird durch Exozytose in den Interzellularraum entlassen und bildet dort den Interzellularkitt (BUDRAS & BRAGULLA, 1991). Durch diesen Prozess wird die Zellmembranfläche der verhornten Zellen stark vermehrt und faltet sich ein. Dieser Mechanismus soll für die Quellfähigkeit und hohe Wasserbindungskapazität der Hornzellen verantwortlich sein (ELIAS, 1981). Aufgrund der Beobachtung, dass sich der Interzellularspalt nach der MCM-Exozytose stark verbreitert, nimmt ELIAS (1981) an, dass diesem nun eine wichtige Funktion als Transportweg zukommt. Daneben bildet die lipophile Kittsubstanz von der Verhornungsgrenze (Bereich der MCM-Exozytose) bis zur Hautoberfläche eine Permeabilitätsbarriere aus (ELIAS, 1981; HASHIMOTO, 1971a; MÜLLING, 1993). Dabei ist die Hautbarriere für die physiologische Wasserabgabe des Organismus an die Umgebung passierbar, was als transepidermaler Wasserverlust (transepidermal water loss, TEWL) bezeichnet wird (MADISON, 2003).

Man geht allgemein davon aus, dass sich beim Säugetier der lamelläre Inhalt (lipid bilayers) der membrane coating granules nach der Exozytose in den Interzellularspalt entfaltet und sich die kurzen Membranstapel parallel zur Zellmembran ausrichten (ELIAS, 1988). Danach findet eine enzymatisch bedingte Änderung der Lipidzusammensetzung statt, so dass die lipid bilayers im Interzellularspalt nun aus einer Mischung aus Ceramiden, Cholesterin und freien Fettsäuren bestehen (BOUWSTRA et al., 2000; WERTZ et al., 1986). Im unteren Stratum corneum kommt es zu einer durch Enzyme vermittelten End-zu-End-Verbindung der einzelnen Lamellen, wodurch lange, mehrlagig-durchgängige Membranblätter entstehen (BRAGULLA et al., 1991; ELIAS, 1988; ELIAS & MENON, 1991). Die Struktur des Interzellularkitts zwischen den Hornzellen kann aber auch spezie- und lokalisationsabhängig unverbundene und antiparallel verlaufende kurze Membranstapel oder einen homogenen Aufbau aufweisen, dem lamelläre Strukturen fehlen (BUDRAS & BRAGULLA, 1991; MÜLLING, 1993). Voraussetzung für die Ausrichtung und Organisation der Membranen im Interzellularspalt ist eine intakte Lipidhülle der Korneozyten (corneocyte lipid

envelope, CLE). Diese besteht aus langkettigen  $\omega$ -Hydroxyceramiden, die kovalent an das marginale Band (cornified cell envelope, CCE) der Hornzellen gebunden sind. Die Lipidhülle stellt die Verbindung zwischen den Hornzellen und den interzellulär gelegenen Bilayer-Strukturen her (BEHNE et al., 2000; BOUWSTRA et al., 1998, ELIAS et al., 2000; MEGURO et al., 2000; SWARTZENDRUBER et al., 1987; VIELHABER et al., 2001; WERTZ 1997 und 2000; WERTZ et al., 1989). Sie selbst besitzt keine Wasserbarrierefunktion, (ELIAS et al., 1999) scheint aber für die richtige Ablagerung der lamellären Strukturen im Interzellularrspalt verantwortlich zu sein (DOWNING, 1992). Sind keine interzellulären Membranstrukturen vorhanden, so wird die Verbindung der Hornzellen über die ineinandergreifenden Lipidhüllen benachbarter Zellen hergestellt (SWARTZENDRUBER et al., 1987; WERTZ et al., 1989). Als Funktion des im Interzellularraum der Hornzellen befindlichen membrane coating materials (MCM, Kittsubstanz) werden folgende Komponenten angesehen:

- Der Aufbau einer semipermeablen Hautbarriere, die den transkutanen Flüssigkeitsverlust und das Eindringen schädlicher Substanzen aus der Umwelt verhindert (BUDRAS & BRAGULLA, 1991; ELIAS, 1981; LANDMANN, 1988; MÜLLING & BUDRAS, 1998). Die Effektivität einer solchen Barriere kann anhand einer Marker- bzw. Tracersubstanz (meist Lanthan) nachvollzogen werden (CAMBROSIO MANN et al., 2003; HASHIMOTO, 1971c; HAYWARD, 1983). Bei Säugetieren wird der Interzellularraum durch die hydrophile Tracersubstanz bis zur Ausschleusung des fetthaltigen Interzellularkitts penetriert, während höher gelegene Zwischenzellräume nicht markiert werden.
- Der hohe Enzymgehalt des MCM (Interzellularkitt) soll für die Desquamation der Hornzellen an der Hautoberfläche verantwortlich sein (BUDRAS & SEIDEL, 1992; FREINKEL & TRACZYK, 1985). Die enthaltenen Enzyme lösen Desmosomen, die wahrscheinlich für die Integrität des Stratum corneum wichtig sind und bauen den Interzellularkitt im oberen Stratum corneum ab (ALLEN & POTTEN, 1975; BUDRAS & BRAGULLA, 1991; BUDRAS et al., 1989; GRAYSON et al., 1985; WEINSTOCK & WILGRAM; 1970).
- Durch seinen hohen Kohlenhydratanteil (starke PAS-Reaktion) sichert der Interzellularkitt zusätzlich zu den Hornzellen den mechanischen Zusammenhalt des Stratum corneum und trägt somit, vor allem im harten Horn, zur Hornqualität und -stabilität bei (BUDRAS & BRAGULLA, 1991).

Die Ursachen für eine gestörte Barrierefunktion der Haut können neben Interzellularkittdefekten auch eine fehlerhafte Keratinisierung und Verhornung der Epidermiszellen sein (HIRAO et al., 2001; KÜSTER et al., 2003).

Bei adulten Vögeln gelangt der lamelläre Inhalt der multigranular bodies (MGBs) nicht durch Exozytose in den Interzellularrspalt. Stattdessen werden die MGBs im Zuge der

Keratinisierung im Intrazellularraum zu Neutralfetten umgebaut. Bis zum Erreichen des Stratum transitivum bedingt dieser Prozess einen Struktur- und Hüllmembranverlust der MGBs (WÄSE, 1999; PLATT, 2004). Durch die Einbuße der Zellmembran der MGBs ist eine Exozytose nach dem Vorbild der Säugetiere nicht mehr möglich (WÄSE, 1999). Des Weiteren setzt sich die Lipidhülle der Sebokorneozyten bei Vögeln wahrscheinlich aus Fetten der frei in den Übergangs- und Hornzellen vorkommenden Membranstapel zusammen (PLATT, 2004), während im Gegensatz hierzu die Lipidhülle der Korneozyten von Säugetieren aus Bestandteilen der Hüllmembran der lamellar bodies (LB) gebildet wird. Die von den multigranular bodies (MGBs) stammenden Neutrallipide lassen sich an ihrem hohen Gehalt an PAS-positiven Kohlenhydratverbindungen (meist Glykolipide) erkennen (WÄSE, 1999). Von diesen Glykolipiden wird angenommen, dass sie eine wichtige Funktion für den Zellzusammenhalt haben (HUANG, 1978). Durch den Zerfall der Sebokorneozyten sowie durch Membranbruchstellen oder andere unbekannte Prozesse werden die im Zuge der epidermalen Lipogenese und des Umbaus der MGBs entstandenen Neutrallipide in den Interzellularspalt abgegeben (MENON et al., 1981; PLATT, 2004; WÄSE, 1999). Im Gegensatz zum Säuger, von dem angenommen wird, dass die Permeabilitätsbarriere durch den lamellären Inhalt der membrane coating granules (MCGs) vermittelt wird, ist beim Vogel diese Funktion an das homogene unstrukturierte Neutralfett im Interzellularraum gebunden. In Bezug auf den Zeitpunkt des Übertritts des intrazellulär gelegenen Neutralfettes in den Interzellularraum scheint es allerdings graduelle Unterschiede in Abhängigkeit vom Hauttyp zu geben. In den reticulate scales von Hühnern findet dieser Vorgang schon in den Übergangszellen statt. Die homogene Lipidmasse bildet im Interzellularraum eine Permeabilitätsbarriere, von der angenommen wird, dass sie aufgrund der fehlenden Membranstapel durchlässiger ist als die der Säugetiere (WÄSE, 1999). Bei Mammaliern und Menschen kann eine eingeschränkte Barrierefunktion der Haut allein auf den Verlust bzw. die fehlerhafte Ausbildung der stark ceramidhaltigen lamellären Strukturen zwischen den Hornzellen zurückgeführt werden (CODERICH et al., 2003; KÜSTER et al., 2003; SCHMUTH et al., 2001; SCHNEIDER & WOHLRAB, 1997). Außerdem wurde festgestellt, dass der transepidermale Wasserverlust bei Vögeln um ein Vielfaches höher ist als bei Säugetieren (ELIAS et al., 1987; MENON et al., 1986a und b). Dies bedeutet, dass unter ähnlichen Umweltbedingungen die Befiederung nur einen ungenügenden Austrocknungsschutz darstellt und die Vogelhaut eine weniger effektive Barriere gegen den transepidermalen Wasserverlust darstellt als die Haut von Mammaliern (WEBSTER et al., 1985). Vögel verfügen über andere Kompensationsmechanismen als die Barrierefunktion der Haut, um den Wasserhaushalt des Organismus aufrecht zu erhalten. Da Vögel keine Schweißdrüsen besitzen (VOLLMERHAUS & SINOWATZ, 1992), geht ihnen über den Weg der Transpiration keine Flüssigkeit verloren. Dagegen kann bei Säugetieren der

Wasserverlust über das Schwitzen temperaturabhängig beträchtlich sein. Außerdem scheiden Vögel Harnsäure in fester Form aus, während bei Säugetieren der Harnstoff über den wasserreichen Urin abgegeben wird. BUDDENBROCK (1956) ist sogar überzeugt, dass der Wasserhaushalt der Vögel weniger problematisch ist als der von Säugern. Setzt man Zebrafinken allerdings extremer Hitze aus, so können, wie bei Mammaliern, Membranstapel im Interzellularraum der Hornzellen nachgewiesen werden (ELIAS et al., 1987; MENON et al., 1996). Ähnliche Beobachtungen werden auch an frisch geschlüpften, unbefiederten Nestlingen gemacht (LANDMANN, 1980; MENON et al., 1986). Die Ausschleusung lamellärer Strukturen in den Interzellularspalt, und damit eine eventuell erhöhte Barrierefunktion gegen Wärme- und Wasserverlust, scheint also auch von äußeren Faktoren wie Hitze und Kälte abhängig zu sein und kann sich an veränderte Anforderungen des Organismus anpassen (WÄSE, 1999).

### **3.7 Die Struktur der Epidermis des Metatarsalballens von Huhn und Pute**

Im Allgemeinen ist die Epidermisstruktur dieser beiden Hühnervögel vergleichbar, allerdings bestehen speziebedingte feine Unterschiede, die im Folgenden aufgezeigt werden sollen. Die Fußungsfläche und damit auch die Oberfläche der Metatarsal- und Zehenballen wird bei Hühnern und Puten durch warzenartige Integumentmodifikationen gebildet, die als reticulate scales bezeichnet werden. Die reticulate scales unterscheiden sich deutlich von den anderen Schuppentypen. Während die Morphogenese der scutate scales durch eine Epidermisplacode induziert wird, geht die Entstehung der reticulate scales von einem spezifischen Strukturwandel der Dermis aus, der ähnlich wie bei den squamaten Reptilien (Eidechsen und Schlangen) symmetrische Schuppenanlagen mit nur einer Hautoberfläche hervorbringt (MADERSON, 1965; SAWYER & CRAIG, 1977). Die reticulate scales sind daher keine Hautanhangsgebilde im eigentlichen Sinne, sondern können eher als mehr oder weniger gegliederte Integumentfalten angesehen werden (MEYER & RÖHRS, 1986; SAWYER & CRAIG, 1977). Der Keratinisierungsprozess in der Epidermis der reticulate scales unterscheidet sich von dem anderer verhornender Hautareale des Vogels. Sowohl beim Embryo als auch bei adulten Tieren werden während der Keratinisierung keine Keratohyalin granula gebildet (SAWYER & BORG, 1979). SAWYER und BORG (1979) fanden ergänzend heraus, dass im Gegensatz zu den scutate scales, deren innere und äußere Oberfläche  $\alpha$ - bzw. das für Vögel und Reptilien typische  $\beta$ -Keratin produziert, in den reticulate scales nur  $\alpha$ -Keratin gebildet wird. Dagegen zeigen andere Untersuchungen, dass die reticulate scales sowohl Merkmale der harten als auch der weichen Verhornung aufweisen und sowohl hartes als auch intermediäres Keratin synthetisiert wird (LUCAS & STETTENHEIM, 1972; PLATT, 2004). Eine weitere Besonderheit der reticulate scales ist der, im Vergleich zu den scutate scales, breite lebende Anteil der Epidermis (LUCAS &

STETTENHEIM, 1972). WÄSE (1999) konnte bei ihren ultrastrukturellen Untersuchungen nachweisen, dass die Basalzellen der reticulate scales eine viel geringere Anzahl an Fetttropfen beinhalten, als die der scutate scales, und sich das Lipidmuster der beiden Schuppentypen unterscheidet. Histochemisch können mit der PAS-Reaktion ab dem mittleren Stratum intermedium intrazelluläre positive Granula in mäßiger Zahl nachgewiesen werden, bei denen es sich um Zuckerverbindungen von multigranular bodies (MGBs) handelt. Ab dem mittleren Stratum intermedium werden die MGBs unter Verlust der Hüllmembran verstärkt zu Neutralfetten mit Kohlenhydratanteil (Glykolipide) umgewandelt. Diese Kohlenhydratverbindungen der Neutralfette können von WÄSE (1999) ab dem oberen Stratum intermedium in großer Zahl als PAS-positive Granula in den Zellen nachgewiesen werden. Dagegen kommt es im Stratum intermedium von Puten nur zu einer diffusen, schwach positiven PAS-Reaktion, während der Transitivbereiche umso stärker reagiert, je älter die untersuchten Tiere sind (PLATT, 2004). Im Transitivbereich erfolgt ultrastrukturell die verstärkte Auflösung der MGBs und das Freiwerden der internen Lamellenstapel (PLATT, 2004). PLATT (2004) nimmt an, dass die schwache PAS-Reaktion des Intermediärbereiches darauf zurückzuführen ist, dass die Glykolipide der Lamellenstapel solange maskiert vorliegen, bis die Hüllmembran der MGBs nicht mehr vorhanden ist. Erst dann sind die Kohlenhydratreste histochemisch nachweisbar (PLATT, 2004). Bei Hühnern reicht der intrazelluläre granuläre PAS-positive Nachweis bis in das untere Stratum corneum, während bei der Pute das gesamte Stratum corneum unregelmäßig reagiert (WÄSE, 1999; PLATT, 2004). Im Stratum corneum sind sowohl Glykolipide als auch Glykoproteine an der PAS-Reaktion beteiligt. Während bei Puten der Interzellularbereich schon ab dem mittleren Stratum intermedium PAS-positiv reagiert (PLATT, 2004), ist dieser Prozess bei Hühnern erst oberhalb des Stratum intermedium zu beobachten, was die Freisetzung der zu Neutralfett umgewandelten MGBs in den Interzellularspalt der noch lebenden Zellen anzeigt (WÄSE, 1999). Das ultrastrukturell darstellbare feinkörnige Material im Interzellularraum der lebenden Epidermis ist eine Mischung aus Glykoproteinen und Glykolipiden (PLATT, 2004). Im Gegensatz zum Huhn, dessen Stratum transitivum der reticulate scales mehrlagig ist, ist es bei der Pute diskontinuierlich und teilweise sehr undeutlich (LUCAS & STETTENHEIM, 1972; PLATT, 2004; WÄSE, 1999). Durch histologische Färbungen lassen sich die Übergangszellen jedoch als azidophiler Saum nachweisen (PLATT, 2004). PLATT (2004) schlägt daher für die aviäre Epidermis generell die Bezeichnung Transitivbereich statt Stratum transitivum vor, auch wenn in kleineren Arealen Übergangszellen fehlen.

In der befiederten Haut wird durch den Untergang und den Zerfall der Hornzellen an der Hautoberfläche das intrazellulär gespeicherte Fett frei (WÄSE, 1999). Aufgrund der hohen Integrität der Sebokorneozyten an der epidermalen Oberfläche der unbefiederten reticulate scales kommt dieser Mechanismus hier nicht zum Tragen, da in der Abschilferungszone nur

intakte Hornzellen abgestoßen werden (PLATT, 2004; WÄSE, 1999). In den Schuppen wird allgemein ein viel geringerer Anteil des intrazellulären Fettes in den Interzellularraum freigesetzt als in der befiederten Haut (WÄSE, 1999). Diese Beobachtung wird auch von SPEARMAN (1971) und PLATT (2004) bestätigt, denen die engen Zwischenräume zwischen den Hornzellen der reticulate scales auffallen. Der Interzellularraum ist mit einer gleichmäßig verteilten Kittsubstanz gefüllt (PLATT, 2004). Die Zusammensetzung der multigranular bodies (MGBs) und der frühe Zeitpunkt der Freisetzung ihrer Umwandlungsprodukte in den Interzellularrspalt erhöhen den Zusammenhalt der Sebokeratino- bzw. Sebokorneozyten, die eine insgesamt dickere Epidermis bzw. dickeres Stratum corneum bilden als in anderen Hautarealen (KÖNIG et al., 2001; WÄSE, 1999). Dies hat auch eine verstärktere Permeabilitätsbarriere der Hornschicht der reticulate scales zur Folge (WÄSE, 1999).

## **4 Biotin**

### **4.1 Geschichte**

WILDIERS entdeckte 1901, dass Hefe für ihr Wachstum eine organische Substanz benötigt, die er „Bios“ nannte. BOAS (1927) fand einen Wuchsstoff, den er als „Faktor X“ bezeichnete, und der das Auftreten von Dermatitis und Haarausfall bei Ratten, die mit rohem Eiklar gefüttert wurden, verhinderte. GYÖRGY (1931 und 1939) zeigte, dass dieser Faktor die Hautfunktion regelt, den Fett- und Eiweißstoffwechsel beeinflusst und dass all diese Substanzen dieselbe chemische Verbindung aufweisen, die er Vitamin H (Haut) nannte. 1936 isolierten KÖGL und TÖNNIS aus dem Dotter gekochter Enteneier eine kristalline Substanz, der sie den Namen Biotin gaben. DU VIGNEAUD bestimmte 1942 seine chemische Struktur. Goldberg und Sternbach entwickelten 1949 ein Verfahren zur industriellen stereoselektiven Synthese von Biotin, das im Prinzip auch heute noch zur Anwendung kommt (WHITEHEAD, 1988).

### **4.2 Chemie**

Das Biotinmolekül (Summenformel:  $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ ) ist chemisch gesehen ein bitykisches Harnstoffderivat mit einem Imidazoliodon- und einem Thiophanring (ROTH, 1987). Es gehört zur Gruppe der wasserlöslichen B-Vitamine. Das Biotinmolekül besitzt drei asymmetrische Kohlenstoffatome, so dass vier Diastereomere mit insgesamt acht Stereoisomeren existieren. Nur das rechtsdrehende D-(+)-Isomer besitzt biologische Aktivität (F. HOFFMANN-LA ROCHE, 2001; ROCHE VITAMINS, 2000). Verbindungen mit ähnlicher Struktur, z. B. Oxybiotin, haben eine viel geringere biologische Aktivität als das Biotin (WHITEHEAD, 1991), oder wirken sogar als Biotinantagonisten. Das Vitamin ist eine optisch aktive, organische und schwefelhaltige Säure, die in feinen, langen, farblosen Nadeln ausfällt. Der Schmelzpunkt liegt bei etwa 228-232°C. Die industrielle Synthese nach Goldberg und Sternbach liefert

D-Biotin, ausgehend von Fumarsäure, wobei auch Cystein, Cystin oder Kohlenhydrate als Ausgangsmaterial dienen können (FRIEDRICH, 1987). Dieses Verfahren wurde von Gerecke verbessert, so dass reines kristallines D-(+)-Biotin entsteht (BONJOUR, 1991). Es kommt als sprühgetrocknetes weißliches Puder in den Handel, (F. HOFFMANN-LA ROCHE, 2001), das dem Futter als Zusatzstoff beigemischt werden kann. Bei der Lagerung muss beachtet werden, dass das kristalline trockene Material allmählich durch UV-Licht zerstört wird (BONJOUR, 1991; FRIEDRICH, 1987).

#### **4.3 Vorkommen von Biotin**

Biotin ist in der Natur weit verbreitet. Es findet sich in Bakterien, Pilzen, in höheren Pflanzen und tierischem Gewebe, hier vor allem in Leber und Niere. Daneben kommt es auch in Eidotter, Hefe, Sojabohnen, Nüssen, Getreide und Fischmehl vor (BONJOUR, 1991, WHITEHEAD, 1991). Der Biotingehalt der Einzelfuttermittel kann starken Schwankungen unterworfen sein. Pflanzliche Produkte weisen je nach Sorte, Bodenfruchtbarkeit, Klima und Bearbeitungsmethode starke Unterschiede in der Zusammensetzung auf. Auch die falsche Lagerung von Futtermitteln führt, vor allem wenn enthaltene Fette ranzig werden, zu einer verminderten biologischen Aktivität von Vitaminen allgemein (JODAS & HAFEZ, 2000) und speziell zu einer gesenkten Bioverfügbarkeit des Biotins (AMMERMANN et al., 1995, BONJOUR, 1991; MISIR & BLAIR, 1988). Das Pelletieren des Futters soll keinen oder sogar einen die Bioverfügbarkeit des Biotins verbessernden Einfluss haben (AMMERMANN et al., 1995; SCOTT, 1973). Dagegen fand DRESSLER (1980) heraus, dass die Hitzeentwicklung beim Pelletiervorgang das Vitamin angreift.

#### **4.4 Die Bioverfügbarkeit des Biotins**

Vom Gesamt-Biotingehalt im Futtermittel muss die Bioverfügbarkeit des Biotins für den Organismus unterschieden werden. SCOTT (1981) fand heraus, dass in den meisten Fällen fast die Hälfte des durch mikrobiologische Tests in einem Futtermittel nachgewiesenen Biotins für Hühner und Puten nicht zu verstoffwechseln ist. Es ist bekannt, dass sich die biologische Verwertbarkeit einzelner, miteinander verglichener Futtermittel untereinander und auch der Biotingehalt des gleichen Futtermittels stark unterscheiden können. Die Hauptursache der oft beobachteten suboptimalen Biotinzufuhr dürfte in der unterschiedlichen Zugänglichkeit des Biotins in den verschiedenen Futtermitteln liegen (FRIEDRICH, 1987). LAMPEN et al. stellten 1942 fest, dass Futtermittel pflanzlichen Ursprungs einen höheren Gehalt an freiem Biotin aufweisen als Futtermittel tierischen Ursprungs. Demnach sind tierische Proteine keine sehr verlässliche Biotinquelle. Fischmehl enthält z. B. im Durchschnitt 135 µg Biotin pro kg Futter, wobei der Gehalt von 11 µg bis 421 µg Biotin pro kg Futter schwanken kann (NAGARAJ, 1996). Futterproben mit gleichen Bestandteilen können

deshalb einen unterschiedlichen Biotingehalt aufweisen (WHITEHEAD, 1988). Die durchschnittliche Bioverfügbarkeit in Mais, Sojaschrot sowie Fischmehl beträgt 100 %, während für Getreidesorten wie Weizen (5 %), Gerste und Hirse (0-20 %) eine schlechtere Verwertbarkeit angenommen wird (FRIGG, 1976 und 1984). Vermutungen über eine niedrige Bioverfügbarkeit des Biotins im Weizen kamen auf, als Futtermischungen auf Weizenbasis mangelbedingte Läsionen bei Tieren hervorriefen (BALNAVE, 1975; FRIGG & BRUBACHER, 1976). Weitere mögliche Ursachen einer reduzierten Biotinverwertbarkeit sind Biotinantagonisten oder bakterielle Biotin-bindende Proteine. Alle diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass auf mikrobiologischen Tests allein basierende Berechnungen der Futterzusammensetzung häufig zu einer suboptimalen Biotinversorgung führen (BONJOUR, 1977).

#### **4.5 Die endogene Biotinsynthese**

Biotin ist neben Vitamin K das einzige Vitamin, das in nennenswerter Menge durch die Intestinalflora im Dickdarm synthetisiert wird (BITSCH et al., 1985). Obwohl das Vitamin endogen produziert wird, erfolgt nur eine geringe Aufnahme direkt aus dem Dickdarm (WHITEHEAD, 1988). Der Großteil des mikrobiell erzeugten Biotins wird mit dem Kot ausgeschieden und, sofern den Tieren zugänglich, über Koprophagie aufgenommen. Die Menge reicht allerdings nicht aus, um eine optimale Versorgung des Körpers zu gewährleisten (ALBERS et al., 2001; COATES et al., 1968) Früher vertrat man die Meinung, dass dieses über Koprophagie aufgenommene Biotin zur Bedarfsdeckung der Tiere ausreichend sei. Durch Sonderbedingungen, wie erhöhte Leistung, Trächtigkeit, Erkrankungen etc. ist der Bedarf der Tiere jedoch häufig stark erhöht. Bei Junghühnern z. B. deckt der mikrobiell erzeugte Biotinanteil maximal 10 % des Bedarfs<sup>6</sup>. Außerdem gibt es Anzeichen dafür, dass die Futterzusammensetzung sowie antimikrobiell wirksame Substanzen die biotinproduzierende Darmflora aus dem Gleichgewicht bringen kann und somit auch die endogene Biotinsynthese starken Schwankungen unterworfen ist (GYÖRGY & LANGER, 1968; JENSEN & MARTINSON, 1969).

#### **4.6 Die Biotinaufnahme in den Körper**

In Pflanzen kann Biotin zum Teil in freier und ungebundener Form nachgewiesen werden (FRIEDRICH, 1987). In den meisten natürlichen Futterbestandteilen liegt es jedoch zum überwiegenden Teil als Biotin-Protein-Komplex vor, in dem das Vitamin an einen Lysyl-Rest des Proteins gebunden ist und in dieser Form nicht resorbiert werden kann (BONJOUR, 1977). Außerdem verwerten auch viele Darmmikroben Biotin und konkurrieren daher mit dem Wirt um das im Chymus enthaltene Vitamin (GLÄTTLI et al., 1975). Im Dünndarm wird das nahrungsproteingebundene Biotin enzymatisch durch Proteasen zu Biocytin abgebaut,

<sup>6</sup>[www.vfcnicholas.com](http://www.vfcnicholas.com)

danach durch eine Biotinidase abgespalten<sup>7</sup> und in seiner freien Form über verschiedene Transportersysteme resorbiert. Die Ursache mangelhafter Bioverfügbarkeit ist weitgehend unbekannt, doch es wird angenommen, dass das Biotin in chemischen oder physikalischen Bindungen vorliegt, die dem Verdauungsprozess nicht zugänglich sind (BITSCH & BARTEL, 1994; BONJOUR, 1991; ZEMPLIENI & MOCK, 2001). Die Biotinaufnahme aus dem Darm erfolgt über pH- und temperaturabhängige Na-Cotransporter, deren Anzahl über das verfügbare Biotin geregelt wird. Der Transport kann gegen einen Konzentrationsgradienten erfolgen. Es ist jedoch möglich, dass die Carrier bei der Aufnahme großer Biotindosen gesättigt werden, dann dominiert der Biotintransport über passive Diffusion (SAID et al., 1988 und 1993; MOCK, 1996 und 1999). Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, dass dieses Carriersystem sowohl im Dünndarm als auch im Dickdarm lokalisiert ist und auch zur Aufnahme von Pantothenensäure genutzt wird (SAID, 1999a). Auf das Vorkommen eines zweiten Carriersystems deuten mRNA Transkripte eines Na-abhängigen Multivitamintransporters (SMVT) in allen untersuchten Geweben hin (u.a. auch Darm, Plazenta, Niere...) (PRASAD et al., 1998, ZEMPLIENI & MOCK, 2001). Dieser Carrier transportiert Pantothenensäure, Biotin und Fettsäuren gleichermaßen. Aufgrund des verbreiteten Vorkommens gehen PRASAD et al. (1998) davon aus, dass der SMTV in allen Zellen vorhanden ist. Das Biotin verlässt die Enterozyten über einen Na-unabhängigen Carrier, der das Vitamin nicht gegen einen Konzentrationsgradienten befördern kann (SAID, 1999a). Im Blut erfolgt der Transport des Vitamins zum größten Teil gebunden an Plasmaproteine, wie Albumine, Globuline (DOLLERY, 1991), oder Biotinidase (CHAUCHAN & DAKSHINAMURTI, 1988). MOCK und MALIK (1992) gehen dagegen davon aus, dass das Biotin vor allem in freier Form im Blut vorliegt. Der Aufnahmeprozess in andere Gewebe erfolgt ebenfalls über spezielle Carrier oder über Diffusion. Da die Speichermöglichkeiten im Körper für das wasserlösliche B-Vitamin sehr begrenzt sind, ist eine kontinuierliche Aufnahme in bedarfsdeckender Menge über die Nahrung nötig (ALBERS et al., 2001; FRIGG et al., 1993).

#### **4.7 Die Biotin-bindenden Proteine allgemein**

Neben den Carboxylasen (siehe Kapitel 4.9.2), die Biotin kovalent über eine Säureamid-Bindung mit der Aminogruppe eines Lysin-Restes des Enzyms verknüpfen (FRIEDRICH, 1987), existiert eine weitere Proteingruppe, die Biotin nicht-kovalent bindet. Zu ihnen gehört Streptavidin, das durch Bakterien der Gattung *Streptomyces* gebildet wird. Es kann durch den unbemerkten Befall von Futtermitteln und Tieren Bedeutung gewinnen, da es Biotin in einen Proteinkomplex überführt, der dem Organismus nicht mehr zugänglich ist. Infolgedessen kann es trotz ausgewogener Diät zu Biotinmangelscheinungen kommen (GLÄTTLI et al., 1975).

---

<sup>7</sup>[www.yavivo.de](http://www.yavivo.de)

Auch das Avidin, ein sekretorisches Eileiterprotein, dessen Synthese über Progesteron gesteuert und das im Ovidukt, zusammen mit dem Eiklar, gebildet wird, gehört zu den Biotin-bindenden Proteinen (WHITE, 1985). Im Eiklar wird Biotin proportional abhängig vom Futterbiotingehalt an Avidin gekoppelt (WHITE & WHITEHEAD, 1987). Avidin besitzt eine derart hohe Affinität zu Biotin, dass das Vitamin in dem stärksten überhaupt bekannten, nicht-kovalenten Komplex gebunden wird (GREEN, 1963). Dieser wird auch durch proteolytische Enzyme nicht gespalten, so dass das avidingebundene Biotin im Darm nicht resorbiert werden kann und somit für das Tier nicht bioverfügbar ist. Avidin ist auch in der Lage, an bereits enzymgebundenes Biotin anzudocken und dessen katalytische Reaktion zu unterbinden (FRIEDRICH, 1987). Deshalb kann durch die Verabreichung von rohem Eiklar und dem darin enthaltenen Avidin ein klinisch manifester, experimentell bedingter Biotinmangel bei Tieren und Menschen leicht hervorgerufen werden. Avidin findet sich vor allem im Eiklar (GREEN, 1975), in entzündetem Gewebe, sowie im Serum infizierter Hühner. Dort übernimmt es vermutlich die Rolle eines antimikrobiellen Faktors, der biotinabhängige Bakterien am Wachstum hindert und der Keimbesiedelung und- ausbreitung entgegen wirkt (ELO et al., 1979; TRANTER & BOARD, 1982; WHITE, 1985). Außerdem gibt es noch andere spezielle Biotin-bindende Proteine (BBPs), die in der Leber gebildet werden. Sie besitzen eine geringere Biotinaffinität und dienen dem Transport des Vitamins im Blut. Zusätzlich sind sie für die Einlagerung des Vitamins in den Dotter verantwortlich, wo es der Entwicklung des Kükens im Ei zur Verfügung steht (WHITE, 1985) (siehe Kapitel 4.14). Ihre Syntheserate ist abhängig von dem im Futter verfügbaren Biotin (WHITE & WHITEHEAD, 1987) und der im Blut der Legehennen zirkulierenden Östrogenmenge (VIEIRA et al., 1996). Im Gegensatz zu Biotin weisen andere Vitamine nur eine Art von Bindungsproteinen auf, die sowohl im Eiklar als auch im Dotter vorkommt. Das Vorhandensein verschiedener BBPs legt die Vermutung nahe, dass dem Biotin eine spezielle Rolle bei der Regulation der Entwicklung des Embryos zukommt (WHITE & WHITEHEAD, 1987).

#### **4.7.1 Vergleichende Betrachtung der Biotin-bindenden Proteine (BBP) des Dotters von Huhn und Pute**

Im Gegensatz zu Puten besitzen Hühner und andere Vogelarten in der Legeperiode zwei Arten der BBP (WHITE, 1985; WHITE & WHITEHEAD, 1987). Bei geringem Biotingehalt des Futters wird vor allem BBP I gebildet. Es weist eine geringe Biotinaffinität auf und dient vor allem der ausreichenden Vitaminversorgung des Elterntieres (Legehennen). Bei erhöhten Futterbiotinwerten wird zusätzlich verstärkt BBP II synthetisiert. Dieses Protein zeigt eine relativ hohe Biotinaffinität und führt zur verstärkten Einlagerung des Vitamins in den Dotter. BBP II kommt im Plasma von Hennen, die keine Eier legen, nicht vor (WHITE & WHITEHEAD, 1987). Bei praxisüblicher Ration wird das Biotin vor allem im Dotter an Biotin-

bindende Proteine (BBP) gekoppelt und so deponiert. Übersteigt nun die aufgenommene Futterbiotinmenge die Bindungskapazität der BBPs im Plasma, so erscheint dieser Überschuss an freiem Biotin erstens über Diffusion BBP unabhängig im Dotter und zweitens im Plasma. Das frei im Blut zirkulierende Vitamin wird im Legedarm sehr schnell an Avidin gebunden und im Eiklar eingelagert (WHITE & WHITEHEAD, 1987). Die Pute besitzt anscheinend nur eine Art des BBP, das dem BBP I des Huhnes vergleichbar ist. Die Biotinplasmawerte von Huhn und Pute sind sehr ähnlich, wobei die Biotindotterkonzentration des Huhnes zweimal höher liegt, als die der Pute. Das Huhn weist anscheinend einen effektiveren Mechanismus der Biotinspeicherung im Dotter auf, was mit dem Vorhandensein von BBP II bei Hühnern erklärbar wäre (WHITEHEAD, 1988). Man vermutet deshalb, dass Puten aus Gründen der Kompensation Biotin in das Eiklar einlagern (WHITE & WHITEHEAD, 1987).

#### **4.8 Die Biotinanalyseverfahren**

Für die Bestimmung des Biotingehaltes stehen mehrere Methoden zur Verfügung. Damit ein Nachweis des in der Probe enthaltenen Vitamins möglich wird, ist eine Lösung des Biotins aus seinen Bindungen nötig. Dies geschieht entweder mittels Säure- oder Enzymhydrolyse.

1. Beim mikrobiologischen Nachweisverfahren wird das Wachstum biotinabhängiger Mikroorganismen (z. B. Bakterien, Hefen etc.) bestimmt. Der Test erfasst allerdings auch Biotinvorstufen und Fettsäuren. Außerdem sind Testergebnisse, die mit verschiedenen mikrobiologischen Methoden gewonnen werden, nur bedingt vergleichbar.
2. Das kompetitive Proteinbindungsassay (PBA) nutzt die biotinbindende Eigenschaft radioaktiv oder chemolumineszent markierten Avidins. Das Nachweisverfahren beruht auf dem Prinzip der Isotopenverdünnungsreihe.
3. Desweiteren steht eine Methode zur Verfügung, die sich auf die Aktivitätsbestimmung biotinabhängiger Enzyme (z. B. Pyruvatcarboxylase) stützt.
4. Zur Analyse von sehr reinen, pharmazeutischen Präparaten eignet sich die photometrische Bestimmung des Biotingehaltes. Dabei wird die enthaltene Biotinmenge über eine ionenselektive Elektrode chromatographisch (high performance liquid chromatography, HPLC) oder spektrometrisch gemessen.

#### **4.9 Biochemie**

##### **4.9.1 Die allgemeine biologische Funktion des Biotins**

Biotin ist von essentieller Bedeutung für das Wachstum, die Futtermittelverwertung, für eine gesunde Hautstruktur, für die Knochenentwicklung und die Reproduktion<sup>8</sup>. Das Vitamin

<sup>8</sup>[www.vfcdnicholas.com](http://www.vfcdnicholas.com)

scheint außerdem sehr wichtig für die Zellentwicklung zu sein. So sind vor allem embryonale Zellen und Gewebe mit hoher Stoffwechselaktivität reich an Biotin. Wie fast alle wasserlöslichen Vitamine hat es im Stoffwechsel vor allem Coenzymfunktion (ALBERS et al., 2001).

#### **4.9.2 Die Funktion des Biotins (Coenzym) als prosthetische Gruppe biotinabhängiger Carboxylasen**

Im Intermediärstoffwechsel erfüllt das Vitamin die Funktion einer prosthetischen Gruppe von Carboxylasen. Durch seine kovalente Amidbindung an den Lysinrest des Apoenzyms überführt das Biotin die Carboxylase in ihre aktive Form, das Holoenzym (RODRIGUEZ-MELÉNDEZ, 2000). Dabei dient Biotin als mobile Trägersubstanz des aktivierten CO<sub>2</sub>, das an ein Stickstoffatom des Vitamins gebunden ist und an das entsprechende Substrat übermittelt wird. Nach der CO<sub>2</sub>-Übertragung wird das Biotin durch die Biotinidase aus dem Enzym freigesetzt und steht nun wieder als Coenzym zur Verfügung (Biotin-Recycling). Durch seine direkte Funktion als Coenzym ist Biotin für die Gluconeogenese und die Lipogenese essentiell. Indirekt wirkt es aber auch auf den Gesamtmetabolismus, da es Zwischenprodukte anderer Stoffwechselkreisläufe wie der Proteinsynthese, der Desaminierung von Aminosäuren, der Purinsynthese, dem Nukleinsäurestoffwechsel etc. beeinflusst (SCOTT, 1981; WHITEHEAD, 1988).

Bei Tieren sind vor allem vier biotinabhängige Enzyme von großer Bedeutung: Die Pyruvatcarboxylase, die Propionyl-CoA-Carboxylase, die  $\beta$ -Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase und die Acetyl-CoA-Carboxylase. Während die Acetyl-CoA-Carboxylase sowohl in den Mitochondrien als auch im Zytoplasma vorkommt (BONJOUR, 1991; KIM, 1997), sind die restlichen Carboxylasen rein mitochondrial lokalisiert (ZEMPLINI & MOCK, 2001).

Die Pyruvatcarboxylase (PC) ist ein Schlüsselenzym der Gluconeogenese, der Glucosegewinnung aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen wie Lactat, Pyruvat, Glycerin und Aminosäuren (VOET & VOET, 1994). Die Gluconeogenese findet in Leber und Niere statt und dient der Energiegewinnung und Aufrechterhaltung des Blutzuckers, vor allem in Zeiten von besonderer Belastung und Hungerperioden. Die PC katalysiert die energieverbrauchende Reaktion von Pyruvat zu Oxalacetat. Die Oxalacetat-Synthese ist eine anaplerotische Reaktion (Auffüllreaktion), die die Aktivität des Citratzyclus (CC) reguliert, da nur über Oxalacetat Acetyl-CoA in den Citratzyclus eingeschleust werden kann. So fungiert Acetyl-CoA als starker Aktivator der PC (VOET & VOET, 1994), stimuliert so die Bildung von Oxalacetat und damit den Ablauf des Citratzyclus. Da für die Ausschleusung des intramitochondrial gebildeten Acetyl-CoAs, als Voraussetzung für dessen Eintritt in die cytosolisch lokalisierte Lipogenese, ebenfalls Oxalacetat benötigt wird, spielt die PC auch für diesen Stoffwechselprozess eine wichtige Rolle (BONJOUR, 1991).

An der Fettsäurebiosynthese ist ein weiteres biotinabhängiges Enzym beteiligt, die Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC). Sie katalysiert die energieverbrauchende Carboxylierung von Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA. Es handelt sich um den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Gesamtreaktion, so dass die ACC das Schlüsselenzym der Fettsäuresynthese ist (VOET & VOET, 1994). Außerdem spielt die inaktive Form der Acetyl-CoA-Carboxylase möglicherweise eine Rolle bei der Biotinspeicherung (SHRIVER & ALLRED, 1990; SHRIVER et al., 1993). Die Propionyl-CoA-Carboxylase (PCC) ist am Propionatstoffwechsel beteiligt. Propionat entsteht infolge mikrobieller Prozesse im Pansen und Darm von Wiederkäuern und anderer Spezies. Die Wiederkäuer sind aufgrund des vollständigen Glucoseabbaus während der Pansenfermentation fast völlig auf die Energiegewinnung und Glucosebildung aus Propionat angewiesen (WHITEHEAD, 1988). Bei anderen Tieren entsteht Propionat bei der  $\beta$ -Oxidation ungeradzahligter Fettsäuren und beim Abbau bestimmter Aminosäuren. Innerhalb der Mitochondrien katalysiert die PCC die Reaktion von Propionyl-CoA zu Methylmalonyl-CoA, dieses wiederum reagiert zu Succinyl-CoA, das in den Citratzyklus eingeschleust werden kann und somit auch der Gluconeogenese zur Verfügung steht (VOET & VOET, 1994). Die  $\beta$ -Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase (MCC) ist ebenfalls ein biotinabhängiges Schlüsselenzym im Abbau der ketogenen Aminosäure Leucin. Sie katalysiert die ATP-verbrauchende Reaktion von  $\beta$ -Methylcrotonyl-CoA zu  $\beta$ -Methylglutaconyl-CoA. Die Endprodukte des Leucinabbaus sind Acetyl-CoA und der Ketonkörper Acetoacetat (VOET & VOET, 1994). Da die biotinabhängigen Enzyme starken Einfluss auf lebenswichtige Intermediärstoffwechselprozesse wie die Gluconeogenese, die Fettsäure- und die Proteinsynthese nehmen, führt ein Biotinmangel zu einer Beeinträchtigung der entsprechenden Stoffwechselprozesse und infolgedessen zu einer Anhäufung der Substrate der zugehörigen Enzyme. Diese Metaboliten (organische Säuren) können nur teilweise in andere Reaktionswege eingeschleust werden, sammeln sich im Körper an und führen zu sekundär bedingten Krankheitserscheinungen. Wird vom Organismus ein steigender Bedarf an Zwischenprodukten der Stoffwechselwege der Carboxylasen signalisiert, so steigt auch der Bedarf an Biotin in seiner Funktion als Coenzym und Regulator der Enzymaktivität auf posttranskriptioneller Ebene (ZEMPLINI & MOCK, 2001). Neuere Untersuchungen weisen darauf hin, dass Biotin eventuell auch direkt auf transkriptioneller Ebene in die genetische Expression der Zelle eingreifen kann. Dagegen konnte bewiesen werden, dass Biotin, ein wasserlösliches Vitamin, auf verschiedene Enzyme des Glucosestoffwechsels auf transkriptioneller Ebene sowohl als Induktor als auch als Supressor eine Wirkung vergleichbar mit dem Verhalten eines Hormons erzielt (RODRIGUEZ-MELÉNDEZ, 2000).

### 4.9.3 Sonstige metabolische Funktionen des Biotins

Über seine Rolle als Cofaktor und wahrscheinlicher Regulator in der Biosynthese der Carboxylasen hinaus ist Biotin noch in andere Bereiche des Metabolismus eingebunden. Bei Säugetieren spielt es eine Rolle bei der Zellteilung und -differenzierung, ebenso wie bei der Regulierung der Synthese bestimmter Proteine (RODRIGUEZ-MELÉNDEZ, 2000).

DAKSHINAMURTI und LITVAK wiesen 1970 eine induzierende Wirkung von Biotin auf Enzyme, die das Vitamin nicht als prosthetische Gruppe benötigen, nach. Es gibt jedoch Anhaltspunkte, dass Biotin möglicherweise viel früher ansetzt und sogar eine Rolle in der Genexpression spielt. Die Biotin-bindenden Proteine (BBPs) des Bruteies werden unter dem Einfluss des Hormons Östrogen gebildet (BELL & FREEMAN, 1971). Bei Hühnern und Puten kann nun beobachtet werden, dass es bei einem geringen Biotingehalt des Futters zu einer Abnahme der BBP-Produktion kommt (WHITE & WHITEHEAD, 1987; WHITE et al., 1987). Es wird angenommen, dass Biotin eine Kontrolle auf transkriptioneller Ebene ausübt, die unter bestimmten Bedingungen die hormonelle Regulation dominiert (WHITE et al., 1987). HYMES et al. (1995a und b) entdeckten, dass Histone als spezifische Biotinakzeptoren fungieren können. Bei an Biotinmangel leidenden Ratten trennen sich die Histone jedoch von der DNA, was eventuell zu einer gestörten Regulation der Genaktivität führt (PETRELLI et al., 1976; PETRELLI et al., 1978; ZEMPLIENI & MOCK, 2001). Weitere Untersuchungen zeigen, dass Biotinmangel bei Ratten zu einer 40-50%igen Reduktion der Leber-Glucokinaseaktivität führt (DAKSHINAMURTI & CHEAH-TAN, 1968). Eine Biotinverabreichung stellt die Enzymaktivität wieder her (CHAUHAN & DAKSHINAMURTI, 1991; SPENCE & KOUDELKA, 1984). Es wird vermutet, dass das Biotin über die verstärkte Bildung des Transmitters cGMP (cyclisches Guanosin Monophosphat), über den auch Hormone wirken, forcierend auf die Genexpression bestimmter Enzyme einwirken kann (VESLEY et al., 1984; SPENCE & KOUDELKA, 1984). Diese Beobachtungen legen nahe, dass Biotin eine Rolle bei der Genexpression und der post-transkriptionellen Bearbeitung von Proteinen zukommt, obwohl direkte Mechanismen, die das Biotinmolekül mit seinen Effekten in Zusammenhang bringen, fehlen. FRITSCHKE et al. (1991) untersuchten den Einfluss des Vitamins auf kultivierte Epidermiszellen und stellten fest, dass Biotin eine induzierende Wirkung auf spezielle Zytokeratine besitzt, die für die epidermale Differenzierung und Verhornung verantwortlich sind. Spätere Untersuchungen konnten diese These jedoch nicht bestätigen (HUSCHKA, 1998; LIMAT et al., 1996). BUDA (2000) konnte jedoch beobachten, dass der Aufbau und die Integrität der Fußballenhaut von stark biotinsupplementierten Mastputen, gegenüber konventionell gefütterten Tieren, positiv beeinflusst werden konnte. Den Ergebnissen ist gemeinsam, dass das Biotin in unphysiologisch hohe Dosen verabreicht wurde, die wahrscheinlich einen pharmakologischen Effekt des Vitamins bewirken (ZEMPLIENI & MOCK, 2001).

Biotin ist essentiell notwendig für den Vorgang der Zellproliferation, der durch einen gesteigerten Biotinbedarf gekennzeichnet ist. So stagnieren HeLa Zellen, die in einem biotinfreien Medium kultiviert werden, in der G<sub>0</sub> Phase des Zellzyklusses (DAKSHINAMURTI et al., 1985). Auch die induzierte Proliferationsrate menschlicher Lymphozyten, die als Zellmodel dienen, ist von einer ausreichenden Biotinversorgung abhängig. Dies führt teilweise zu einem bis zu fünffach erhöhten Biotinbedarf dieser Zellen (ZEMPLENI & MOCK, 2001) und ist wahrscheinlich auf die verstärkte Aktivität biotinabhängiger Stoffwechselprozesse während der Proliferation zurückzuführen. Außerdem stimuliert das Vitamin die Bildung eines nichtidentifizierten Wachstumsfaktors in der sich teilenden Zelle (MOSKOWITZ & CHENG, 1985; ZEMPLENI & MOCK, 2001). Die Wirkung, die Biotin auf sich teilende Immunzellen hat, kann vor allem in Belastungssituationen klinische Bedeutung gewinnen. Beim Menschen ist z. B. bei parenteraler Ernährung ohne Biotinsubstitution und bei angeborenen Fehlern des Biotinmetabolismus eine Beeinträchtigung der humoralen und zellulären Abwehr bekannt (COWAN et al., 1979). Diese Ergebnisse liefern die Grundlage für die Hypothese, dass Biotin an der Regulation des Zellzyklusses beteiligt ist und sich ein Biotinmangel ungünstig auf das Zellwachstum auswirkt (ZEMPLENI & MOCK, 2001).

#### **4.10 Auswirkungen eines Biotinmangels auf den Intermediärstoffwechsel**

Biotin ist als essentieller Faktor direkt oder indirekt an den lebenswichtigen Stoffwechselvorgängen des Körpers beteiligt. Es hat somit starken Einfluss auf Prozesse wie die Gluconeogenese, die Fettsäuresynthese, die Proteinsynthese und andere. Eine Biotinmangelversorgung führt zu einer verminderten Aktivität der biotinabhängigen Enzyme und damit zu einer Beeinträchtigung der von ihnen katalysierten Stoffwechselschritte (ALBERS et al., 2001; ARINZE & MISTRY, 1971). Bei einer defizitären Biotinversorgung kommt es, je nachdem, welcher Stoffwechselprozess oder welches Gewebe betroffen ist, zu unterschiedlichen Ausprägungen von Mangelsymptomen und entsprechenden prädisponierten Lokalisationen.

Bei der Störung der Gluconeogenese ist das Tier nicht mehr in der Lage, die Glycogenreserven des Körpers zu mobilisieren und die benötigte Energie für alle Lebensvorgänge bereit zu stellen. Dies führt zu einer Pyruvat- und Laktatanhäufung im Körper, die in einer acidotischen Stoffwechsellage resultiert (DEODHAR & MISTRY, 1969). Ist der Fettstoffwechsel betroffen, kommt es zu einer Verschiebung des Fettsäuremusters der Membranen und damit zu einer Änderung der Lipidzusammensetzung der Haut, die ihre Schutz- und Barrierefunktion nicht mehr ausreichend aufrechterhalten kann (MENTON, 1970; WHITEHEAD, 1991). FRIGG und ROHR beobachteten 1978, dass sich infolge einer Unterversorgung mit Biotin sterischen Veränderungen in der Leber ergeben, die zu einer 30%igen Verringerung des endoplasmatischen Retikulums führen und als morphologischer

Ausdruck einer gestörten Proteinsynthese zu sehen sind. Die Beeinflussung der Proteinsynthese zeigt sich in einem herabgesetzten Leucineinbau in Proteine (DAKSHINAMURTI & CHAUCHAN, 1989). Leucin ist eine der essentiellen Aminosäuren und wird zusammen mit Glycin an zweithäufigster Stelle in Proteine eingebaut (VOET & VOET, 1994). Eine weitere Aufnahme von Aminosäuren führt zu einer toxischen Anhäufung von Leucin- bzw. Isoleucin-Metaboliten in den Hautzellen.

Da die Carboxylaseaktivität in der Haut oft niedriger ist als in anderen Geweben, könnte sich ein Biotinmangel hier gravierender auswirken. Während die Aktivität der biotinabhängigen Enzyme in anderen Organen erhalten sein kann, ist sie nur in der Haut beeinträchtigt, weshalb bis auf Hautläsionen keine weiteren Mangelsymptome auftreten (SWICK & KIEN, 1983). Ein Biotinmangel führt darüber hinaus zu einer gestörten Skleroproteinsynthese und wirkt sich negativ auf die Keratinisierungs- und Verhornungsprozesse der Epidermis aus (ROCHE VITAMINS, 2000).

#### **4.10.1 Biotinmangelsymptome beim Säugetier und Mensch**

Ein Biotinmangel kann bei Tieren sehr einfach durch Zumischung von rohem Eiklar zum Futter (egg-white-injury), oder bei manchen Spezies durch Verfütterung einer biotinfreien Diät hervorgerufen werden. Nach einiger Zeit zeigen die betroffenen Tiere eine Wachstumsdepression, schlechtes Allgemeinbefinden und entwickeln charakteristische Biotinmangelsymptome. Viele Säugetiere, wie Ratten, Hunde, Katzen, Füchse und Marder, zeigen Haut- und Fellschäden in Form einer seborrhoischen Dermatitis, die im fortgeschrittenen Stadium in eine exfoliative Dermatitis und Hyperkeratose übergeht. Oft werden Entzündungserscheinungen und Exsudatbildung am Maul, der Nase und den Augen festgestellt. Das Fell weist einen Pigmentverlust, Alopezie und Brillenbildung um die Augen auf. An Krallen, Hufen und Klauen lassen sich brüchige Veränderungen, Horndefekte (GLÄTTLI et al., 1975), Entzündungen und Sohlenrisse (ALBERS et al., 2001) erkennen. Nerze und Füchse zeigen, wie das Geflügel, fettige Degenerationen der Leber und Nieren (fatty liver and kidney syndrome, FLKS) (WHITEHEAD, 1988). Hunde und Ratten können an Bewegungsstörungen leiden. Bei Ratten kommt es zu einer abweichenden Fettzusammensetzung mit Anstieg der einfach ungesättigten sowie der C:16-Fettsäuren (BONJOUR, 1991). Die Veränderungen im Lipidstoffwechsel bedingen einen fast völligen Verlust des Fettgewebes. Eine Unterversorgung mit Biotin und essentiellen Fettsäuren kann bei Nagern, aufgrund der gestörten Permeabilitätsbarrierefunktion der Epidermis, ein feuchtes und mattes Fell verursachen, das durch einen erhöhten transepidermalen Wasserverlust bedingt ist (MENTON, 1970). Ein Biotinmangel führt bei vielen Säugetieren zu Fruchtbarkeitsstörungen durch teratogene Veränderungen der Nachzucht, Fruchtresorption und Abort (SAID, 1999b).

Beim Menschen ist das Auftreten von Biotinmangelercheinungen sehr selten und tritt nur unter besonderen Stoffwechselbelastungen auf (MOCK et al., 1998). ZEMPLINI und MOCK (2000) zeigten, dass viele Schwangere, wahrscheinlich in Folge des sich entwickelnden Foeten und der Sekretion in die Muttermilch, eine unzureichende Biotinversorgung aufweisen. Die Mangelsymptome äußern sich als Entwicklungsverzögerung, Anorexie, Fettleber, feinschuppige Dermatitis, charakteristischen Ausschlag um die Augen, Nase und Mund, brüchige Nägel, Haarverlust, Konjunktivitis, Ataxie, Depressionen und zentralnervöse Störungen. Menschen mit Biotinmangel neigen durch die Immunsuppression zu Hautpilzbefall. Kinder zeigen eine ungewöhnliche Fettverteilung des Gesichtes, auch bekannt als „Biotinmangel-Gesicht“. Es gibt Anzeichen dafür, dass Biotinmangel und Stress für den plötzlichen Kindstod (sudden infant death syndrome, SIDS) verantwortlich sein könnten, so dass Parallelen zu einer ähnlichen Erkrankung der Küken (acute death syndrom, ADS) für möglich gehalten werden (CRAVENS et al., 1944; HULAN et al., 1980; JOHNSON et al., 1980).

#### **4.10.2 Biotinmangelsymptome beim Geflügel unter besonderer Berücksichtigung der Pute**

Durch die hohe wirtschaftliche Bedeutung von Hühnern und Puten sind seit der ersten Beschreibung von Biotinmangelsymptomen dieser Tiere umfangreiche Studien zum Biotinmangel und seinen Auswirkungen bei verschiedenen Geflügelarten durchgeführt worden (PATRICK et al., 1942). Die für ein schweres Defizit charakteristischen Symptome lassen sich aufgrund der schlechten Bioverfügbarkeit des Biotins in Weizen durch eine einseitige, auf diesem Getreide basierende Diät (BALNAVE, 1975; FRIGG & BRUBACHER, 1976) oder experimentell durch Zugabe von rohem Eiklar zum Futter (LEASE & PARSON, 1934) erzeugen und zeigen sich wie folgt:

- Die Fruchtbarkeit und Legerate der weiblichen Elterntiere kann gemindert sein (HARMS & WINTERFIELD, 1985).
- Eine verstärkte Embryonensterblichkeit in der ersten und dritten Bebrütungswoche ist zu beobachten (COUCH et al., 1948b; CRAVENS et al., 1944; FERGUSON et al., 1961; LEESON et al., 1979a).
- Es kommt zu Skelettmissbildungen und Chondrodysplasie der Embryonen (BAIN et al., 1988; CRAVENS et al., 1944).
- Die Schlupfrate ist vermindert und der plötzlichen Tod der Küken kann vor allem in den ersten Lebensstunden auftreten (CRAVENS et al., 1944).
- Die Tiere zeigen eine schlechte Futtermittelverwertung und Wachstumsrate (COUCH et al., 1947, LEESON et al., 1979 a und b; WHITEHEAD et al., 1985).

- Die Verfettung von Leber und Niere (fatty liver and kidney syndrome, FLKS) ist nachweisbar und kann zu plötzlichen Todesfällen führen (WHITEHEAD, 1991).
- Bei jugendlichen Truthühnern kommt es durch die Beeinträchtigung des Knorpelwachstums und der Chondrozytenreifung zur Ausbildung von Beinschäden, die jedoch auch durch eine Unterversorgung mit anderen Nährstoffen hervorgerufen werden. Die Chondrodystrophie (Perosis) und Dyschondroplasie führt zu einer Verkürzung und Verdrehung des Tibiotarsus, Missbildung des Sprunggelenkes und Verkrüppelung des Tieres (ARENDS, 1970; PATRICK et al., 1942; WHITEHEAD, 1991).
- Das Geflügel weist ein struppiges Federkleid, Federbruch und eine allgemein schlechte Befiederung auf (WHITEHEAD, 1991).
- Besonders an mechanisch beanspruchten Hautbereichen wie Schnabelwinkeln, Augenlidern, Flughaut und den zusätzlich druckbelasteten Fußballen lassen sich Dermatitis feststellen (DOBSON, 1970; FRIGG & TORHORST, 1980; PATRICK et al., 1942; WÄSE, 1999).

#### **4.11 Funktionsstörungen der Beine (leg disorders) und Beinschwäche (leg weakness) bei Mastgeflügel**

Vor allem durch die sogenannte Beinschwäche (leg weakness) kommt es zu hohen wirtschaftlichen und ökonomischen Ausfällen in der Geflügelmast. Krankheiten, die mit Bewegungsstörungen einhergehen, sind zudem auch aus tierschützerischer Sicht von Bedeutung. Die Symptome der Funktionsstörung der Beine und der Beinschwäche werden seit den frühen 1980er Jahren beobachtet, da seit dieser Zeit verstärkt schnellwüchsige, schwere Putenlinien gezüchtet und gemästet werden. Vor allem männliche Tiere leiden, wahrscheinlich aufgrund ihres höheren Gewichtes, an Beinproblemen, aber auch Hennen werden in geringerem Maße befallen. Unter dem Begriff Beinschwäche wird ein ganzer Komplex verschiedener Krankheiten und deren Folgeerscheinungen zusammengefasst. Es handelt sich um Erkrankungen des Skeletts, des Knorpels, des Nervensystems, der Haut, der Muskulatur, der Sehnen und Sehnenscheiden, denen verschiedenste Ursachen zugrunde liegen und die sich vor allem durch Lahmheit und Bewegungsstörungen äußern (BRACEWELL, 1982; HEIM, 1990; KORFMANN, 2003; LÖHNERT et al., 1996; NAIRN & WATSON, 1972). BRACEWELL (1982) fand heraus, dass hauptsächlich Junggeflügel betroffen ist. Finanzielle Verluste werden durch die geminderte Schlachtkörperqualität, aber auch durch Merzungen vor allem im letzten Produktionsstadium bedingt. Ein Großteil der häufiger vorkommenden Formen von Beinschwäche werden durch Skelett- und Knorpelerkrankungen verursacht, die sich als Beindeformationen äußern können. Ursächlich handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen. Neben Bakterien und Viren, die die Beingesundheit direkt negativ beeinflussen, kommen auch infektiöse Agentien und Toxine in

Frage, die das Verdauungssystem schädigen und, über eine Maldigestion und -assimilation, Veränderungen am Bewegungsapparat verursachen. Als nichtinfektiöse Faktoren kommen vor allem den auf Steigerung der Wachstumsrate ausgerichteten Bereichen Zucht, Fütterung und Management große Bedeutung zu (CLAASEN, 1992; SAUVEUR, 1984; VAHL, 1985). Durch Licht- und Temperaturregulation, ad libitum Fütterung und eine sehr nahrhafte, leicht verdauliche, proteinreiche Diät wird das züchterisch enorm gesteigerte Wachstumspotential der Tiere sehr früh angeregt (BRACEWELL, 1982). Dadurch kommt es zu einer raschen Zunahme an Muskelmasse, der das Skelettwachstum und der -ausreifungszustand nicht folgen kann. Beim Putenhahn findet z. B. der proximale Epiphysenfugenschluss der Tibia erst in der 23. Woche und bei der Henne in der 16. Woche statt (BRACEWELL, 1982; NAIRN & WATSON, 1972; RIDDELL, 1981). Während einerseits die rasche Gewichtsentwicklung der Tiere für das Auftreten von Beinproblemen verantwortlich gemacht wird (GERAEDTS, 1983), kann andererseits dieser Zusammenhang nicht nachgewiesen werden (COOK et al., 1984). Im Allgemeinen scheint das rasche Wachstum allein nicht der auslösende pathogene Mechanismus zu sein. JULIAN (1998) nimmt an, dass es sich um eine metabolische Entgleisung handelt, die durch eine gesteigerte Nährstoffaufnahme hervorgerufen wird. Vor allem dem hohen Rohproteingehalt des Futters scheint eine negative Rolle bei der Entwicklung von Beinproblemen zuzukommen. Besonders das Putenstarterfutter zeichnet sich durch einen hohen Rohproteingehalt aus. Dieser beeinträchtigt wahrscheinlich den Vitamin- und Mineralstoffwechsel und führt zu einer Nährstoffimbalance<sup>9</sup>. Im Managementbereich kommt vor allem der Art und Qualität der Einstreu sowie der Besatzdichte eine wichtige Bedeutung bei der Entstehung von Beinschwäche zu (GERAEDTS, 1983). GERAEDTS (1983) fand außerdem heraus, dass es bestimmte Phasen der Mast gibt, in denen die Tiere besonders empfänglich für Beinveränderungen sind. Diese Phasen stehen oft mit der Entwicklung von Durchfallerkrankungen in Zusammenhang, die die Einstreuqualität stark vermindern. LÖHNERT et al., (1996) beobachteten dagegen, dass die Besatzdichte keinen Einfluss auf die Häufigkeit, graduelle Ausprägung und das Spektrum von Skeletterkrankungen hat. GERAEDTS (1983) vermutet, dass Fußballendermatitiden einen wichtigen Grund für Beinveränderungen bei Truthühnern darstellen und dass das Auftreten und die Schwere der Fußballenveränderungen unter anderem maßgeblich von der Einstreuqualität abhängt. Auch GAZDZINSKI (2001) geht davon aus, dass das shaky-leg-Syndrom, eine Sehnenentzündung mit hochgradigen Lahmheitserscheinungen bei Mastputen, eine Folge der durch Fußballenläsionen erzeugten Bewegungsunlust der Tiere ist. Schwerere Formen der Beinveränderungen, die durch Steifheit und Festliegen gekennzeichnet sind, können auf die zusätzliche Ausbildung einer Fußballendermatitis zurückgeführt werden (JULIAN & BATHNAGAR, 1985). Außerdem ist zu beobachten, dass

<sup>9</sup>[www.lysine.com](http://www.lysine.com)

ein Biotinmangel der Küken erst in einem sehr viel späteren Entwicklungsabschnitt zu Beinerkrankungen führen kann (JENSEN & MARTINSON, 1969).

#### **4.12 Die biotinmangelbedingte Fußballendermatitis als Teil des Beinschwächekomplexes**

Eine Fußballendermatitis ist eine Entzündung im Metatarsal- und Digitalballenbereich, die durch erosive Läsionen (Fußballenläsionen, foot pad lesions), Hyperkeratose und Ulzeration gekennzeichnet ist (CLARK et al., 2002; PLATT, 2004). Zum Zeitpunkt der Schlachtreife weisen sehr viele Puten Fußballenläsionen auf, wobei auch hier die männlichen Tiere, wahrscheinlich aufgrund ihres höheren Schlachtendgewichtes, stärker betroffen sind als die weiblichen (CLARK et al., 2002). Obwohl die betroffenen Hautareale des Metatarsalballens ähnliche Erscheinungen zeigen, wie sie für Tiere beschrieben sind, die an einem Biotinmangel leiden (HARMS et al., 1977; HARMS & SIMPSON, 1975; JENSEN & MARTINSON, 1969; JOHNSON, 1967; PATRICK et al., 1942; RICHARDSON & WILGUS, 1967; ROBBLEE & CLANDINI, 1970), ist bis heute umstritten, welchen Einfluss eine Biotinunterversorgung auf deren Ausbildung hat. Erste Anzeichen einer Pododermatitis können schon bei drei Tage alten Putenküken in Form einer Rötung der Fußballen beobachtet werden (CLARK et al., 2002). Bei absoluten Biotinmangeltieren treten die klinischen Symptome einer Pododermatitis schon in der zweiten Lebenswoche auf und zeigen sich wie folgt (ARENDS et al., 1971; ROBBLEE & CLANDININ, 1970):

In den mechanisch stark beanspruchten Ballenarealen sind an einem oder beiden Füßen trockene und schuppige Hautbereiche zu beobachten. Es kommt zu einem abnormen Papillenwachstum auf der Plantarfläche der Zehen- bzw. Fußballen, gefolgt von Riss- und Krustenbildung (WÄSE, 1999). Kurze Zeit nach dem Auftreten der Fußdermatitis werden auch in der Schnabelumgebung und an den Augenlidern Veränderungen der Haut sichtbar. Aufgrund der Irritationen an Kopf und Füßen weisen die Küken eine verminderte Futteraufnahme und eine Wachstumsdepression auf. Am Ende der dritten Lebenswoche sind die Risse in den Fußballen so gravierend, dass es zu Blutungen kommt. In die Wunden dringen Krankheitserreger ein und aufgrund der Entzündung schwellen die Fußballen stark an (ARENDS et al., 1971; FRIGG & WEISER, 1974). Durch eine intramuskuläre Injektionen von 500 µg aufgelöstem, kristallinem Biotin können alle Symptome, mit Ausnahme von Narben, innerhalb von drei Wochen behoben werden (ARENDS et al., 1971).

Ultrastrukturell kommt es zu einer Proliferation und Dilatation der Kapillaren in der oberen Dermissschicht. Aufgrund der Stauung und Erweiterung von Blutgefäßen sowie einer Infiltration mit Entzündungszellen schwillt die Dermis stark an, zusätzlich kommt es in manchen Bereichen zu einer Proliferation des Papillarkörpers. Die mechanisch stark beanspruchten Bereiche der Epidermis zeigen hyperplastische und hyperkeratotische

Veränderungen. In einigen Bezirken ist die Epidermis vollständig erodiert und durch eine Kruste aus geronnenem Blut, Entzündungszellen, nekrotischen Zellresten und sekundären Bakterienherden ersetzt (FRIGG & TORHORST, 1980; WÄSE, 1999).

Da in den meisten Ländern Geflügel Füße nicht dem menschlichen Verzehr dienen, wird den Fußballenläsionen bisher keine direkte ökonomische Bedeutung beigemessen. Die Läsionen sind jedoch als Eintrittspforte für Mikroorganismen bedeutsam und können durch eine aufsteigende Infektion zu Beinveränderungen und Lahmheiten unterschiedlichsten Schweregrades führen (CLARK et al., 2002; EKSTRAND & ALGERS, 1997; EKSTRAND et al., 1998; PLATT, 2004).

#### **4.12.1 Andere Ursachen einer Fußballendermatitis**

Fußballendermatitiden werden jedoch nicht nur durch einen Biotinmangel hervorgerufen, sondern können auch durch andere Faktoren bedingt sein. Bei einer gedrosselten Wachstumsrate werden weniger Fälle einer Pododermatitis nachgewiesen. Dagegen kann bei Tieren, deren Wachstum über eine verstärkte Salzsupplementation forciert ist, anhand von histologischen Untersuchungen ein Biotinmangel diagnostiziert werden. Die Biotinunterversorgung ist wahrscheinlich eine sekundäre Folge der durch die schnelle Entwicklung stark gesteigerten Stoffwechselansprüche (HARMS & SIMPSON, 1982). Untersuchungen an Mastbroilern und Truthühnern haben ergeben, dass die Häufigkeit von Fußballenläsionen im Laufe der Mast einen Höhepunkt erreicht und danach bis zum Erlangen der Schlachtreife wieder abnimmt (CLARK et al., 2002). Auch eine mangelhafte Versorgung bzw. Nährstoffimbilanz kann für das Auftreten von Fußballenveränderungen verantwortlich sein. Ein Zink- oder Pantothen säuremangel (AUSTIC & SCOTT, 1984) sowie eine Unterversorgung mit essentiellen Fettsäuren (BALNAVE, 1970; ROLAND & EDWARDS, 1971) äußern sich ebenfalls in Dermatitis-symptomen. Desweiteren ist die Häufigkeit von krankhaften Fußballenveränderungen bei Puten, deren Futter über 40 % Sojamehl enthält, sehr hoch (JENSEN et al., 1970). Die Fußballendermatitis wird darauf zurückgeführt, dass der Kot durch die proteinreiche Fütterung sehr klebrig wird, dadurch verstärkt an den Füßen anhaftet (JENSEN, 1985; JENSEN et al., 1970) und auch die Einstreuqualität leidet (CLARK et al., 2002). CHAVEZ und KRATZER (1972) sind jedoch der Überzeugung, dass bei sojareicher Ernährung ein Mangel an Methionin vorliegt. Wurde diese essentielle Aminosäure dem Futter vorbeugend zugesetzt, konnten die Fußballenläsionen vermieden werden, während die Zufütterung von Biotin keinen positiven Effekt erbrachte. Eine Rassedisposition gegenüber Fußballendermatitiden wird z. B. bei Zwerghühnern angenommen, die in Käfigen gehalten werden. Deren Haut reagiert, trotz Biotinsupplementation, sensibler auf die mechanische Beanspruchung der Käfighaltung als die Epidermis normalwüchsiger Hühner (ATUAHENE et al., 1984). Auch CHAVEZ und KRATZER (1972) gehen davon aus, dass

weiße Puten rassespezifisch empfindlicher als Bronzeputen gegenüber Dermatitisen reagieren, die durch sojalastiges Futter hervorgerufen werden. Neuere Untersuchungen können jedoch keinen eindeutigen Bezug zwischen dem Auftreten von Pododermatitisen und bestimmten Leistungsparametern (Alter, Gewicht) bzw. der verwendeten Zuchtlinie (British United Turkeys, Hybrid, Nicolas) herstellen (CLARK et al. 2002). Die schweren Zuchtlinien (BUT Big 6, Nicholas 700) leiden aber statistisch häufiger unter der heftigsten und ulzerativen Form der Fußballendermatitis (HAFEZ et al., 2004). Die Häufigkeit des Auftretens von krankhaften Fußballenveränderungen hängt nach ABBOTT et al. (1969) weniger von der Fütterung als von der Lokalisation der Stallung, der Feuchtigkeit und vom Verkrustungsgrad der Streu ab und kann durch ein optimales Einstreumanagement minimiert werden. Auch andere Autoren sind von einem Zusammenhang zwischen einem hohen Feuchtigkeitsgehalt der Einstreu und der Verschlimmerung der Fußballendermatitissituation überzeugt (CHARLES & FORTUNE, 1977; HARMS et al., 1977; HARMS & SIMPSON, 1977; MARTLAND, 1984 und 1985)

#### **4.12.2 Risikofaktor Einstreumaterial und Management**

Die Qualität und das Management der Einstreu haben einen bedeutenden Einfluss auf das Ausmaß des Auftretens von Bein- und Fußballenveränderungen (ABBOTT et al., 1969; BERG, 1998; EKSTRAND & ALGERS, 1997; GERAEDTS, 1983; JODAS & HAFEZ, 2000). Die Funktion der Einstreu besteht unter anderem in der Feuchtigkeitsabsorption und deren schnellen Abgabe an die Stallluft, sowie in der Aufnahme und Umhüllung des Kotes und der Wärmeisolation (JODAS & HAFEZ, 2000). Unabhängig vom verwendeten Material wird mit dem Aufbringen von frischer Einstreu oft gezögert, so dass die Tiere zu lang auf der feuchten, verhärteten und klebrig verbackenen obere Streuschicht stehen und infolgedessen sehr bald Beinveränderungen zeigen. Daher sollte in wöchentlichen Abständen frisches Material aufgestreut werden (EKSTRAND et al., 1977; GERAEDTS, 1983). Auch eine regelmäßige Bearbeitung der oberflächlichen Streu durch Wenden und Durchlüften (dreimal pro Woche) hat einen positiven Effekt auf die Beingesundheit. Damit wird die Ausbildung von Beinveränderungen zwar nicht verhindert, der Ausprägungsgrad ist aber abgeschwächt (GERAEDTS, 1983). Der Zusammenhang zwischen der Besatzdichte der Stallungen und der Schwere von Pododermatitisen wird kontrovers diskutiert (CLARK et al., 2002; MARTRENCAR et al., 2002). Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass eine vergrößerte Tierzahl den hygienischen Zustand der Einstreu negativ beeinflusst und damit zu einer Erhöhung der Erkrankungsfälle führt (CLARK et al., 2002). Aufgrund der Annahme, dass sich eine zu niedrige oder zu hohe Luftfeuchtigkeit auf den Gesundheitsstatus der Tiere auswirkt, kommt der Ventilation des Stalles eine herausragende Bedeutung bei der Prävention von Fußballendermatitiden zu (MARTRENCAR et al., 2002). Ohne Zug sollte

die Belüftungsanlage für eine gleichmäßig gute Luftqualität und -temperatur im Stall sorgen und Stäube sowie überschüssige Feuchtigkeit aus der Einstreu bzw. dem Tierbereich entfernen (JODAS & HAFEZ, 2000). Auf den Feuchtigkeitsgehalt der Einstreu hat auch das verwendete Tränkesystem und dessen Wartung einen Einfluss (EKSTRAND & ALGERS, 1997). Die Tränkeeinrichtungen sollten in Rückenhöhe der Tiere angebracht und regelmäßig dem Wachstum der Puten angepasst werden. Viele kleine Nippeltränken sind den Glockentränken vorzuziehen, da die Tiere nicht so viel Wasser verschütten können (EKSTRAND et al., 1997; GERAEDTS, 1983; JODAS & HAFEZ, 2000). Die feuchte und verbackene Einstreu um die Tränke- und Futtereinrichtungen sollte regelmäßig entfernt werden, da in diesem Milieu der Mikroorganismengehalt allgemein und der Kokzidiendruck im Speziellen sehr hoch ist (JODAS & HAFEZ, 2000).

#### **4.13 Auswirkungen von Biotin auf die Eiproduktion, Schlupfrate, Embryonen- und Kükenmortalität**

Die Frage ob ein Biotinmangel die Eiproduktion von Hühnern und Puten beeinflusst, wird kontrovers diskutiert. Ein sehr geringer Biotingehalt des Futters kann zu einer bemerkenswerten Erniedrigung der Eiproduktion im Vergleich zu supplementierten Putenhennen führen, wobei die Legeleistung dieser Zuchtputen aber dennoch auf einem relativ hohen Niveau gehalten wird (WHITE et al., 1987). Dies deckt sich mit den Befunden von CRAVENS et al. (1944) sowie BREWER und EDWARDS (1972) bei Haushühnern, die trotz geringer oder fehlender Biotingehalte im Futter die normale Legeleistung erbrachten. Eine Biotinsupplementierung führt dagegen zu keiner (WHITEHEAD, 1980) oder nur zu einer geringen Steigerung der Eiproduktion (BRADLEY et al., 1976; WHITE et al., 1987). Beinhaltet die Ration einen großen Gehalt an Getreidearten mit einem hohen bioverfügbaren Biotinanteil, so kann davon ausgegangen werden, dass der natürlich vorkommende Biotingehalt ausreichend ist für eine maximale Eiproduktion bei Puten (ARENDS et al., 1971).

Die Schlupfrate der Küken ist vom Biotingehalt des Eidotters abhängig, der wiederum direkt mit dem Gehalt des bioverfügbaren Vitamins im Legehennenfutter zusammen hängt (WHITEHEAD et al., 1985). Die Schlupfrate sinkt bei niedrigen Dotterbiotinwerten auf Null, kann aber durch eine adäquate Biotinversorgung innerhalb von zwei bis drei Wochen wieder auf Normalniveau angehoben werden. Bei einer geringfügigen Biotinunterversorgung ist die Schlupffähigkeit eventuell nur minimal erniedrigt, die Küken weisen jedoch verstärkt Missbildungen auf. Wie die Legeleistung scheint auch die Schlupfrate nur bei niedrigem natürlich vorhandenem, bioverfügbarem Biotingehalt des Zuchthennenfutters über eine Biotinsupplementation positiv beeinflussbar zu sein (ARENDS et al., 1971). ATKINSON et al. (1976) konnten durch eine Gabe von 500 µg Biotin/kg Legehennenfutter eine eindeutige Anhebung der Schlupfzahl von Putenküken, aufgrund einer verringerten Embryonensterb-

lichkeit in der frühen und späten Phase der Inkubation beobachten. Demzufolge ist eine bedarfsdeckende Biotinversorgung des Kükens im Ei, im Hinblick auf dessen Entwicklung und Lebensfähigkeit, wichtig. Bei einer unzureichenden Biotinübertragung über den Dotter lassen sich an Küken ähnliche Missbildungen wie an mangelhaft versorgten Foeten nachweisen. Küken, die während ihrer embryonalen Entwicklung unter einer Biotinbeschränkung litten, zeigen eine verminderte Wachstumsrate und eine erhöhte Mortalität. Dieser Mangel kann auch nachträglich nicht über einen ausgewogenen Biotingehalt des Starterfutters kompensiert werden (BREWER & EDWARDS, 1972). Desweiteren können die äußerlich normal entwickelten Küken eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber einer Chondrodystrophie aufweisen, die sich erst während des Wachstums manifestiert (STOCK, 1981).

#### **4.14 Biotinübertragung von der Legehenne ins Ei**

Der Gesamtbiotingehalt des Bruteies ist von zwei Faktoren abhängig: Von der Aufnahme an verfügbarem Biotin über das Futter (BREWER & EDWARDS, 1972; FRIGG et al., 1984; WHITE & WHITEHEAD, 1987) und von der Produktion an Biotin-bindenden Proteinen (WHITE & HUGHES, 1981; WHITE & WHITEHEAD, 1987). Bei normalem Biotingehalt des Futters wird bei Hühnern das Vitamin zu 90 % im Dotter eingelagert (WHITE, 1985). Während nur sehr wenig Biotin an Avidin gebunden im Eiklar nachgewiesen werden kann, ist das im Dotter vorhandene Biotin-bindende Protein (BBP) abgesättigt (MESLAR et al., 1978; WHITE, 1985; WHITE et al., 1976). Das BBP spielt eine wichtige Rolle bei der Übertragung des Blutplasmabiotins des Elterntieres in den Dotter, wo es dem sich entwickelnden Embryo zur Verfügung steht (WHITE, 1985). Bei Hühnern ist also die Synthese des BBP ein limitierender Faktor der Biotineinlagerung in das Brutei und ist an die Bedürfnisse des Embryos angepasst (WHITE & HUGHES, 1981). Obwohl der Biotinbedarf der Pute im Vergleich zum Huhn viel höher liegt (MISIR & BLAIR, 1988; SCOTT, 1981; WHITEHEAD, 1991), ist der im Dotter nachgewiesene Biotingehalt erstaunlicherweise niedriger. Dies könnte zu der Annahme verleiten, dass der Biotinbedarf des Truthuhnembryos unter dem des Hühnerembryos liegt. Die Puteneier zeigen im Vergleich zu anderen Spezies aber nur sehr wenig und nur einen Typ des BBP, aber die höchste Menge an Avidin (KORPELA et al., 1981; WHITE, 1985). Außerdem findet sich das meiste im Putenei nachgewiesene Biotin avidin gebunden im Eiklar. Diese Beobachtung legt die Vermutung nahe, dass dem avidin gebundenen Biotin eine nutritive Rolle bei der Entwicklung des Putenkükens im Brutei zukommt (WHITE, 1985). WHITE und WHITEHEAD (1987) nehmen an, dass der Truthuhnembryo bzw. -foetus im Gegensatz zu allen anderen Mitgliedern der Familie der Fasanenartigen in der Lage ist, das avidin gebundene Biotin aus dem Eiklar zu verwerten. Diese Fähigkeit kann ansonsten nur noch beim Cormoranembryo beobachtet werden (WHITE, 1985). Für diese

erstaunliche Möglichkeit spricht auch die Erkenntnis, dass durch eine direkte Biotininjektion von 87 µg ins Eiklar die Schlupfrate signifikant erhöht werden konnte (ROBEL, 1985; ROBEL & CHRISTENSEN, 1987). Der Dotterbiotingehalt von Putenbruteiern steigt bei einer Konzentration unterhalb von 100 µg Biotin/kg Futter linear an und ist stark von der im Hennenfutter enthaltenen Menge des bioverfügbaren Vitamins abhängig. Zwischen 100-1000 µg Biotin/kg Futter steigert sich der Dotterbiotingehalt nur sehr langsam, und es stellt sich eine Plateauphase ein, die in Höhe von etwa 500 ng Biotin/g Eigelb liegt. Bei dieser Biotinkonzentration des Futters ist die Einlagerung des Vitamins direkt abhängig und wird limitiert durch die Konzentration des Biotin-bindenden Proteins (BBP), welches das Vitamin vom Blutplasma des Elterntieres in den Dotter überträgt. Werden dem Futter nun praxisunüblich hohe Biotinmengen zwischen 1000-3500 µg/kg Futter zugemischt, kommt es zu einer Verdopplung der Biotinkonzentration im Dotter.

Auch das Eiklar der Bruteier der Legehennen weist eine verstärkte Biotineinlagerung auf, wenn deren Futter 1000 µg Biotin/kg Futter enthält. Ansonsten verhält sich der Eiklarbiotingehalt im Gegensatz zum Dotterbiotingehalt annähernd proportional zum Futterbiotingehalt. Interessanterweise übersteigt die Biotinkonzentration des Eiklars die des Dotters schon ab 160 µg bioverfügbarem Biotin/kg Futter. Da das Blutplasma sozusagen als Verteiler des aufgenommenen Biotins an das Ovar (Dotterbildung) und das Ovidukt (Eiklarsynthese) fungiert, liegt die Vermutung nahe, dass die Biotineinlagerung in den Dotter und das Eiklar von der Biotinkonzentration im Blutplasma abhängt. Die beiden Speicherungsprozesse unterscheiden sich aber stark. Der Dotterbiotingehalt ist proportional abhängig vom Plasmabiotinspiegel, wobei die Biotinkonzentration des Dotters etwa zwölfmal höher als die des Blutplasmas ist. Dagegen zeigt der proportional von der Futterbiotinkonzentration beeinflusste Eiklarbiotingehalt einen eher sigmoidalen Kurvenverlauf, bezogen auf den Blutplasmaspiegel. In einem sehr engen Bereich von 56-62 µg Biotin/Liter Plasma steigt der Eiklarbiotingehalt von etwa 600 ng Biotin/g sprunghaft um das vier- bis fünffache auf etwa 3000 ng Biotin/g Eiklar an, um eine Sättigung bei etwa 100 µg Biotin/Liter Plasma zu erreichen. WHITE et al. (1987) gehen davon aus, dass Biotin im Blutplasma der Pute vor allem an Biotin-bindende Proteine (BBPs) gekoppelt transportiert wird. Dieses BBP gebundene Biotin ist für die Einlagerung in den Dotter bestimmt. Die Gleichgewichtskonzentration des Vitamins liegt im Blutplasma bei etwa 56 µg/Liter. Wird nun verstärkt Biotin über das Futter zugeführt, kommt es zu einer Absättigung der im Plasma vorhandenen BBPs und freies Biotin erscheint in größeren Mengen im Blut. Das freie Biotin gelangt entweder über Diffusion in den Dotter oder wird im Ovidukt an Avidin gebunden und im Eiklar eingelagert. Während die Konzentration des für die Biotineinlagerung in den Dotter benötigten und limitierenden Biotin-bindenden Proteins (BBPs) von der über das Futter zugeführten verfügbaren Biotinmenge abhängt, ist die Avidinkonzentration im Eiklar

unabhängig vom Futterbiotingehalt. Dagegen steigen die bei praxisüblicher Biotinsupplementation im Dotter nachgewiesenen geringen Gehalte an freiem Biotin signifikant an, wenn der Ration größere Biotinmengen beigemischt werden. Für die Rationsberechnung von Zuchttieren bedeuten die Ergebnisse von WHITE et al. (1987), dass nur bis zu einem Futterbiotingehalt von 100 µg/kg Futter eine Steigerung der Biotinkonzentration des Dotters möglich ist. Futterbiotinsupplementationen, die über diesem Wert liegen, werden vor allem an Avidin gebunden im Eiklar gespeichert, so dass nun herausgefunden werden muss, ob dieser enorme Biotinspeicher vom Putenembryo verstoffwechselt werden kann oder nicht. Erst ab einer praxisunüblichen hohen Biotinkonzentration von 1000 µg/kg Futter wird auch wieder vermehrt Biotin in den Dotter eingelagert.

#### **4.15 Biotinbedarf von Putenküken und -legehennen**

Grundsätzlich muss bei der Bedarfsberechnung von Biotin das Leistungsniveau des Tieres, die Futterzusammensetzung (z. B. hoher Weizenanteil) und -qualität (evtl. hoher Gehalt an Biotinantagonisten) sowie die Belastung der Pute durch weitere nahrungs- oder umweltbedingte Faktoren (z. B. unausgewogenes Nährstoffverhältnis, Erkrankungen, Stress etc.) beachtet werden. Die Kalkulationen der Hersteller liegen normalerweise über den Bedarfswerten, um so klinisch manifeste Mangelsymptome zu vermeiden. Sie beinhalten den Vitamingrundbedarf und eine Zugabe, die zahlreiche negative Einflüsse abdecken soll.

Ist bekannt, dass die Tiere durch Umweltbedingungen oder Erkrankungen gestresst sind, sollte die Biotinzugabe allerdings um den Faktor zwei bis drei erhöht werden. Auch bei auf Weizen basierender Diät (sehr niedrige Bioverfügbarkeit des natürlich enthaltenen Biotins) sollte die höhere Menge der angegebenen Richtwerte zum Futter zugegeben werden (ROCHE VITAMINS, 2000). Ferner ist der Biotinbedarf von Putenküken bedeutend höher als der von Hühnerküken. Zur Zeit wird der Zusatz von 250-300 bioverfügbarem Biotin µg/kg Starterfutter angeraten. Bei Zuchtputen soll die Biotinzugabe in erster Linie eine hohe Schlupfrate der Küken gewährleisten. Die Empfehlungen für die Biotinsupplementation des Legehennenfutters liegen gegenwärtig bei 400-600 µg/kg Futter.